

*На правах рукописи*

**Ушарова Светлана Александровна**

**Окклюзии вен сетчатки: молекулярные основы патогенеза и  
особенности клинического течения**

3.1.5. Офтальмология (медицинские науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, академик РАН, профессор **Мошетьова Лариса Константиновна**

**Научный консультант:** доктор биологических наук **Сабурова Ирина Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

**Шеремет Наталия Леонидовна** – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М. М. Краснова».

**Дога Александр Викторович** – доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора по научно-клинической работе ФГАУ «НМИЦ «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России.

**Ведущая организация:**

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней имени Гельмгольца». Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «06» декабря 2022 г. 12-00 часов на заседании диссертационного совета 21.3.054.03 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1.

С диссертацией можно будет ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская, д.19 и на сайте: <http://rmapo.ru/>

Автореферат разослан «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2022г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Карпова Е.П.

### **Актуальность темы диссертации**

Несмотря на крайне быстрые темпы развития современной медицины, частота встречаемости заболеваний, связанных с нарушением кровотока в сосудах различных органов и тканей, остается очень высокой. Стоит отметить, что широкой распространенностью в настоящее время обладают не только системные сосудистые заболевания, но и локальные нарушения кровообращения, которые, как правило, являются следствием более крупных сосудистых патологических изменений, и окклюзия ретинальных вен не является исключением. На сегодняшний день распространенность окклюзии вен сетчатки (ОВС) составляет в среднем 4,4 на 1000 человек (Астахов Ю.С. и соавт., 2017). Проблема захватывает пациентов в возрастном диапазоне от 14 до 92 лет (средний возраст составляет  $66 \pm 11$  лет) (Haller JA, 2014). Острое нарушение кровообращения в венозных сосудах сетчатки является одним из ведущих сосудистых нарушений со стороны органа зрения (Астахов Ю.С. и соавт., 2017) и может вызывать ряд крайне тяжелых офтальмологических осложнений, приводящих к слабовидению, слепоте (около 1% от всех офтальмологических заболеваний) и, соответственно, снижению качества жизни лиц как пожилого, так и относительно молодого возраста (Ponto KA et al., 2019). Многообразие клинических проявлений, их степени выраженности, а также типов течения заболевания весьма затрудняют его диагностику и усложняют формирования прогностических перспектив.

Особое внимание медицинского сообщества на сегодняшний день направлено на выявления маркёров заболевания на молекулярном уровне, что позволяет провести персонализированную диагностику значительно быстрее, повышает эффективность лечения и улучшает прогностические перспективы. Одними из наиболее перспективных и актуальных молекулярных биомаркеров на сегодняшний день являются микроРНК (Pogribni IP et al., 2018), а также различные молекулы белкового происхождения, определяющиеся в слезе (Понасенко О.А. и соавт., 2019; Симхес Ю.В. и соавт., 2016).

В настоящее время доказаны изменения уровня экспрессии ряда микроРНК и белков (белки теплового шока (HSP), белки семейства S100A) при системных сосудистых заболеваниях

(Baulina N et al., 2018; Wick C et al., 2016), а также таких офтальмологических заболеваниях как возрастная макулярная дегенерация (Romano GL et al., 2017) глаукома (Tsai T et al., 2019), диабетическая ретинопатия (Qin LL et al., 2017) и др.

Таким образом, изучение возможности использования микроРНК, HSP, белков семейства S100A в качестве диагностических и прогностических маркеров окклюзии ретинальных вен является перспективным и актуальным вопросом современной офтальмологии, в связи с отсутствием на данный момент информации о роли данных молекул в патогенезе нарушения кровообращения в венозных сосудах сетчатки.

### **Степень разработанности темы диссертационной работы**

Наиболее информативной биологической средой, которая отражает процессы, протекающие в сосудистом русле глаза, является слезная жидкость. Установлено, что при окклюзии ретинальных вен в слезной жидкости увеличивается уровень VEGF-A, IL-1, IL-6, а и TNF-а, а также плазминогена, антитромбина III и D-димера (Шелковникова Т.В. и соавт., 2018; Мошетьова Л.К. и соавт., 2016). Одним из наиболее содержательных исследований, позволяющих оценить полный белковый состав слезы, является протеомный анализ. Несмотря на многочисленные исследования слезной жидкости у пациентов с ретинальной венозной окклюзией, расширенного протеомного исследования слезы с целью поиска таких белковых молекул как белки теплового шока, белки семейства S100A на сегодняшний день не проводилось.

В ответ на любой стресс в организме вырабатываются белки теплового шока или так называемые стресс-белки. Наиболее изученными являются белки HSP60 и HSP70. И, если изменение уровня HSP60 связывают, как правило, с прогрессированием атеросклероза, то уровень HSP70 возрастает еще и при вазоспазме в коре головного мозга (Sharp FR et al., 2013), при повреждении сетчатки в ее ганглионарном слое (Исмайлова У.С. и соавт., 2018) и у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (Guller M et al., 2020). Нарушение кровообращения в сосудах сетчатки несомненно является стрессовой для организма ситуацией, что дает основание предполагать о вовлеченности HSP в патогенез ретинальной венозной окклюзии.

Еще одними потенциальными биомаркерами окклюзии ретинальных вен могут являться белки семейства S100A, участвующие во врожденном иммунитете, хронической ишемии и нейродегенеративных процессах в тканях мозга. Обнаружено, что белки S100A8, S100A9 и S100A12 увеличиваются в сыворотки крови у пациентов с ювенильным идиопатическим увеитом и задним эндогенным увеитом (Walscheid K et al., 2015), а протеомное исследование слезы пациентов с возрастной макулярной дегенерацией показало значительное увеличение белков S100A8 и S100A9 (Tamhane M et al., 2019) Кроме того, в результате исследования, проведенного на животной модели ретинальной венозной окклюзии, было обнаружено пятикратное увеличение белка S100A12 в ганглиозных клетках сетчатки и их дендритных отростках (Cehofski LJ et al., 2019).

Одними из наиболее перспективных и актуальных на сегодняшний день молекулярных биомаркеров являются микроРНК. Выявлено значимое увеличение некоторых микроРНК в сыворотке крови у пациентов с рядом системных и локальных сосудистых патологий. Доказано, что при атеросклерозе повышен уровень miR-miR-21 и снижен miR-126 (Кучер А.Н. и соавт., 2017), при гипертонической болезни повышен уровень miR-21, miR-155 и miR-126 (Айтбаев К.А. и соавт, 2018; Щеглова Н.Е., 2015) , а при ишемическом инфаркте повышен уровень miR-21 (Li X et al., 2018) и уровень miR-126 (Щеглова Н.Е., 2015). Также известно, что ряд микроРНК (например, miR-155, miR-21) значительно увеличиваются в плазме крови при влажной форме возрастной макулярной дегенерации (Romano GL et al., 2017), а также диабетической ангиоретинопатии (Yuan J et al., 2017).

Таким образом, вышеизложенная информация подчеркивает перспективность и актуальность изучения роли молекулярных механизмов патогенеза и связанных с ними особенностей клинического течения ретинальной венозной окклюзии с последующим формированием персонализированного подхода к профилактике и диагностике данного заболевания.

В связи с этим **целью** исследования является персонализация диагностики и профилактики ретинальных венозных окклюзий на основе изучения молекулярных механизмов патогенеза заболевания.

**Задачи исследования:**

1. Определить взаимосвязи между различными типами, стадиями, локализациями венозных окклюзий сетчатки и уровнем белка HSP70, белков семейства S100A в слезной жидкости, а также miR-21, miR-155 и miR-126 в сыворотке крови.

2. Установить наличие корреляционных связей между показателями зрительных функций пациентов с окклюзией ретинальных вен и уровнем белка HSP70, белков семейства S100A в слезной жидкости, а также miR-21, miR-155 и miR-126 в сыворотке крови.

3. Провести оценку динамики показателей miR-21, miR-155 и miR-126 в сыворотке крови во временном интервале 6 месяцев при разных типах окклюзии вен сетчатки.

4. Выявить основные факторы риска, определяющие негативные прогностические перспективы течения ретинальной венозной окклюзии.

### **Научная новизна и теоретическая значимость диссертационной работы**

Сформулирована научная идея использования фармакогенетического тестирования уровней miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости для повышения точности диагностики и построения прогноза течения ретинальной венозной окклюзии.

Впервые выявлена корреляция между развитием окклюзии вен сетчатки и изменением уровня miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

Доказано отсутствие взаимосвязей между локализацией, типом ретинальной венозной окклюзии и уровнем miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

Установлено, что динамика зрительных функций не связана с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

Выявлено статистически значимое уменьшение показателей miR-126 и miR-21 в сыворотке крови при неишемической окклюзии вен сетчатки и miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови при ишемическом типе окклюзии во временном интервале 6 месяцев.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что в ходе исследования впервые определена роль miR-155, miR-21, miR-126, определяемых в сыворотке крови, и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина, определяемых в слезной жидкости, у пациентов с ретинальной венозной окклюзией, что обосновывает доказательство бесспорного влияния данных молекулярных агентов на развитие и течение патологического процесса.

Впервые установлено, что уровень miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости не связан ни с типом, ни с локализацией венозной окклюзии. Также впервые была определена динамическая изменчивость значений микроРНК при разных типах окклюзии в течение 6 месяцев, что говорит о высокой активности микроРНК в острую фазу патологического процесса.

### **Практическая значимость**

Практическая значимость результатов диссертационной работы обоснована тем, что выявленная взаимосвязь между уровнем miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости у пациентов с ретинальной венозной окклюзией позволяет использовать данные молекулы в качестве диагностических маркеров ОВС. А наличие динамических изменений показателей микроРНК дает возможность определять прогностические перспективы течения патологического процесса и степень его активности. Применение протеомного анализа и ПЦР-исследования позволит проводить раннюю диагностику у лиц с предполагаемым диагнозом ОВС и давать оценку прогноза у пациентов с уже установленным диагнозом ретинальной венозной окклюзии.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Установлено, что окклюзия ретинальных вен в острый период патологического процесса характеризуется статистически значимым увеличением показателей miR-21 в сыворотке крови, белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина в слезной жидкости, уменьшением показателей miR-155 в сыворотке крови, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости и снижением показателей miR-155, miR-126 в сыворотке крови через полгода

после венозной окклюзии сетчатки. Доказанные корреляционные связи между наличием окклюзии вен сетчатки и изменением уровня данных молекулярных агентов обосновывает использование их в качестве диагностических маркеров ретинальной венозной окклюзии.

2. Выявлено, что в течение 6 месяцев после острой ретинальной венозной окклюзии значения уровней miR-126 и miR-21 снижаются в сыворотке крови у пациентов вне зависимости от ишемического или неишемического типа окклюзии, а для ишемического типа окклюзии характерно уменьшение всех исследуемых микроРНК: miR-126, miR-21, miR-155. Таким образом, оценка уровней микроРНК и наличие данных об их динамических изменениях в течении ретинальной венозной окклюзии позволяет использовать уровни микроРНК в качестве прогностических маркеров снижения или повышения активности патологического процесса.

3. Определено, что наиболее высокий риск отсутствия улучшения остроты зрения через полгода после острой ретинальной венозной окклюзии наблюдается у пациентов с комбинацией на момент поступления следующих факторов:  $miR-126 \geq 1,8$  и площадь аваскулярной зоны  $< 0,1 \text{ мм}^2$ . Выявленная взаимосвязь обосновывает возможность использования miR-126 в комбинации с другими показателями как прогностических маркеров тяжести течения патологического процесса.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности полученных результатов обеспечивается научной постановкой цели и задач исследования, достаточной выборкой (110 пациентов), применением современных высокоинформативных методов обследования пациентов (оптическая когерентная томография, микропериметрия, фоторегистрация глазного дна), а также статистической обработки результатов исследования.

Проведение диссертационного исследования «Окклюзии вен сетчатки: молекулярные основы патогенеза и особенности клинического течения» одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 13 от 26.11.2019).

### **Апробация диссертационной работы**

Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России протокол №9 от 29.08.2022. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на международных конференциях «Трансляционная медицина: возможное и реальное» в 2019 и 2020 годах, на заседании кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России и сотрудников Московского офтальмологического центра ДЗМ ГБУЗ им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы.

Исследование проводилось в рамках государственного задания Рег. N АААА-А20-120031090034-5

### **Внедрение результатов работы в практику**

Результаты диссертационной работы внедрены в клиническую практику Московского городского офтальмологического центра ДЗМ ГБУЗ им. С. П. Боткина (акт внедрения от 29 июня 2022 года). Результаты научных исследований включены в соответствующие разделы основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программа подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 31.08.59. Офтальмология, в учебные планы циклов повышения квалификации врачей-офтальмологов кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

### **Научные публикации по теме диссертации**

По теме диссертационной работы опубликовано 5 печатных работ, из них 3 в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, и в международных базах данных и системах цитирования – SCOPUS.

### **Личное участие соискателя ученой степени в получении результатов, изложенных в диссертации**

Личный вклад соискателя ученой степени в науку заключается в разработке научной идеи использования значений уровней микроРНК в сыворотке крови и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости в качестве диагностических и прогностических маркеров тяжести течения при различных типах ретинальной венозной окклюзии.

Полученные результаты, изложенные в диссертационной работе основаны на анализе научной отечественной и зарубежной литературы; обосновании актуальности темы исследования и

степени разработанности проблемы; формулировании цели и задач исследования; определении методологии решения задач; анализе полученных данных; обобщении результатов; формировании заключения, выводов и положений, выносимых на защиту, подготовке практических рекомендаций; формировании материалов для публикации по теме диссертации. Автором лично производился сбор всех материалов, офтальмологические исследования, забор биоматериалов для молекулярных исследований.

### **Соответствие диссертации Паспорту научной специальности**

Диссертация «Окклюзии вен сетчатки: молекулярные основы патогенеза и особенности клинического течения» соответствует паспорту специальности 3.1.5. Офтальмология (Медицинские науки) и направлению исследования п. 1 «Разработка новых и усовершенствование известных методов обследования органа зрения и его придатков, методов диагностики различных заболеваний».

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 113 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 40 таблицами и 48 рисунками. Список литературы содержит 151 источник (33 отечественных, 118 зарубежных).

### **Материалы и методы исследования**

Диссертационное исследование проведено на базе кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (зав. кафедрой - д.м.н., профессор, академик РАН Мошетова Л. К.); консультативно-диагностического отделения, офтальмологических отделений «Офтальмологическая клиника» Филиал №1 ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ (далее Московский городской офтальмологический центр ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗ) (руководитель МГОЦ к.м.н., доцент Аржиматова Г.Ш.).

Обследовано 110 пациентов (110 глаз). Средний возраст –  $62,20 \pm 11,89$  лет. Из них 80 пациентов (42 мужчины, 38 женщин) составили основную группу, в которую вошли пациенты с окклюзией ретинальных вен, а 30 пациентов – группу контроля, в которую вошли 10 мужчин и 20 женщин без патологических

изменений на глазном дне, характерных для окклюзии ретинальных вен. Средний возраст –  $75,93 \pm 7,18$ .

**Критерием включения** для основной группы пациентов был установленный диагноз окклюзии центральной вены сетчатки или ее ветвей. Для группы контроля: отсутствие патологических изменений сетчатки, характерных для окклюзии ретинальных вен.

**Критериями невключения** являлись любые другие заболевания глаз, влияющие на результат и анализ результатов, соматические заболевания в стадии суб- или декомпенсации, а также наличие онкологических или аутоиммунных заболеваний.

Для анализа связи молекулярных особенностей и тяжести течения ОВС пациенты основной группы были распределены по следующим подгруппам в соответствии с классификацией окклюзии ретинальных вен с учетом типа окклюзии:

1. Ишемическая ОВС. Всего 50 человек (62,50%) из них 24 женщины и 26 мужчин. Средний возраст составил  $62,18 \pm 11,85$  года.

2. Неишемическая ОВС. Всего 30 человек (37,50%) из них 14 женщин и 16 мужчин. Средний возраст составил  $62,23 \pm 12,17$  года. А также с учетом анатомической локализации окклюзии:

1. Окклюзия центральной вены сетчатки. Всего 63 человека (78,80%) из них 29 женщин и 34 мужчины. Средний возраст пациентов составил  $62,62 \pm 11,93$  года.

2. Окклюзия ветвей центральной вены сетчатки. Всего 17 человек (21,20%) из них 9 женщин и 8 мужчин. Средний возраст пациентов составил  $60,65 \pm 12,00$  года.

Всем пациентам проводили стандартные методы офтальмологического обследования: сбор данных анамнеза, рефрактометрия на приборе «Canon» (Full Auto Refkeratometer RK-F1), определение остроты зрения при помощи проектора оптометров «Tomey (TCP-1000)» и стандартного набора стекол (в исследовании анализировалась максимально корригированная острота зрения), пневмотонометрия при помощи тонометра «Huvitz (HNT-7000)». Биомикроскопию и офтальмоскопию проводили с помощью щелевой лампы «Topcon (SL-1E)». Исследование стекловидного тела и глазного дна выполняли в условиях медикаментозного мидриаза с помощью офтальмологических линз 78 и 90 Дптр. Кроме того, пациентам основной группы выполняли дополнительные офтальмологические методы обследования:

фоторегистрация глазного дна (ФРГД) (с использованием фоторегистратора цифровой фундус-камеры Visucam 500 фирмы «Zeiss»), оптическая когерентная томография (ОКТ) на RTVue – 100 фирмы «Optovue» и Retina Scan-3000 Advance фирмы «NIDEK», а также микропериметрия на фундус-микропериметре MAIA фирмы «CenterVue».

Биоматериалом для **молекулярного исследования** с целью выделения микроРНК служила сыворотка крови пациентов, для проведения протеомного исследования использовалась слеза.

Для забора крови пациентов использовались вакуумные пробирки. Забор крови осуществлялся в условиях процедурного кабинета и выполнялся в виде стандартного забора венозной крови в вакуумную пробирку. Пробирка маркировалась и отстаивалась в держателе в вертикальном положении в течение 40 минут (до разделения плазмы и форменных элементов крови). Далее с помощью шприца объемом 2 мл из вакуумной пробирки извлекалась плазма, переливалась в стерильный эпиндорф и замораживалась при температуре - 20 °С.

Забор слезной жидкости у пациентов осуществлялся за щелевой лампой с помощью лабораторного дозатора со стерильной пипеткой на конце. Забор производится из нижнего конъюнктивального свода. Полученный материал (объемом 80-100 мкл) также переливался в стерильный эпиндорф и замораживался при температуре - 20 °С.

### **Протеомное исследование**

Протеомное исследование выполнялось на масс-спектрометре Xevo G2-XS, оснащенным источником электростатической ионизации Z-образной формы. Сбор данных поддерживался активной калибровкой в онлайн режиме шлюзовой массе = 556,27, применяемой каждые 30 секунд пороговым отклонением 3 мДа. Образцы разделяли с помощью системы UPLC H-класса Acquity и загружали в объеме 3 мкл (всего 3 мкг белковой фракции на колонку) на колонку Acquity™ UPLC BEH.

Анализ полученных протеомных данных выполнялся с помощью поисковой системы PLGS (Protein Lynx Global Server, версия 3.0.3, Waters, Великобритания) по базе данных аминокислотных последовательностей белков человека UniProt KB (обновление от мая 2021 года).

### **Выделение микроРНК с помощью ПЦР-исследования**

Выделение включая микроРНК выполнялось с помощью реагента Qiazol и набора miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Хильден, Германия) в соответствии с протоколом производителей с небольшими изменениями. Раствор, включающий микроРНК, загружали в колонку miRNeasy и проводили дальнейшую отмывку в соответствии с заводскими инструкциями. Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MiScript II RT Kit (Qiagen) в соответствии с предлагаемым протоколом. ПЦР в реальном времени проводилось в 96-луночных планшетах, в которых объем каждой лунки - 200мкл, на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System по рекомендованной производителем программе. Экспрессия микроРНК была нормализована относительно экзогенного контроля и рассчитывалась с использованием метода 2- $\Delta\Delta C_t$ .

### **Статистические методы обработки результатов исследования**

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10, SAS JMP 11 и Microsoft Office Excel 2016.

Для описания числовых переменных использовалось среднее значение и стандартное отклонение, имеющее вид « $M \pm S$ ». Для сравнения двух групп по количественным шкалам использовался непараметрический метода Манна-Уитни. Статистическая значимость отличий групп для категориальных и бинарных шкал выяснялась при помощи критерия согласия Пирсона для независимых групп, и при помощи критерия МакНеймера для зависимых групп. Корреляционный анализ проводился при помощи непараметрической ранговой корреляции по Спирмену. Непараметрический критерий Уилкоксона служил основой для анализа динамики показателей при сравнении двух периодов.

При моделировании дихотомических целевых шкал использовались деревья классификации. ROC-анализ использовался с целью оценки качества построенных деревьев.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Взаимосвязь особенностей клинического течения окклюзии ретинальных вен и уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости**

При сравнении исследуемых групп по количественным показателям miR на момент поступления и через 6 месяцев после

окклюзии наиболее значимые различия обнаружены для показателя miR-21 на момент поступления (в основной группе больше в среднем на 1,9;  $P = 0,0282$ ); показателя miR-155 на момент поступления (в среднем в контрольной группе больше на 0,8;  $P = 0,0163$ ) (Таблица 1).

**Таблица 1**

**Сравнение основной и контрольной групп по уровню микроРНК**

| Показатель                                      | Группа              |                        | Уровень $P$ |
|---|---------------------|------------------------|-------------|
|   | Основная ( $N=80$ ) | Контрольная ( $N=30$ ) |             |
| <i>miR в плазме крови на момент поступления</i> |                     |                        |             |
| miR-126   | $2,42 \pm 3,97$     | $1,65 \pm 1,41$        | 0,4644      |
| miR-155   | $7,22 \pm 3,06$     | $8,06 \pm 1,12$        | 0,0163      |
| miR-21  | $1,04 \pm 4,14$     | $-0,83 \pm 2,01$       | 0,0282      |
| <i>miR в плазме крови через 6 месяцев</i>       |                     |                        |             |
| miR-126   | $0,30 \pm 2,49$     | $1,65 \pm 1,41$        | 0,00061     |
| miR-155   | $5,82 \pm 2,22$     | $8,06 \pm 1,12$        | <0,0001     |
| miR-21  | $-1,54 \pm 2,47$    | $-0,83 \pm 2,01$       | 0,13        |

Анализ данных, представленных в Таблице 1, позволяет сделать вывод о том, что 2 из 3 показателей микроРНК, полученные на момент поступления и через 6 месяцев после окклюзии, статистически значимо различаются между двумя сравниваемыми группами.

При сравнении исследуемых групп по количественным показателям HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 на момент поступления наиболее значимые различия обнаружены для показателя S100-A9 (в основной группе больше в среднем на 13,0;  $P < 0,0001$ ); показателя S100-A8 (в основной группе в среднем на 6,0;  $P < 0,0001$ ); показателя S100-A6 в основной группе в среднем больше на 11,4;  $P < 0,0001$ ) (Таблица 2). Кроме того, при обработке данных протеомного исследования, в котором производилось выделение суммарно более 700 разновидностей белков, были выявлены два дополнительных белка со статистически значимыми различиями между двумя сравниваемыми группами, определение которых не выходило в задачи исследования. К данным белкам относится небольшой поверхностный белок мезотелин («Mesothelin»), который был больше у пациентов основной группы в среднем на 0,83, и компонент главного комплекса гистосовместимости  $\beta_2$ -микроглобулин («Beta-2-microglobulin») (у пациентов основной группы ниже в среднем на 8,42) (Таблица 2).

**Таблица 2**

**Сравнение основной и контрольной групп по уровню белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина на момент поступления**

| Показатель           | Группа          |                    | Уровень P |
|----------------------|-----------------|--------------------|-----------|
|                      | Основная (N=80) | Контрольная (N=30) |           |
| Белки в слезе        |                 |                    |           |
| HSP70                | 1,38 ± 1,16     | 0,85 ± 0,80        | 0,0811    |
| S100-A6              | 17,35 ± 17,58   | 5,98 ± 9,42        | <0,0001   |
| S100-A8              | 6,88 ± 6,91     | 0,88 ± 0,60        | <0,0001   |
| S100-A9              | 15,33 ± 14,17   | 2,37 ± 1,42        | <0,0001   |
| Mesothelin           | 1,54 ± 1,14     | 0,71 ± 0,50        | <0,0001   |
| Beta-2-microglobulin | 3,21 ± 2,34     | 11,63 ± 7,81       | <0,0001   |

На основании анализа данных Таблицы 2 можно сделать вывод о том, что 5 из 6 показателей исследуемых в слезе белков статистически значимо различаются между двумя сравниваемыми группами.

Среди всех пациентов основной группы (80 человек) с установленным окклюзионным поражением ретинальных вен окклюзия центральной вены сетчатки наблюдалась у 63 пациентов (78,8%), а окклюзия какой-либо из ветвей ЦВС была у 17 человек (21,3%). На основании данного деления среди пациентов с ОВС сформированы две группы, сравнение которых по уровню микроРНК показало наибольшее различие для показателя miR-21 через 6 месяцев после окклюзии (P=0,0748). Для всех показателей микроРНК значения P не превышало 0,05 (Таблица 3).

**Таблица 3**

**Сравнение групп пациентов с ОВС с разной локализацией патологического процесса по уровню микроРНК на момент поступления**

| Показатель               | Окклюзия     |                  | Уровень P |
|--------------------------|--------------|------------------|-----------|
|                          | ЦВС (N=63)   | Ветви ЦВС (N=17) |           |
| miR в плазме крови       |              |                  |           |
| miR-126, поступление     | 2,40 ± 4,07  | 2,50 ± 3,69      | 0,9017    |
| miR-155, поступление     | 7,32 ± 3,31  | 6,84 ± 1,92      | 0,7732    |
| miR-21, поступление      | 1,06 ± 4,21  | 1,00 ± 3,98      | 0,9484    |
| miR в плазме крови       |              |                  |           |
| miR-126, через 6 месяцев | 0,12 ± 2,48  | 0,97 ± 2,46      | 0,2564    |
| miR-155, через 6 месяцев | 5,76 ± 2,40  | 6,04 ± 1,33      | 0,7913    |
| miR-21, через 6 месяцев  | -1,78 ± 2,49 | -0,66 ± 2,24     | 0,0748    |

На основании анализа Таблицы 3 можно сделать вывод о том, что значения всех микроРНК и на момент поступления, и через 6 месяцев значимо не различаются между двумя группами.

В результате сравнения пациентов с разной локализацией венозной окклюзии по уровню исследуемых белков наибольшее различие было обнаружено для показателя белка S100-A6 ( $P=0,0934$ ), а наименьшее различие для показателя S100-A8 ( $P=0,6607$ ). Значение  $P$  для всех показателей белков в слезной жидкости на момент поступления не превышает 0,05 (Таблица 4).

**Таблица 4**

**Распределение исследуемых белков в слезе в зависимости от локализации венозной окклюзии сетчатки**

| Показатель           | Окклюзия       |                      | Уровень $P$ |
|----------------------|----------------|----------------------|-------------|
|                      | ЦВС ( $N=63$ ) | Ветви ЦВС ( $N=17$ ) |             |
| Белки в слезе        |                |                      |             |
| HSP70                | 1,43 ± 1,10    | 1,16 ± 1,45          | 0,2353      |
| S100-A6              | 18,39 ± 17,80  | 13,58 ± 16,87        | 0,0934      |
| S100-A8              | 6,98 ± 7,14    | 6,52 ± 6,33          | 0,6607      |
| S100-A9              | 15,62 ± 14,46  | 14,25 ± 13,57        | 0,4041      |
| Mesothelin           | 1,52 ± 1,18    | 1,59 ± 1,05          | 0,5248      |
| Beta-2-microglobulin | 3,07 ± 2,40    | 3,75 ± 2,11          | 0,1304      |

По данным Таблицы 4 все изучаемые показатели белков в слезной жидкости статистически значимо не различаются между пациентами с окклюзией ЦВС и пациентами с окклюзией ее ветвей.

С помощью статистического анализа выявлено, что неишемический тип ретинальной венозной окклюзии встречается у 30 (37,5%) пациентов основной группы, а ишемический у 50 (62,5%) пациентов. Классификация ОВС по типу окклюзии легла в основу разделения пациентов на две группы: пациенты с ишемической и неишемической окклюзией ретинальных вен. При сравнение данных групп пациентов по уровню miR-21, miR-126, miR-155 в оба временных периода и белков (HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелин и бета-2-микроглобулин) на момент поступления значение  $P$  для всех показателей не превышало 0,1830 (Таблица 5,6).

**Таблица 5**

**Уровни микроРНК в сыворотке крови на момент поступления у пациентов с разными типами венозной окклюзии сетчатки**

| Показатель               | Тип окклюзии            |                       | Уровень P |
|--------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------|
|                          | Неишемическая<br>(N=30) | Ишемическая<br>(N=50) |           |
| miR в плазме крови       |                         |                       |           |
| miR-126, поступление     | 2,84 ± 3,50             | 2,17 ± 4,24           | 0,5711    |
| miR-155, поступление     | 7,14 ± 2,70             | 7,26 ± 3,28           | 0,7884    |
| miR-21, поступление      | 1,02 ± 2,95             | 1,06 ± 4,74           | 0,6404    |
| miR в плазме крови       |                         |                       |           |
| miR-126, через 6 месяцев | 0,51 ± 2,29             | 0,17 ± 2,62           | 0,4324    |
| miR-155, через 6 месяцев | 6,22 ± 1,96             | 5,58 ± 2,34           | 0,1830    |
| miR-21, через 6 месяцев  | -1,25 ± 2,19            | -1,72 ± 2,62          | 0,1862    |

При оценке Таблицы 5 значимых различий между уровнями микроРНК на момент поступления и через 6 месяцев у пациентов с разными типами ретинальной венозной окклюзии обнаружено не было, что говорит об отсутствии взаимосвязи между данными показателями.

**Таблица 6**

**Сравнения групп пациентов с ОВС с разными типами окклюзии по уровню HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, а также мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.**

| Показатель           | Тип окклюзии            |                       | Уровень P |
|----------------------|-------------------------|-----------------------|-----------|
|                      | Неишемическая<br>(N=30) | Ишемическая<br>(N=50) |           |
| Белки в слезе        |                         |                       |           |
| HSP70                | 1,23 ± 1,26             | 1,49 ± 1,10           | 0,2722    |
| S100-A6              | 19,23 ± 18,97           | 16,18 ± 16,82         | 0,5281    |
| S100-A8              | 5,34 ± 5,30             | 7,86 ± 7,68           | 0,2137    |
| S100-A9              | 12,09 ± 10,79           | 17,34 ± 15,72         | 0,2327    |
| Mesothelin           | 1,70 ± 0,97             | 1,45 ± 1,22           | 0,2933    |
| Beta-2-microglobulin | 2,86 ± 1,55             | 3,43 ± 2,72           | 0,9101    |

Исходя из Таблицы 6 достоверных отличий не найдено также и при сравнении групп пациентов с разными типами венозной окклюзии по уровню HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, а также мезотелина и бета-2-микроглобулина.

**Оценка динамики зрительных функций у пациентов с ОВС, выявление корреляции между уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости и остротой зрения в разные временные промежутки, а также обозначение факторов, оказывающих определяющее влияние на остроту зрения**

В рамках данного раздела все пациенты с ОВС были разделены на две группы в зависимости от динамики МКОЗ: к первой группе относились пациенты, чье зрение через 6 месяцев осталось таким же, как в острый период или хуже, ко второй группе пациенты, чье зрение улучшилось. По данным статистического анализа острота зрения не улучшилось у 26 (32,5%) пациентов и улучшилось у 54 (67,5%) пациентов.

Был проведен поиск зависимости между значениями микроРНК в крови (в оба временных периода), исследуемых белков в слезной жидкости и динамикой зрительных функций в течение полугода после острой ретинальной венозной окклюзии. Наибольшие различия обнаружены для показателей miR-126 на момент поступления ( $P=0,0921$ ), белка S100-A9 ( $P=0,1998$ ), а наименьшие для показателей miR-155 на момент поступления ( $P=0,9019$ ) и мезотелина ( $P=0,9526$ ) (Таблица 7).

**Таблица 7**

**Оценка динамики МКОЗ в зависимости от уровня микроРНК в крови и исследуемых белков в слезе**

| Показатель                | Зрение не улучшилось |               | Уровень P |
|---------------------------|----------------------|---------------|-----------|
|                           | «-»<br>(N=54)        | «+»<br>(N=26) |           |
| <b>miR в плазме крови</b> |                      |               |           |
| miR-126, поступление      | 1,98 ± 3,94          | 3,33 ± 3,95   | 0,0921    |
| miR-155, поступление      | 7,17 ± 2,95          | 7,31 ± 3,34   | 0,9019    |
| miR-21, поступление       | 0,56 ± 4,06          | 2,05 ± 4,20   | 0,1137    |
| miR-126, через 6 месяцев  | 0,18 ± 2,57          | 0,54 ± 2,33   | 0,6366    |
| miR-155, через 6 месяцев  | 5,76 ± 2,28          | 5,94 ± 2,12   | 0,8938    |
| miR-21, через 6 месяцев   | -1,50 ± 2,68         | -1,63 ± 2,00  | 0,8533    |
| <b>Белки в слезе</b>      |                      |               |           |
| HSP70                     | 1,24 ± 1,12          | 1,59 ± 1,22   | 0,2619    |
| S100-A6                   | 17,07 ± 18,88        | 17,74 ± 15,94 | 0,5945    |
| S100-A8                   | 6,09 ± 6,56          | 7,95 ± 7,37   | 0,2500    |
| S100-A9                   | 14,02 ± 14,18        | 17,15 ± 14,26 | 0,1998    |
| Mesothelin                | 1,51 ± 1,08          | 1,58 ± 1,25   | 0,9526    |
| Beta-2-microglobulin      | 3,53 ± 2,65          | 2,75 ± 1,74   | 0,4961    |

В результате анализа данных, представленных в Таблице 7, не было обнаружено достоверных различий ни в одной исследуемой группе, ни по одному показателю. На основании чего можно сделать вывод, что динамика зрительных функций не связана с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина, бета-2-микроглобулина в слезе.

**Анализ динамики показателей miR-126, miR-155, miR-21 в крови и клинических характеристик в зависимости от типа ОВС (ишемический, неишемический) во временном интервале 6 месяцев**

Следующим этапом исследования было проведение анализа показателей микроРНК в динамике, при котором сравнивались значения, полученные на момент поступления пациентов и через 6 месяцев после острой ретинальной венозной окклюзии. Для выполнения анализа данных показателей все пациенты были разделены на две группы в зависимости от типа окклюзии, т.к. наиболее часто это характеристика определяет тяжесть течения патологического процесса.

По данным статистического анализа можно сделать вывод о том, что в рассматриваемый период времени 5 из 6 исследуемых показателей микроРНК статистически значимо изменяются. Наиболее существенные изменения обнаружены для показателя miR-126 (среди пациентов с ишемической окклюзией) (в среднем на 2,0;  $P = 0,0002$ ); показателя miR-155 (среди пациентов с ишемической окклюзией) (в среднем на 1,7;  $P = 0,0001$ ); показателя miR-21 (среди пациентов с ишемической окклюзией) (в среднем на 2,8;  $P < 0,0001$ ) (Таблица 8).

**Таблица 8**

**Анализ динамики показателей микроРНК на момент поступления и через 6 месяцев у пациентов с разными типами ОВС**

| <i>Тип окклюзии</i> | <i>Показатель</i> | <i><math>M \pm S</math>,<br/>поступление</i> | <i><math>M \pm S</math>,<br/>через 6<br/>месяцев</i> | <i>Динамика</i> | <i>Уровень<br/><math>P</math></i> |
|---------------------|-------------------|--|--|-----------------|-----------------------------------|
| Неишемическая       | miR-126           | 2,84 ± 3,50                                  | 0,51 ± 2,29  | -82,13%         | 0,0047                            |
| Неишемическая       | miR-155           | 7,14 ± 2,70                                  | 6,22 ± 1,96  | -12,84%         | 0,0519                            |
| Неишемическая       | miR-21            | 1,02 ± 2,95                                  | -1,25 ± 2,19   | -221,93%        | 0,0036                            |

|             |         |             |              |          |         |
|-------------|---------|-------------|--------------|----------|---------|
| Ишемическая | miR-126 | 2,17 ± 4,24 | 0,17 ± 2,62  | -92,04%  | 0,0002  |
| Ишемическая | miR-155 | 7,26 ± 3,28 | 5,58 ± 2,34  | -23,14%  | 0,0001  |
| Ишемическая | miR-21  | 1,06 ± 4,74 | -1,72 ± 2,62 | -262,05% | <0,0001 |

На основании данных Таблицы 8 можно сделать вывод о том, что 5 из 6 исследуемых показателей микроРНК статистически значимо изменяются во временном интервале 6 месяцев.

### **Выявление основных рисков факторов, определяющих негативные прогностические перспективы течения окклюзии ретинальных вен**

Одним из основных критериев тяжёлого течения окклюзии ретинальных вен является низкая острота зрения. В рамках данного раздела было произведено однофакторное прогнозирование для основных статистически значимых показателей, которые в наибольшей степени могли повлиять на отсутствие положительной динамики со стороны остроты зрения в течение 6 месяцев после ОВС. Среди потенциальных причин, рассматривались только бинарные и количественные показатели, из которых был составлен список из 20 ключевых факторов влияния на отсутствие улучшения со стороны зрительных функций.

Для улучшения качества и увеличения скорости диагностики, а также для формирования более точного прогноза течения заболевания предложено разделение пациентов на рискованные классы с помощью комбинаций факторов, определяющих негативные прогностические перспективы зрительных функций с использованием ранжирования по уровню риска.

Всего было выделено 4 рискованных класса (Таблица 9). Наибольшая вероятность (Риск = 75,0%, Объем группы = 12) отсутствия положительной динамики со стороны остроты зрения наблюдается у пациентов со следующей комбинацией факторов: miR-126  $\geq 1,8$  и площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм<sup>2</sup> < 0,1. Наименьшая вероятность (Риск = 6,5%, Объем группы = 31) отсутствия положительной динамики со стороны остроты зрения наблюдается для следующей комбинации факторов: miR-126 < 1,8 и толщина сетчатки в fovea, мкм < 454,0.

**Таблица 9**

**Классы пациентов, обладающие показателями, определяющими отсутствие положительной динамики**

## зрительных функций через 6 месяцев после окклюзии ретиальных вен

| № | Определение класса  | Объем группы | Доля класса, % | Риск, % |
|---|---|--------------|----------------|---------|
| 1 | miR-126 $\geq 1,8$ и Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм <sup>2</sup> < 0,1      | 12           | 15,0%          | 75,0 %  |
| 2 | miR-126 < 1,8 и Толщина сетчатки в fovea, мкм $\geq 454,0$                            | 8            | 10,0%          | 62,5 %  |
| 3 | miR-126 $\geq 1,8$ и Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм <sup>2</sup> $\geq 0,1$ | 29           | 36,3%          | 34,5 %  |
| 4 | miR-126 < 1,8 и Толщина сетчатки в fovea, мкм < 454,0                                 | 31           | 38,8%          | 6,5%    |

### Заключение

Проблема диагностики и прогнозирования ретиальной венозной окклюзии в современном мире становится все более актуальной, в связи с общей тенденцией к омоложению сердечно-сосудистых заболеваний, являющихся наиболее частой причиной возникновения данной патологии. И несмотря на несомненные успехи, достигнутые в вопросах изучения клинических проявлений, диагностики и лечения окклюзии вен сетчатки в последние десятилетия, число пациентов с этой патологией продолжает расти. На сегодняшний день в отечественной литературе отсутствует информация о проведении исследований направленных на изучение роли miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бетта-2-микроглобулина в слезной жидкости в патогенезе окклюзии ретиальных вен.

На первом этапе исследования при сравнении 80 пациентов из основной группы и 30 пациентов из группы контроля выявлено, что у пациентов с ОВС на момент поступления уровень miR-21 ( $P = 0,0282$ ) в сыворотки крови и белков HSP70 ( $P < 0,0001$ ), S100-A6 ( $P < 0,0001$ ), S100-A8 ( $P < 0,0001$ ), S100-A9 ( $P < 0,0001$ ), мезотелина ( $P < 0,0001$ ) в слезной жидкости выше, чем у пациентов без данной патологии. Для бетта-2-микроглобулина ( $P < 0,0001$ ) и miR-155 ( $P = 0,0163$ ) на момент поступления, а также miR-155 ( $P < 0,0001$ ) и miR-126 ( $P = 0,00061$ ) через 6 месяцев после ОВС значения при ретиальной венозной окклюзии ниже, чем у пациентов из группы контроля. Доказанные корреляционные связи между наличием ОВС и повышением уровня данных молекулярных

агентов обосновывают использование их в качестве диагностических маркеров ретинальной венозной окклюзии.

Анализ данных второго этапа исследования показал, что динамика зрительных функций пациентов с окклюзией не связана с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости (уровень P для всех показателей был не ниже 0,0921).

На третьем этапе исследования анализ динамики показателей во временном периоде 6 месяцев продемонстрировал, что значения miR-126 и miR-21 значительно уменьшаются (на 82,13% (P = 0,0047) и 221,93% (P = 0,0036) соответственно) в данном интервале времени у пациентов с неишемическим типом окклюзии. У показателя miR-155 уменьшение было незначительным (12,84%; P = 0,519). Для ишемического типа окклюзии отмечено уменьшение в динамике всех 3 показателей микроРНК: miR-155 на 23,14% (P = 0,0001), miR-21 на 265,05% (P < 0,0001), miR-126 на 92,04% (P = 0,0002). Изменения уровней микроРНК во временном интервале 6 месяцев обосновывают возможность использования их в качестве прогностических маркеров снижения активности патологического процесса при окклюзии вен сетчатки.

На последнем этапе исследования при проведении поиска ключевых факторов, определяющих негативные прогностические перспективы по зрительным функциям выяснено, что наибольшая вероятность (Риск = 75,0%) отсутствия положительной динамики со стороны остроты зрения наблюдается у пациентов со следующей комбинацией факторов: miR-126  $\geq 1,8$  и площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм<sup>2</sup> < 0,1. Наименьшая вероятность (Риск = 6,5%) отсутствия положительной динамики со стороны остроты зрения наблюдается для следующей комбинации факторов: miR-126 < 1,8 и толщина сетчатки в fovea, мкм < 454,0. Установленная взаимосвязь предполагает возможность использования комбинаций miR-126 с другими показателями в качестве прогностических маркеров тяжести течения патологического процесса.

Проведенное исследование показало, что поиск молекулярных маркеров патологических процессов является перспективным направлением в практической офтальмологии. Данные протеомного анализа и ПЦР-исследования можно использовать при

проведении диагностики и формировании прогноза, а также для оценки тяжести клинического течения окклюзии ретинальных вен.

### **Выводы:**

1. Установлено, что у пациентов с окклюзией ретинальных вен в острый период увеличен уровень miR-21 ( $P = 0,0282$ ) в крови, белков S100-A6 ( $P < 0,0001$ ), S100-A8 ( $P < 0,0001$ ), S100-A9 ( $P < 0,0001$ ) и мезотелина ( $P < 0,0001$ ) в слезной жидкости, уменьшен уровень бета-2-микроглобулина ( $P < 0,0001$ ) в слезной жидкости и miR-155 ( $P = 0,0163$ ) в сыворотке крови (по сравнению с группой контроля). Через полгода после окклюзии вен сетчатки наблюдается снижение уровня miR-155 ( $P < 0,0001$ ), miR-126 ( $P = 0,00061$ ) в сыворотке крови (как по сравнению с исходными значениями, так и по сравнению с группой контроля). Доказано отсутствие взаимосвязи между локализацией венозной окклюзии сетчатки (центральный ствол или ветвь), типом окклюзии (ишемический и неишемический) и уровнем miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

2. Определено, что динамика зрительных функций не связана с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

3. Наблюдается значимая динамика показателей miR в течение полугода при обоих типах окклюзии вен сетчатки. Значения miR-126 и miR-21 уменьшаются (на 82,13% ( $P = 0,0047$ ) и 221,93% ( $P = 0,0036$ )) у пациентов с неишемическим типом окклюзии. Для ишемического типа окклюзии отмечено уменьшение в динамике всех 3 показателей микроРНК: miR-155 на 23,14% ( $P = 0,0001$ ), miR-21 на 265,05% ( $P < 0,0001$ ), miR-126 на 92,04% ( $P = 0,0002$ ).

4. Выяснено, что у пациентов со следующей комбинацией факторов:  $miR-126 \geq 1,8$  и площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ),  $mm^2 < 0,1$  наибольшая вероятность (риск = 75,0%) негативных прогностических перспектив по зрительным функциям (в течение полугода зрение ухудшается или остается на прежних значениях).

### **Практические рекомендации**

Для повышения эффективности ранней диагностики окклюзии вен сетчатки включить в алгоритм обследования протеомный

анализ на белки S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелин, бета-2-микроглобулин в слезной жидкости и определение уровня miR-126, miR-155, miR-21 в сыворотке крови с помощью ПЦР-диагностики у лиц с предполагаемым диагнозом окклюзии ретинальных вен.

Для пациентов с установленным диагнозом ретинальной венозной окклюзии использовать показатели miR-126, miR-155, miR-21 в сыворотке крови, полученные путем полимеразной цепной реакции, для оценки течения заболевания и формирования прогностических перспектив.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

**1. Ушарова, С.А. МикроРНК и сосудистая патология глаза / Л.К. Мошетова, С.А. Ушарова, К.И. Туркина, Д.А. Сычев, И.Н. Сабурин // Вестник РГМУ. – 2020. – №4. – С. 5-9. 5/1 с. ИФ - 0,4**

**2. Ушарова С.А. Современные представления об особенностях эпидемиологии окклюзии ретинальных вен / Л.К. Мошетова, С.А. Ушарова, С.В. Симонова, К.И. Туркина // Клиническая офтальмология. – 2021.– № 2. – С. 86-89. 4/1 с. ИФ - 0,426**

**3. Ушарова С.А. Роль белков теплового шока при системных сосудистых катастрофах и острых сосудистых заболеваниях органа зрения / Л.К. Мошетова, С.А. Ушарова, С.В. Симонова, К.И. Туркина, И.Н. Сабурин // Офтальмология. – 2022. – Т. 19 – № 1. – С. 53 - 59. 5/1,25 с. ИФ - 0,638**

4. Ушарова С.А. Роль артерий в развитии венозных окклюзий сосудов сетчатки / С.А. Ушарова, К.И. Туркина // Материалы X конференции молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное». – 2019. – Т. 1 – С. 294 - 296. 3/1,5 с.

5. Ушарова С.А. Роль артерий в развитии венозных окклюзий сосудов сетчатки / Л.К. Мошетова, С.А. Ушарова // Материалы XI конференции молодых ученых с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное». – 2020. – С. 261 - 263. 3/1,5 с.

## Список сокращений и условных обозначения

|              |   |
|--------------|---|
| МикроРНК     | – малые некодирующие молекулы РНК                     |
| МКОЗ         | – максимально корригируемая острота зрения            |
| ОВС          | – окклюзия вен сетчатки                               |
| ОКТ          | – оптическая когерентная томография                   |
| ПЦР          | – полимеразная цепная реакция                         |
| ФРГД         | – фоторегистрация глазного дна                        |
| ЦВС          | – центральная вена сетчатки                           |
| FGF          | – fibroblast growth factor, фактор роста фибробластов |
| HSP          | – heat shock proteins, белки теплового шока           |
| IL-1         | – interleukin-1, интерлейкин 1                        |
| IL-6         | – interleukin-6, интерлейкин 6                        |
| miR          | – microRNA, малые некодирующие молекулы РНК           |
| S100A        | – группа кальций-связывающих белков                   |
| TGF- $\beta$ | – трансформирующий фактор роста- $\beta$              |
| VEGF         | – сосудистый эндотелиальный фактор роста              |