

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА КЕРАТОКОНУСА**© *А.Н. Куликов, С.В. Чурашов, Т.А. Камилова, В.А. Рейтузов*

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург

Для цитирования: Офтальмологические ведомости. – 2017. – Т. 10. – № 2. – С. 62–71

Дата поступления: 16.02.2017

Статья принята к печати: 04.05.2017

✧ Кератоконус является двусторонним, прогрессирующим заболеванием роговицы, затрагивающим все этнические группы по всему миру. Эта болезнь одна из основных глазных проблем с значительными социальными последствиями, так как поражает молодое поколение и является ведущей причиной трансплантации роговицы. Хотя кератоконус связан с генетическими и экологическими факторами, точная этиология не установлена. Результаты комплексного анализа сегрегации и паттернов генной экспрессии демонстрируют, что генетические аномалии могут играть существенную роль в предрасположенности к кератоконусу. Существует тесная связь между полиморфизмом ряда генов и кривизной роговицы. Эти полиморфизмы объясняют лишь небольшой процент случаев кератоконуса, поэтому генетические факторы, влияющие на кератоконус, скорее всего, сложны и многообразны. Цель этого обзора — кратко представить современные знания о генетической основе кератоконуса, чтобы понять патогенез заболевания.

✧ **Ключевые слова:** кератоконус; роговица; этиология; генетические факторы; экологические факторы; ген; полиморфизм.

**MOLECULAR GENETIC ASPECTS OF KERATOCONUS PATHOGENESIS**© *A.N. Kulicov, S.V. Churashov, T.A. Kamilova, V.A. Reituzov*

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

For citation: Ophthalmology Journal, 2017;10(2):62-71

Received: 16.02.2017

Accepted: 04.05.2017

✧ Keratoconus is a bilateral, progressive corneal disease affecting all ethnic groups around the world. It is one of the major ocular problems with significant social impacts as the disease affects young generation, and is the leading cause of corneal transplantation. Although keratoconus is associated with genetic and environmental factors, its precise etiology is not yet established. Results from complex segregation analysis and patterns of gene expression show that genetic abnormalities may play an essential role in the susceptibility to keratoconus. There is a strong association between the polymorphism of a number of genes and corneal curvature. These polymorphisms explain only a small percentage of keratoconus cases, so genetic influences on keratoconus are most likely complex and varied. The aim of this review is to briefly provide the current knowledge on the genetic keratoconus basis - to understand the disease pathogenesis.

✧ **Keywords:** keratoconus; cornea; etiology; genetic factors; environmental factors; gene; polymorphism.

**ВВЕДЕНИЕ. КЛИНИКА И ЭТИОЛОГИЯ КЕРАТОКОНУСА**

Кератоконус роговицы — двусторонняя дегенеративная невоспалительная стафилома, характеризующаяся прогрессирующим коническим истончением, потерей нормальной архитектуры и асимметричным выпячиванием роговицы,

изменяющим её преломляющую способность. Хотя заболевание может манифестировать в любом возрасте, изменения роговицы, как правило, начинаются в подростковом возрасте с замедлением прогрессирования примерно в 30–40 лет и постепенно, на протяжении всей жизни, приводят к нарушению зрения из-за растущей бли-

зорокости, неправильной кривизны роговицы и неправильного астигматизма. Кератоконус диагностируют на основании совокупности клинических симптомов и характерных изменений топографии роговицы [1, 4, 9, 33, 35]. Клинические признаки кератоконуса весьма разнообразны и зависят от тяжести заболевания в диапазоне от субклинической формы кератоконуса, двусторонней невоспалительной прогрессирующей эктазии роговицы с протрузией и истончением до тяжёлой прогрессирующей конической протрузии, рубцов и слепоты [15]. Истончение роговицы, ведущее к образованию конуса, вызвано изменениями компонентов межклеточного матрикса (МКМ) из-за нарушения активности ферментов и апоптозом клеток [27].

В умеренных и тяжёлых случаях распространёнными признаками кератоконуса являются кольцо Флейшера вокруг основания конуса из-за отложения железа, полосы Фогта — вертикальные линии, возникающие из-за сжатия десцеметовой мембраны, увеличенная видимость нервных волокон и разрыв боуеновой оболочки. Со временем у большинства пациентов развивается симптом Мансона — выпячивание нижнего века, вызванное протрузией роговицы. У пациентов с тяжёлым кератоконусом в поражённых участках отмечаются водянка роговицы, острый отёк стромы, ведущий к образованию субэпителиальных рубцов вследствие разрывов в десцеметовой мембране. Рубцевание и отёк роговицы приводят в дальнейшем к потере зрения [1, 33].

Этиология кератоконуса считается многофакторной, связанной с комплексным взаимодействием генетических и экологических факторов. Кератоконус может быть вызван генетическими факторами с менделевским типом наследования, у других — ношением контактных линз, хроническим раздражением глаз, атопией глаз, оксидантным повреждением, например, ультрафиолетовым светом. В большинстве случаев кератоконус является результатом генетической предрасположенности, активированной факторами окружающей среды. Решающая роль генетической предрасположенности в патогенезе изолированного кератоконуса подтверждена многочисленными данными о повышенной заболеваемости в семейных группах и у монозиготных близнецов по сравнению с дизиготными [7, 22]. До 23,5 % пациентов с кератоконусом имеют положительный семейный анамнез. Риск развития кератоконуса у родственников пациентов с кератоконусом повышен в 15–67 раз по сравнению

с общей популяцией [36]. Большинство семейных случаев кератоконуса наследуется по аутосомно-доминантному типу. Аутосомно-рецессивное наследование отмечено в группах с высокой степенью родства [33]. Хотя у большинства пациентов кератоконус является изолированным заболеванием, он также ассоциирован с рядом генетических синдромов и системных расстройств, в том числе с врождённым амаврозом Лебера, пигментной абиотрофией, синдромами Марфана, Тернера, Элерса — Данлоса и Дауна, пролапсом митрального клапана, несовершенным остеогенезом, коллагеновой болезнью сосудов [6, 7, 31, 33]. Признаки кератоконуса наблюдаются у 0,5–15 % пациентов с синдромом Дауна и 35 % пациентов с врождённым амаврозом Лебера [33].

Хирургическое лечение — эпикератопластика, фоторефрактивная кератэктомия или синтрастромальные кольца — исправляет рефракцию кератоконуса, но не лечит патогенетическую причину и не может остановить прогрессирование кератоконуса. В примерно 20 % случаев он прогрессирует до такой степени снижения зрения, что восстановление зрения требует трансплантации роговицы, и является ведущим показанием к кератопластике в развитых странах [15, 31]. Поэтому надежды возлагаются на изучение молекулярных механизмов его возникновения и прогрессирования, которое должно идентифицировать новые терапевтические мишени и помочь в разработке новых методов лечения.

## ГЕНЕТИКА КЕРАТОКОНУСА

За последнее десятилетие с помощью семейного, ассоциативного и геномного/протеомного анализа достигнут значительный прогресс в идентификации генетических факторов риска кератоконуса. Генетические факторы риска кератоконуса трудно идентифицировать из-за сложной этиологии болезни. При изучении многофакторных заболеваний с низкой корреляцией генотипа с фенотипом, каким является кератоконус, полезен подход, основанный на выборе генов-кандидатов, позволяющий выявлять даже небольшие эффекты гена. Основная идея заключается в анализе присутствия генных мутаций у пациентов и здоровых лиц. Гены-кандидаты при кератоконусе выбраны на основании их ассоциаций с другими болезнями роговицы (дистрофиями роговицы) и/или их известных функций в развитии глаз. Ранние описания кератоконуса были сосредоточены на поздних стадиях заболевания с тяжёлым поражением роговицы и выраженным

нарушением зрения. Появление более совершенных методов визуализации привело к пониманию огромного разброса в выраженности заболеваний роговицы. Это позволяет объективно оценить ранние и/или более лёгкие изменения в процессе развития болезни. В частности, топографическое исследование роговицы «незатронутых» членов семьи больного кератоконусом выявляет у них субклинические аномалии формы роговицы. Кроме того, конфокальная микроскопия демонстрирует микроструктурные изменения при самом начальном заболевании роговицы, а не только на конечной стадии [6].

Ген *VSX1* (visual system homeobox 1, локус 20p11.2), известный как патогенетический фактор задней полиморфной дистрофии роговицы [21], является наиболее изученным среди генов, ассоциированных с кератоконусом [1]. *VSX1* кодирует транскрипционный фактор, функционирующий в черепно-лицевых тканях во время эмбрионального развития. Белок *VSX1* играет важную роль в развитии глаза, регулирует экспрессию генов, кодирующих опсины (светочувствительных рецепторов) колбочек во время эмбрионального развития, но у взрослых экспрессируется только в кератиноцитах травмированной роговицы, участвует в заживлении раны и связан с фибробластной трансформацией [6, 33]. Мутации в гене *VSX1* (R166W и L159M) идентифицированы у пациентов с кератоконусом [33, 13]. Хотя мутации в гене *VSX1* наиболее распространённые среди ассоциированных с кератоконусом, они ответственны всего за 2–3 % случаев, что отражает высокополигенную природу этого заболевания [1].

Ген *DOCK9* (dedicator of cytokinesis 9, локус 13q32) экспрессируется в роговице и кодирует белок, который активирует сигнальный G-белок Cdc42 и регулирует обмен гуанозинтрифосфат/гуанозиндифосфат. В гене *DOCK9* идентифицирована аутосомно-доминантная мутация A2262 > C, кодирующая замену глицина-754 на гистидин, которая ассоциирована с семейной формой кератоконуса [1, 6, 13, 33]. Хотя механизм, посредством которого эта мутация приводит к развитию кератоконуса, не ясен, известно, что мутация расположена в домене, который связывает фосфолипиды и может повлиять на соединение белка с клеточной мембраной. Кроме того, локус 13q32 содержит гены *IPO5* (importin 5, белок ядерного транспорта) и *STK24* (serine/threonine kinase 24), точная роль которых в патогенезе кератоконуса не известна, однако мутации этих генов (2380–134A > C и 1089 + 29G > C соответственно) описаны у па-

циентов со спорадическим и семейным кератоконусом [1, 14].

Часть маркеров генетической предрасположенности к кератоконусу идентифицирована на основании критерия толщины центральной роговицы (ТЦР). Средняя разность между ТЦР у пациентов с кератоконусом и у лиц контрольной группы составляет 75 мкм. Кератоконус с крайним истончением роговицы является клиническим признаком редких врождённых заболеваний соединительной ткани с грубыми аномалиями роговицы, таких как синдром хрупкой роговицы (СХР, аутосомно-рецессивное генерализованное расстройство соединительной ткани) и синдром Элерса–Данлоса, вызванных мутацией в полиморфном сайте rs9938149 (C/A) гена *ZNF469* (zinc-finger 469) [19]. Эта же мутация ассоциирована с риском изолированного кератоконуса [1, 28]. Всего в гене *ZNF469* идентифицировано 12 мутаций, которые вызывают СХР. У 22 из 23 пациентов с СХР из 13 неродственных семей обнаружены мутации в гене *ZNF469*. Все родители пациентов оказались носителями мутации, идентифицированной как причина заболевания. *ZNF469* — белок с неизвестной функцией, однако в исследованиях ассоциации с болезнями глаз неоднократно показано его влияние на ТЦР. Мутации 5353C > T и 2150delT в гене *ZNF469* изменяют транскрипцию генов, кодирующих компоненты МКМ, в частности генов *COL4A1* и *COL11A1*, и нарушают структурную целостность поражённых тканей [26].

С помощью аналогичного подхода (ассоциация ТЦР-сцепленных локусов с риском кератоконуса) в результате метаанализа более 20 000 пациентов из европейских и азиатских популяций были идентифицированы полиморфизмы в или рядом с генами *FOXO1* (rs2721051, T/C), *FNDC3B* (rs4894535, T/C), *MPDZ-NFIB* (rs1324183, A/C) с сильной ассоциацией с риском кератоконуса, *COL5A1* (rs1536482, A/G и rs7044529, T/C) [5, 17, 19, 28]. Около 1 % населения являются носителями аллелей риска в каждом из 6 локусов (rs2721051, rs4894535, rs1324183, rs1536482, rs7044529, rs9938149), и эти люди подвержены 7,2-кратному увеличению риска кератоконуса по сравнению с примерно 1 % населения, гомозиготным по протективным аллелям [19].

Один из механизмов патогенеза кератоконуса связан с генетическими изменениями структуры и функции коллагена в роговице. Строма роговицы состоит из коллагеновых волокон, поэтому неудивительно, что многие ТЦР-ассоциированные локусы содержат гены различных типов коллагене-

на, такие как *COL1A1*, *COL1A2*, *COL8A2*, *COL27A1* и *COL5A1* [17]. С кератоконусом ассоциированы аминокислотные замены метионин-1237/валин и фенилаланин-1644/фенилаланин в молекуле коллагена, кодируемого геном *COL4A4* (collagen  $\alpha$ -type IV), а также замена аспарагин-326/тирозин в молекуле коллагена, кодируемого геном *COL4A3* [1, 30]. Оба гена картированы в локусе 2q36.3 [6] и кодируют коллагены типа IVa [16].

Нарушение экспрессии коллагенов, ассоциированное с дистрофиями роговицы, может быть вызвано мутацией в гене *ZEB1/TCF8* (zinc finger E-box binding homeobox 1/transcription factor 8, локус 10p11.22). Белок ZEB1 является транскрипционным фактором, который играет важную роль в регуляции эпителиально-мезенхимально-го перехода. Мутации в *ZEB1* описаны у некоторых пациентов с изолированным кератоконусом, эндотелиальной дистрофией роговицы Фукса, а также в редких случаях сочетания эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса с кератоконусом и у 30 % пациентов с задней полиморфной дистрофией роговицы без кератоконуса [13, 21]. Описан единственный клинический случай, в котором все три патологии присутствуют у одного и того же больного и связаны с мутацией гена *ZEB1* [21].

Миссенс-мутация 1920G > T в гене *ZEB1* (замена глицина-640 на гистидин, нарушающая экспрессию белка) ассоциирована с эндотелиальной дистрофией роговицы Фукса и кератоконусом, в то время как нонсенс-мутация 2249C > A (серин-750 > X) с образованием стоп-кодона, продуцирующая усечённый белок, приводит к задней полиморфной дистрофии роговицы. Миссенс-мутация 1920G > T приводит к тому, что экспрессия генов *COL4A1* и *COL4A2* заметно, а *COL4A3*, *COL4A4* и *COL8A2* умеренно супрессирована [16, 21]. Дизрегуляция коллагенов типа IV $\alpha$  представляет собой общий эффект мутаций ZEB1 при кератоконусе, задней полиморфной дистрофии роговицы, эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса, хотя клинически и гистологически кератоконус отличается от других дистрофических заболеваний роговицы. Их ассоциация с мутацией ZEB1 свидетельствует о том, что в ряде случаев данные состояния имеют общую генетическую основу и общие патофизиологические механизмы [16].

Ген *MIR184* (microRNA-184, локус 15q22-q24) экспрессируется на высоком уровне в роговице и хрусталике и кодирует микроРНК-184, относящуюся к малым регуляторным РНК. МикроРНК

длиной 19–25 нуклеотидов регулируют активность более 60 % генов, связываясь с комплементарными последовательностями транскриптов генов-мишеней, что приводит к деградации мРНК или ингибирует трансляцию. МикроРНК-184 влияет на транскрипционную активность ключевых генов развития и гомеостаза роговицы. Замена 57C > U в микроРНК-184, ассоциированная с кератоконусом и ранним началом передней полярной катаракты, затрагивает сайт связывания с транскриптами генов *INPPL1* (inositol polyphosphate phosphatase-like 1) и *ITGB4* (integrin beta 4), вовлечённых в заживление травмы роговицы как компоненты эпителиальных десмосом роговицы [1, 33]. Мутация C57 > U описана у пациентов со спорадическим [6] и семейным кератоконусом [1], а также у пациентов с ранним началом передней полярной катаракты и кератоконусом [13]. Эта же мутация приводит к тяжёлой семейной форме кератоконуса в сочетании с синдромом EDICT (раннее начало передней полярной катаракты и эндотелиальной дистрофии сетчатки, гипоплазия радужной оболочки, врождённая катаракта и стромальное истончение) [15].

У двух пациентов из 780 (0,25 %) с изолированным кератоконусом одновременно присутствуют в геноме две гетерозиготные замены *MIR184* 8C > A и 3A > G, изменяющие вторичную структуру микроРНК-184. Анализ экспрессии показал, что мутация 8C > A почти полностью подавляет экспрессию микроРНК-184, а 3A > G снижает её примерно на 40 %. Пенетрантность мутаций неполная, и у родителей-переносчиков отсутствует клиническая картина кератоконуса. Тем не менее оба имеют некоторые тонкие клинические особенности, которые являются частью описания кератоконуса (тонкая роговица, помутнение роговицы, проминирующие нервные волокна в строме роговицы). Авторы предполагают, что второй родитель, не несущий мутацию *MIR184*, скорее всего, несёт другие, неидентифицированные, генетические факторы риска кератоконуса, которые тоже унаследованы потомками и в сочетании с мутацией *MIR184* привели к развитию у них клинической картины кератоконуса. Аналогичная полигенная пороговая модель патогенеза болезни уже была предложена для комплексных болезней и подробно изучена в отношении шизофрении [15].

Ген *SOD1* (superoxide dismutase 1, локус 21q22.11) кодирует цитоплазматический антиоксидантный фермент Cu-Zn-супероксиддисмутазу-1, метаболизирующий супероксидные радикалы

и обеспечивающий защиту от токсичности активных форм кислорода (АФК) [33]. Непосредственно контактируя с внешней средой, роговица особенно восприимчива к воздействию синего и ультрафиолетового света (УФ), который генерирует АФК и вызывает в ней оксидантный стресс, участвующий в патогенезе и прогрессировании некоторых глазных болезней, в том числе кератоконуса [27, 35]. В состоянии болезни роговица отличается сниженной активностью ферментов антиоксидантной защиты и накоплением АФК [31, 36], хотя уровень экспрессии мРНК *SOD1* не отличался от нормы [27]. Уникальная делеция 7 нуклеотидов в гене *SOD1* идентифицирована в 1 % случаев кератоконуса [1], спорадического [13] и семейного [15]. Мутантная супероксиддисмутаза лишена ферментативной активности и не способна защищать глаз от оксидантного стресса [13].

Исследование экспрессии генов в эпителии при кератоконусе обнаружило активацию гена *LOX* (lysyl oxidase, локус 5q23.2) по сравнению с нормой. Ген *LOX* кодирует лизилоксидазу, участвующую в сшивании волокон коллагена и эластина роговицы, катализируя окислительное дезаминирование эpsilon-аминогруппы лизина. Ген *LOX* содержит несколько сайтов инициации транскрипции, а также альтернативного сплайсинга и продуцирует несколько транскриптов, биологическая релевантность которых неизвестна. Полиморфные сайты rs10519694, rs2956540 в гене *LOX* высокодостоверно ассоциированы с кератоконусом и в семейных, и в спорадических случаях [7]. Гетерозиготные замены 473G > A в гене *LOX* (rs1800449, аргинин-158 > глутамин) и G > C (rs2288393, некодирующая область) обнаружены у одних и тех же пациентов, что указывает на их полное неравновесное сцепление. Гаплотипы +473A/rs2288393C и +473G/rs2288393G идентифицированы как фактор риска кератоконуса [12]. Предполагается, что комбинация минорных аллелей этих сайтов изменяет баланс и взаимодействие изоформ лизилоксидазы в ткани роговицы, приводит к нарушению поперечных сшивок коллагеновых волокон в строме роговицы, биомеханически ослабляет роговицу и предрасполагает носителей к развитию кератоконуса [7]. Хотя не ясно, какие изоформы активируются, эти результаты убедительно доказывают, что генетические варианты лизилоксидазы повышают предрасположенность к развитию кератоконуса [1, 7]. Этот вывод имеет значение для лечения по методу кросслинкинга

коллагеновых волокон роговицы, который использует комбинацию рибофлавина и длинноволнового УФ для увеличения перекрёстных связей между волокнами коллагена и укрепления роговицы, чтобы остановить прогрессирование кератоконуса [8]. Тестирование на полиморфизмы гена *LOX* пациентов с кератоконусом и заболеваниями соединительной ткани, такими как синдром Элерса – Данлоса, при которых также обнаружен дефицит активности лизилоксидазы, может повысить эффективность и безопасность кросслинкинга коллагена за счёт выявления и исключения пациентов-«нереспондеров» до начала лечения [7]. В настоящее время проходит испытания кросслинкинг искусственных коллагеновых волокон под воздействием рибофлавина и ультрафиолетового света для лечения кератоконуса, и, следовательно, этот ген может иметь терапевтическое значение [1].

Геномные исследования выявили как фактор риска кератоконуса ген *RAB3GAP1* (RAB3 GTPase activating protein subunit 1), кодирующий каталитическую субъединицу гетеродимерного фермента RAB3GAP (RAB3 GTPase-activating protein), который активирует малый G-белок из семейства Rab3 и контролирует кальций-опосредованный экзоцитоз нейротрансмиттеров и гормонов. Мутации в гене *RAB3GAP1* вызывают синдромы Warburg Micro и Martsolf, фенотипически перекрывающиеся аутосомно-рецессивные заболевания, характеризующиеся глазными симптомами и нарушением психомоторного развития. Метаанализ показал, что полиморфизм сайта rs4954218, предположительно связанный с блоком регуляторных элементов гена *RAB3GAP1*, высокодостоверно ассоциирован с кератоконусом. Чтобы выяснить его роль в биологии роговицы, требуются дальнейшие генетические и функциональные исследования [4, 13].

Роль оксидантного стресса в патогенезе кератоконуса подтверждается повышенным уровнем окислительных повреждений ДНК в роговице [10], особенно в митохондриальной ДНК (мтДНК) [3]. У пациентов с кератоконусом показано повышение в клетках роговицы относительного содержания мтДНК (числа копий мтДНК к ядерной ДНК) по сравнению с нормой, хотя группа пациентов была моложе, чем лица контрольной группы. При кератоконусе увеличено количество митохондриальных нарушений и мутаций мтДНК, что считается результатом оксидантного стресса [36]. Под трансмиссионным электронным микроскопом в тканях роговицы на-

блюдается набухание митохондрий. Митохондриальная гаплогруппа H и R повышает риск развития кератоконуса [2].

Поскольку повреждения ДНК часто связаны с развитием дегенеративных заболеваний, было высказано предположение, что гены, участвующие в репарации ДНК, могут влиять на чувствительность организма к мутагенам окружающей среды, накопление повреждений ДНК и предрасположенность к развитию комплексных заболеваний, в том числе заболеваний роговицы. Среди факторов, которые могут быть важны в патогенезе кератоконуса и эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса, оксидантный стресс играет особую роль. Это подтверждается высоким уровнем маркеров оксидантного стресса, в том числе малондиальдегида, и увеличением количества мутаций мтДНК в роговице, а также подавлением экспрессии некоторых генов антиоксидантов, наблюдаемым при кератоконусе и эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса [13, 33, 34–36]. Митохондриальный оксидантный стресс приводит к повреждению биомолекул роговицы и вызывает чрезмерный апоптоз, ведущий к преждевременным физиологическим изменениям роговицы, замедленной эпителизации роговицы, уменьшению числа эндотелиальных клеток роговицы, утолщению десцеметовой мембраны, истончению паренхимы роговицы и развитию кератоконуса. Повреждения ДНК удаляют в первую очередь ферменты эксцизионной репарации (ФЭР). Изменение кодирующих их генов может влиять на способность клеток роговицы справиться с оксидантным стрессом. Генотипирование генов ФЭР у 284 пациентов с кератоконусом выявило ассоциацию ряда полиморфизмов с риском кератоконуса [36].

Митохондриальная ДНК-полимераза- $\gamma$ , кодируемая геном *POLG*, катализирует синтез мтДНК и участвует в её репарации, вставляя нуклеотид в место разрыва, чтобы получить субстрат для ДНК-лигазы. Генотип AA полиморфизма C1370T > A гена *POLG* ассоциирован с повышенным риском возникновения кератоконуса, в то время как генотип AT связан со снижением риска [36].

Ген *XRCC1* (X-ray repair cross-complementing group 1) кодирует ещё один компонент системы ФЭР ДНК, который действует как интерфейс белок — белок, благодаря чему координирует деятельность других белков ФЭР. Известна ассоциация между полиморфизмом гена *XRCC1* и повышенным риском возрастной катарак-

ты и прогрессированием первичной открытоугольной глаукомы. Генотип AG и A-аллель полиморфизма 1196A > G, генотип AA полиморфизма -1370T > A и C-аллель полиморфизма 580C > T в гене *XRCC1* ассоциированы с увеличением риска развития кератоконуса [36].

Эндонуклеаза *FEN1* (flap endonuclease 1) играет важную роль в репликации и эксцизионной репарации окислительных повреждений мтДНК. Полиморфизмы -441G > A и 61564299G > T в гене *FEN1* снижают уровень его экспрессии. Функциональный дефицит *FEN1* может привести к геномной нестабильности и повышенной частоте мутаций, способствующих предрасположенности к ряду генетических заболеваний. Выявлена ассоциация между полиморфизмами -441G > A и 61564299G > T и развитием кератоконуса и эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса. Генотип TT полиморфизма 61564299G > T ассоциирован с повышенной частотой возникновения кератоконуса и эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса. Аллели полиморфизма -441G > A не влияют на риск развития кератоконуса, но гаплотип GG двух полиморфизмов повышает его, а гаплотип GT снижает. Гаплотип AG связан с увеличением частоты дистрофии Фукса [35].

Изменчивость гена *RAD51* также может способствовать развитию кератоконуса. Высокополиморфный ген *RAD51* кодирует белок, который является ключевым ферментом системы гомологичной рекомбинации и репарации ДНК, восстанавливающей повреждённую ДНК и поддерживающей стабильность генома. Потеря экспрессии *RAD51* предрасполагает клетки к генетической нестабильности и смерти. Полиморфизмы *RAD51*-61G > T (rs1801321; 172G > T) и -98G > C (rs1801320; 135G > C) относятся к наиболее распространённым. Аллель -61T находится в сайте связывания транскрипционного фактора P300/CBP, который регулирует активность генов-мишеней. G-аллель этого сайта не формирует сайт связывания с P300/CBP. T-аллель связан со значительно более высокой активностью промотора *RAD51* по сравнению с G-аллелем. Возникновение кератоконуса коррелирует с генотипами полиморфизма -61G > T. Генотипы GG и TT полиморфизма связаны со снижением риска возникновения кератоконуса, а гетерозиготный генотип GT по непонятной причине увеличивает его [31].

Обнаруженные ассоциации свидетельствуют о том, что гены репарации ДНК вовлечены в па-

тогенез кератоконуса. Полиморфизм может привести к функциональным изменениям ферментов репарации и повысить уровень окислительных повреждений ДНК, вызывающих заболевания глаз. Снижение эффективности репарации повышает восприимчивость к окислительному повреждению ДНК в условиях оксидантного стресса и способствует развитию кератоконуса [36].

Ген *HGF* (hepatocyte growth factor) экспрессируется в различных тканях глаза, в том числе и в роговице, и ассоциирован в многочисленных популяциях с рефракционной ошибкой, включая близорукость и дальнозоркость. Преломляющая оптическая сила глаза определяется, по меньшей мере отчасти, формой роговицы, которая сильно изменена при кератоконусе. Ассоциативное исследование 933 случаев кератоконуса из Австралии, США и Северной Ирландии выявило достоверную ассоциацию полиморфизмов rs3735520, rs17501108 и rs1014091 в гене *HGF* с кератоконусом [5]. Экспрессия *HGF* активируется в кератиноцитах роговицы в ответ на травмы роговицы. В слезной жидкости пациентов с тяжёлой формой кератоконуса обнаружен повышенный уровень провоспалительного цитокина IL-6. Промотор гена *HGF* содержит сайт связывания интерлейкина IL-6, который активирует транскрипцию гена *HGF*. Это позволяет предположить, что IL-6 и *HGF* являются важными участниками патогенеза кератоконуса [29]. Ассоциация *HGF* с кератоконусом предполагает потенциальное участие в его патогенезе воспалительного сигнального пути [13].

Ген *FLG* (filaggrin, локус 1q21) экспрессируется в кератиноцитах кожи и роговицы и кодирует белок филагрин, который является маркером дифференцировки кератиноцитов. Мутации в гене *FLG* являются генетическим фактором риска развития атопических состояний и кератоконуса. 5,6 % пациентов оказались носителями по крайней мере одной из двух мутаций *FLG*. Потеря функции филагрина в результате мутаций замены аргинина-501 и делеции 2282del4 в гене *FLG* обнаружена у больных кератоконусом, что свидетельствует о роли *FLG* в патогенезе кератоконуса [1, 13].

Усиленный апоптоз кератиноцитов роговицы, наблюдаемый в 60 % случаев кератоконуса и вызывающий стромальное истончение, обусловлен высвобождением интерлейкина IL-1b вследствие хронической механической травмы эпителия роговицы [13, 25]. Мутации в регуляторной области гена *IL1B* (-31C > T, rs1143627; -511C > T, rs16944) повышают концентрацию

цитокина и риск кератоконуса. Гаплотип, созданный T-аллелем rs1143627 и C-аллелем rs16944, связан с 1,7-кратным увеличением риска кератоконуса [22]. Интерлейкины IL-1α и IL-1β (кодируемые генами *IL1A* и *IL1B* соответственно) ответственны за контроль воспалительной реакции, тогда как IL-1RA (IL-1 receptor antagonist) модулирует эффекты IL-1α и IL-1β [32]. Гены обоих интерлейкинов вместе с геном *IL1RN*, кодирующим белок IL-1RA, расположены в локусе 2q13. Интронный полиморфизм 376C > A в гене *IL1A* (интерлейкин-1α) снижает риск заболевания [1]. Анализ сцепления идентифицировал замену 242C > T в гене *IL1RN*, которая сегрегирует с фенотипом кератоконуса [25]. Таким образом, полиморфизм генов, кодирующих белки семейства IL-1, является фактором предрасположенности к кератоконусу.

Хотя железо имеет большое значение для ряда клеточных функций, способность ионов железа генерировать свободные радикалы связана с индукцией оксидантного стресса. Избыток железа участвует в патогенезе множества заболеваний. Многочисленные исследования показывают, что внутриглазное железо может способствовать развитию широкого круга глазных болезней. Поглощение железа зависит от трансферрина и его рецепторов. Функция сывороточного гликопротеина трансферрина состоит в связывании ионов трёхвалентного железа и транспортировке их к рецепторам трансферрина на поверхности клеток, а также предотвращении окислительного повреждения клеточных структур свободными радикалами. Поскольку трансферрин является одним из факторов, необходимых для роста эпителиальных клеток, в том числе эпителиальных клеток роговицы, дисфункция трансферрина, вызванная мутациями кодирующего его гена *TF*, может способствовать оксидантному стрессу и расстройствам эпителия роговицы, увеличить риск кератоконуса и эндотелиальной дистрофии роговицы Фукса. Мутации в гене *TF* влияют на содержание или активность белка, что приводит к накоплению железа в роговице и повышенной восприимчивости к окислительному повреждению. Генотип AA и A-аллель полиморфизма 3296G > A в гене *TF* ассоциированы с возникновением кератоконуса, в то время как G-аллель отрицательно коррелирует с ним. Снижение риска возникновения кератоконуса ассоциировано и с генотипом AG полиморфизма 3481A > G [34].

Ген *CAST* (calpastatin, локус 5q15) кодирует кальпастанин — эндогенный высокоспецифичный

ингибитор внутриклеточных кальций-зависимых цистеинпротеаз — кальпаинов. Полиморфизм rs4434401 в гене *CAST* ассоциирован с семейной и спорадической формами кератоконуса [1]. Протеолитическая система калпаин/кальпаастатин присутствует в различных частях глаза, включая роговицу. В эпителии роговицы она предположительно играет роль в обмене эпителиальных клеток и заживлении ран. Иммуногистохимическая локализация кальпаинов и кальпаастатина в глазах кролика выявила присутствие кальпаина и кальпаастатина в эпителиальных кератиноцитах и фибробластах роговицы, эндотелиальных клетках. Экспрессия гена *CAST* также выявлена в различных частях глаза (трабекулярной сети, птериgiume, хрусталике, эпителии и строме роговицы) в норме и при кератоконусе. Соотношение кальпаастатин/кальпаин является важным фактором в регуляции калпаин-индуцированного протеолиза в тканях, высокие уровни кальпаастатина связаны с его подавлением. Однако транскрипты, полученные из роговицы с кератоконусом, отличаются по структуре от нормальных. Нарушения регуляции системы кальпаин/кальпаастатин, в том числе из-за генетических дефектов, связаны с рядом заболеваний человека, включая рак, болезнь Альцгеймера, инфаркт миокарда, сахарный диабет, мышечные дистрофии и катаракту, избыточная экспрессия кальпаастатина усиливает некротические процессы в тканях. Ген *CAST* содержит полиморфизм rs4434401, минорный Т-аллель которого ассоциирован с семейным и спорадическим кератоконусом. Оценка уровня экспрессии и активности кальпаастатина в ткани роговицы больных кератоконусом, несущих аллель риска полиморфизма rs4434401, откроет возможность для разработки нехирургических методов лечения, основанных на манипуляции с системой кальпаин/кальпаастатин [18].

Анализ сцепления идентифицировал аутосомно-доминантную делецию 54 нуклеотидов в позиции c.2558+149\_2558+203 в гене *SLC4A11* (sodium bicarbonate transporter like protein 11, локус 20p13), которая сегрегирует с фенотипом кератоконуса. Ген *SLC4A11* (solute carrier family 4) кодирует полифункциональный мембраносвязанный белок-транспортёр бикарбоната натрия, который участвует в росте и пролиферации клеток, активируя сигнальные пути. Ген *SLC4A11* экспрессируется на высоком уровне в эндотелиальных клетках крови, яичников, лёгких, кожи, толстой кишки и роговицы. Дисфункция *SLC4A11* приводит к апоптозу. Известно, что апоптоз вовле-

чён в патогенез кератоконуса. Мутации *SLC4A11* описаны у пациентов с *SLC4A11*-связанными заболеваниями роговицы, в том числе рецессивной эндотелиальной дистрофией роговицы, дистрофией роговицы с перцептивной глухотой, эндотелиальной дистрофией роговицы Фукса [25].

Все эти данные только начинают раскрывать молекулярную этиологию кератоконуса, при этом многочисленные генетические факторы риска этого сложного заболевания остаются неидентифицированными. Об этом говорят результаты исследования дифференциальной экспрессии генов в эпителии роговицы при кератоконусе по сравнению с нормой. Анализ транскрипции идентифицировал 47 генов, которые активированы, и 9 генов, которые ингибированы при кератоконусе. Например, уровень мРНК гена *KRT72* (keratin 72) повышен в 5,2 раза [24], а *ADH1B* (alcohol dehydrogenase 1B class I beta polypeptide) в кератиноцитах больных кератоконусом снижен более чем в 200 раз [23]. Геномный анализ, выполненный М. Маче et al., идентифицировал 87 дифференциально экспрессирующихся генов, регулирующих апоптоз, клеточную пролиферацию и дифференцировку [20]. Анализ глобальной экспрессии генов выявил дифференциальную экспрессию 471 гена [11].

В стромальных фибробластах роговицы при кератоконусе показана активация генов *BMP4* (bone morphogenetic protein 4), *CFL1* (cofilin 1) и подавление экспрессии генов *ACTA2* (actin, alpha 2), *GRCC10* (gene rich cluster, C10), *SSTR1* (somatostatin receptor 1), *AQP5* (aquaporin 5), *ALDH3* (aldehyde dehydrogenase class 3) [2, 23, 34]. В поиске генов-кандидатов анализ сцепления по всему геному идентифицировал несколько хромосомных локусов, ассоциированных с кератоконусом: 1p36.23-36.21, 2p24, 10p11.22, 12p, 20p11.21, 1q21, 4q, 5q14-q21, 5q21.2, 5q23.2, 5q32-q33, 8q13.1-q21.11, 9q34, 13q32, 13q33.3, 14q11.2, 14q24.3, 15q22-24, 16q22.3-q23.1, 20q12, 21q22.11 [4, 6, 22, 35, 36]. Анализ протеома роговицы и слёзной жидкости у пациентов с кератоконусом выявил множество структурных белков, сигнальных молекул, цитокинов и ферментов, экспрессия которых дисрегулирована. Эти данные дают ключ к пониманию сложного процесса дегенерации роговицы и разработке новых способов диагностики и лечения данного заболевания [11].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Генетическая предрасположенность к кератоконусу убедительно доказана, но идентифицирова-

на лишь небольшая часть генов. Функциональное влияние патогенных мутаций изменяет экспрессию генов-мишеней, и это формирует основу корреляции генотип — фенотип. Деградация тканей при кератоконусе вовлекает дерегуляцию экспрессии множества молекул, в том числе ферментов, медиаторов воспаления, цитокинов, молекул клеточной адгезии и протеиназ, цитокератинов и иммуноглобулинов. Многочисленность генов, ассоциированных с кератоконусом, свидетельствует о чрезвычайной генетической гетерогенности заболевания. Анализ сегрегации, данные генетических эпидемиологических исследований и картирование генов подтвердили, что генетические факторы играют ключевую роль в развитии заболеваний роговицы. Наиболее достоверно установлена ассоциация генов *VSX1*, *SOD1*, *LOX*, *COL4A1-4*, *COL5A1*, *DOCK9*, *ZEB1*. Эти генные идентификации начинают раскрывать молекулярную этиологию кератоконуса, но остаётся множество ещё не идентифицированных генетических факторов риска этого сложного заболевания.

Хотя протеомные и генные исследования экспрессии обнаружили как общие, так и уникальные молекулы, которые могут служить биомаркерами кератоконуса, необходимы дальнейшие исследования точных молекулярных механизмов его прогрессирования, чтобы его остановить. Включение в анамнез генетической информации гарантирует, что только «генотипически подходящие» пациенты получают лечение по индивидуально разработанной программе, что соответствует концепции персонализированного подхода в современной медицине. Первым примером такого подхода в клинике кератоконуса является тестирование пациентов на полиморфизмы гена лизилоксидазы, которое может повысить эффективность и безопасность выполнения кросслинкинга коллагена путем подбора пациентов, которые отвечают на это лечение. Накопление информации о молекулярных механизмах, лежащих в основе патогенеза кератоконуса, позволит увеличить число таких примеров. Преимущество персонализированного подхода в медицине заключаются в высокой эффективности и специфичности терапии и уменьшении риска побочных эффектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abu-Amero KK, Al-Muammar AM, Kondkar AA. Genetics of keratoconus: where do we stand? *J. Ophthalmol.* [Электронный ресурс] 2014. doi: 10.1155/2014/641708.
2. Abu-Amero KK, Kondkar AA, Azad TA, et al. Keratoconus is associated with increased copy number of mitochondrial DNA *Mol Vis.* 2014;(20):1203-1208. doi: 10.1155/2014/641708.
3. Atilano S.R, Coskun P, Chwa M, et al. Accumulation of mitochondrial DNA damage in keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46(4):1256-1263. doi: 10.1167/iovs.04-1395.
4. Bae HA, Mills RA, Lindsay RG, et al. Replication and meta-analysis of candidate loci identified variation at RAB3GAP1 associated with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(7):5132-5. doi: 10.1167/iovs.13-12377.
5. Burdon KP, Macgregor S, Bykhovskaya Y, et al. Association of polymorphisms in the hepatocyte growth factor gene promoter with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(11):8514-9. doi: 10.1167/iovs.11-8261.
6. Burdon KP, Vincent AL. Insights into keratoconus from a genetic perspective. *Clin Exp Optom.* 2013;96(2):146-154. doi: 10.1111/cxo.12024.
7. Bykhovskaya Y, Li X, Epifantseva I, et al. Variation in the lysyl oxidase (LOX) gene is associated with keratoconus in family-based and case-control studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(7):4152-4157. doi: 10.1167/iovs.11-9268.
8. Chai D, Gaster RN, Roizenblatt R, et al. Quantitative assessment of UVA-riboflavin corneal cross-linking using nonlinear optical microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(7):4231-4238. doi: 10.1167/iovs.10-7105.
9. Chang H-Y, Chodosh J. The genetics of keratoconus. *Semin Ophthalmol.* 2013;28(5-6):275-280. doi: 10.3109/08820538.2013.825295.
10. Chwa M, Atilano SR, Hertzog D, et al. Hypersensitive response to oxidative stress in keratoconus corneal fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(10):4361-4369. doi: 10.1167/iovs.08-1969.
11. Ghosh A, Zhou L, Ghosh A, et al. Proteomic and gene expression patterns of keratoconus. *Indian J Ophthalmol.* 2013;61(8):389-91. doi: 10.4103/0301-4738.116056.
12. Hasanian-Langroudi F, Saravani R, Validad MH, et al. Association of lysyl oxidase (LOX) polymorphisms with the risk of keratoconus in an Iranian population. *Ophthalmic Genet.* [Электронный ресурс] 2014. doi: 10.3109/13816810.2014.881507.
13. Jeyabalan N, Shetty R, Ghosh A, et al. Genetic and genomic perspective to understand the molecular pathogenesis of keratoconus. *Indian J Ophthalmol.* 2013;61(8):384-388. doi: 10.4103/0301-4738.116055.
14. Karolak JA, Polakowski P, Szaflik J, et al. Molecular screening of keratoconus susceptibility sequence variants in *VSX1*, *TGFBI*, *DOCK9*, *STK24*, and *IPO5* genes in Polish patients and novel *TGFBI* variant identification. *Ophthalmic Genetics* [Электронный ресурс] 2014. doi: 10.3109/13816810.2014.926375.
15. Lechner J, Bae HA, Guduric-Fuchs J, et al. Mutational analysis of MIR184 in sporadic keratoconus and myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(8):5266-5272. doi: 10.1167/iovs.13-12035.
16. Lechner J, Dash DP, Muszynska D, et al. Mutational spectrum of the ZEB1 gene in corneal dystrophies supports a genotype-phenotype correlation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(5):3215-23. doi: 10.1167/iovs.13-11781.
17. Li X, Bykhovskaya Y, Canedo AL, et al. Genetic association of COL5A1 variants in keratoconus patients suggests a complex

- connection between corneal thinning and keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(4):2696-2704. doi: 10.1167/iovs.13-11601.
18. Li X, Bykhovskaya Y, Tang YG, et al. An association between the calpastatin (CAST) gene and keratoconus. *Cornea*. 2013;32(5):696-701. doi: 10.1097/ICO.0b013e3182821c1c.
  19. Lu Y, Vitart V, Burdon KP, et al. Genome-wide association analyses identify multiple loci associated with central corneal thickness and keratoconus. *Nat Genet*. 2013;45(2):155-163. doi: 10.1038/ng.2506.
  20. Mace M, Galiacy SD, Erraud A, et al. Comparative transcriptome and network biology analyses demonstrate antiproliferative and hyperapoptotic phenotypes in human keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(9):6181-6191. doi: 10.1167/iovs.10-70981.
  21. Mazzotta C, Traversi C, Raiskup F, et al. First identification of a triple corneal dystrophy association: keratoconus, epithelial basement membrane corneal dystrophy and Fuchs' endothelial corneal dystrophy. *Case Rep Ophthalmol*. 2014;5(3):281-8. doi: 10.1159/000367937.
  22. Mikami T, Meguro A, Teshigawara T, et al. Interleukin 1 beta promoter polymorphism is associated with keratoconus in a Japanese population. *Mol Vis*. 2013;(9):845-851.
  23. Mootha VV, Kanoff JM, Shankardas J, Dimitrijevic S. Marked reduction of alcohol dehydrogenase in keratoconus corneal fibroblasts. *Mol Vis*. 2009;(15):706-712.
  24. Nielsen K, Birkenkamp-Demtroder K, Ehlers N, Orntoft TF. Identification of differentially expressed genes in keratoconus epithelium analyzed on microarrays. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(6):2466-2476. doi: 10.1167/iovs.02-0671.
  25. Nowak DM, Karolak JA, Kubiak J, et al. Substitution at IL1RN and deletion at SLC4A11 segregating with phenotype in familial keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(3):2207-15. doi: 10.1167/iovs.13-11592.
  26. Rohrbach M, Spencer HL, Porter LF, et al. *ZNF469* frequently mutated in the brittle cornea syndrome (BCS) is a single exon gene possibly regulating the expression of several extracellular matrix components. *Mol Genet Metab*. 2013;109(3):289-295. doi: 10.1016/j.ymgme.2013.04.014.
  27. Saeed-Rad S, Raofian R, Mahbod M, et al. Analysis of superoxide dismutase 1, dual-specificity phosphatase 1, and transforming growth factor, beta 1 genes expression in keratoconic and non-keratoconic corneas. *Mol Vis*. 2013;(19):2501-2507.
  28. Sahebjada S, Schache M, Richardson AJ, et al. Association of the hepatocyte growth factor gene with keratoconus in an Australian population. *PLoS One*. 2014;9(1):e84067. doi: 10.1371/journal.pone.0084067.
  29. Sahebjada S, Schache M, Richardson AJ, et al. Evaluating the association between keratoconus and the corneal thickness genes in an independent Australian population. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(13):8224-8228. doi: 10.1167/iovs.13-12982.
  30. Stabuc-Silih M, Ravnik-Glavac M, Glavac D, et al. Polymorphisms in COL4A3 and COL4A4 genes associated with keratoconus. *Mol Vis*. 2009;(15):2848-2860.
  31. Synowiec E, Wojcik KA, Izdebska J, et al. Polymorphisms of the homologous recombination gene RAD51 in keratoconus and Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Dis Markers*. 2013;35(5):353-362. doi: 10.1155/2013/851817.
  32. Vithana ENMP, Ramprasad V, Tan DT, et al. SLC4A11 mutations in Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Hum Mol Genet*. 2008;17(5):656-666. doi: 10.1093/hmg/ddm337.
  33. Wheeler J, Hauser MA, Afshari NA, Allingham RR, Liu Y. The genetics of keratoconus: a review. *Reprod Syst Sex Disord*. 2012;(Suppl.6):pii:001.
  34. Wójcik KA, Synowiec E, Jiménez-García M.P. Polymorphism of the transferrin gene in eye diseases: keratoconus and Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Biomed Res Int*. [Электронный ресурс] 2013. doi: 10.1155/2013/247438.
  35. Wójcik KA, Synowiec E, Polakowski P, et al. Polymorphism of the flap endonuclease 1 gene in keratoconus and Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Int J Mol Sci*. 2014;15(8):14786-14802. doi: 10.3390/ijms150814786.
  36. Wojcik KA, Synowiec E, Sobierajczyk K, et al. Polymorphism of the DNA base excision repair genes in keratoconus. *Int J Mol Sci*. 2014;15(11):19682-19699. doi: 10.3390/ijms151119682.

## Сведения об авторах

**Алексей Николаевич Куликов** — д-р мед. наук, доцент, начальник кафедры офтальмологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: alexey.kulikov@mail.ru.

**Сергей Викторович Чурашов** — д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры офтальмологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: Churashoff@mail.ru.

**Татьяна Аскарровна Камилова** — канд. биол. наук, старший научный сотрудник НИЛ (тканевой инженерии) НИО (медико-биологических исследований) НИЦ. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: Kamilovaspb@mail.ru.

**Владимир Алексеевич Рейтузов** — канд. мед. наук, доцент кафедры офтальмологии. ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург. E-mail: varvar.61@mail.ru.

## Information about the authors

**Alexey N. Kulikov** — MD, PhD, DMedSc, professor, head of the department. Ophthalmology Department. "S.M. Kirov Military Medical Academy", St Petersburg, Russia. E-mail: alexey.kulikov@mail.ru.

**Sergey V. Churashov** — MD, PhD, DMedSc, assistant professor, professor. Ophthalmology Department. "S.M. Kirov Military Medical Academy", St Petersburg, Russia. E-mail: Churashoff@mail.ru.

**Tatiana A. Kamilova** — PhD, Biology, senior research associate. Scientific research laboratory (tissue engineering) of the Scientific research department (of the medical biological research) of the Scientific research center. "S.M. Kirov Military Medical Academy", St Petersburg, Russia. E-mail: Kamilovaspb@mail.ru.

**Vladimir A. Reitzov** — MD, PhD, assistant professor. Ophthalmology Department. "S.M. Kirov Military Medical Academy", St Petersburg, Russia. E-mail: varvar.61@mail.ru.