

На правах рукописи

ВОСКРЕСЕНСКАЯ АННА АЛЕКСАНДРОВНА

**РАЗРАБОТКА КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО АЛГОРИТМА
ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ
РАХ6-АССОЦИИРОВАННОЙ ВРОЖДЕННОЙ АНИРИДИИ**

14.01.07 – глазные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2020

Работа выполнена на базе Чебоксарского филиала Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук
Поздеева Надежда Александровна

Научный консультант: кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова»
Марахонов Андрей Владимирович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник отдела патологии глаз у детей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России
Круглова Татьяна Борисовна

доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отделения патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней»
Шеремет Наталия Леонидовна

Ведущая организация: ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России

Защита состоится «16» марта 2020 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д.208.014.01 при ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59А.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России и на сайте www.mntk.ru.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2020 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

И.А. Мушкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В развитых странах половина зарегистрированных случаев слепоты и слабовидения у детей вызывается генетическими заболеваниями (Gilbert С., 2001; Solebo А., 2017). В России количество врожденных пороков развития (ВПР) органа зрения составляет 2,7 случаев на 10 000 новорождённых (Хлебникова О.В., 2014).

Врожденная аниридия (ВА) (ОМIM, 106210) является прогрессирующим паночулярным ВПР, приводящим в большинстве случаев к стойкому снижению зрительных функций и слепоте. Она зарегистрирована как орфанное заболевание ORPHA77, в том числе и в Российской Федерации, с 2014 года. По данным Национальной организации редких заболеваний (NORD, <https://rarediseases.org>) ее встречаемость в мире колеблется от 1:64 000 до 1:96 000 случаев (Wawrocka А., 2013).

ВА является моногенным пороком развития, который в 80–95% случаев ассоциирован с возникновением гетерозиготных мутаций в гене *PAX6* (ОМIM *607108), появлением хромосомных перестроек с вовлечением локуса гена (11p13) (van Heyningen V., 2002; Crolla J.A., 2002; Robinson D., 2008) или с захватом теломерно расположенных удаленных *цис*-регуляторных элементов (Fantes J., 1995; Landsend E.S., 2018).

Ген *PAX6* является одним из ключевых регуляторов эмбриогенеза, активная экспрессия которого необходима в период формирования и дифференцировки тканей глаза, некоторых участков головного мозга, обонятельной луковицы, невральной трубки, пищеварительного тракта и поджелудочной железы (Walther С., 1991; Stoykova А., 1994; Quinn J.C., 1996; Callaerts P., 1997; Grindley J.C., 1997; St-Onge L., 1997; Simpson T., 2002). Мальформации при ВА затрагивают как передний, так и задний отрезки глаза, включая роговицу, хрусталик, радужную оболочку, структуры угла передней камеры глаза, сетчатку и диск зрительного нерва (ДЗН), а также сопровождаются системными проявлениями с неврологическими расстройствами и нарушением обмена веществ.

Прогрессирующий характер течения *РАХ6*-ассоциированной врожденной аниридии (*РАХ6*-ВА), приводящий в большинстве случаев к стойкому снижению зрительных функций и слепоте, определяет социальную значимость и актуальность изучения данного ВПР. Отсутствие сведений о клинических проявлениях *РАХ6*-ВА в популяции российских пациентов делает необходимым изучение данной патологии с целью расширения клинической базы данных, систематизации результатов и проведения кросс-когортных исследований с другими географически удаленными, генетически гетерогенными популяциями пациентов. Лишь в единичных литературных источниках рассматриваются особенности манифестации *РАХ6*-ВА в детском возрасте (Eden U., 2008; Eden U., 2014; Schanilec P., 2014; Катаргина Л. А., 2015). Важным аспектом педиатрической офтальмологии является определение клинических признаков, имеющих прогностическое значение для течения заболевания в будущем. В связи с этим большое внимание следует уделять ранней диагностике и выявлению осложнений с целью сохранения зрительных функций, снижения действия повреждающих факторов и обеспечения лучшего качества жизни для аниридийных пациентов.

Сохраняет свою актуальность поиск взаимосвязей клинических проявлений ВА с различными типами мутационных изменений. В существующих на сегодняшний день работах по анализу гено-фенотипических корреляций делаются противоречивые выводы о наличии зависимостей между типом мутационных изменений и их клиническими последствиями (Tzoulaki I., 2005; Hingorani M., 2009; Dubey S.K., 2015; Yokoi T., 2016; Lima Cunha D., 2019). Неоднородность глазных проявлений *РАХ6*-ВА (Hingorani M., 2009), различная скорость прогрессирования ее осложнений затрудняют понимание патогенетических механизмов течения данного заболевания и замедляют разработку общих рекомендаций по ведению данной категории пациентов.

Таким образом, анализ клинических особенностей *РАХ6*-ВА, выявление сроков манифестации ее осложнений, оценка морфологических изменений роговицы, поиск гено-фенотипических взаимосвязей и определение предсказательного значения генотипа, несомненно, важны для оценки риска прогрессирования заболевания и разработки алгоритма дальнейшей реабилитации пациентов с данной офтальмопатологией.

Цель исследования - создать клинико-диагностический алгоритм прогнозирования течения *РАХ6*-ВА на основе разработанного комплекса клинико-функциональных, морфологических и генетических исследований.

Задачи исследования

1. На основании ретроспективных данных проанализировать глазные проявления *РАХ6*-ВА у пациентов разных возрастных групп.
2. На основании данных лазерной сканирующей конфокальной микроскопии (ЛКСМ) и оптической когерентной томографии (ОКТ) оценить клинико-морфологические изменения роговицы на разных стадиях аниридийной кератопатии (АК).
3. Проанализировать спектр мутаций гена *РАХ6* и региона 11p13 и разработать метод выявления и оценки гено-фенотипических зависимостей на основе вероятностной модели с совместным использованием критерия Фишера и отношения правдоподобия.
4. Изучить гено-фенотипическую взаимосвязь между типом мутаций в гене *РАХ6* и регионе 11p13 с клиническими проявлениями ВА.
5. Разработать клинико-диагностический алгоритм прогнозирования течения *РАХ6*-ВА.

Научная новизна

1. Впервые описана фенотипическая картина офтальмологических проявлений *РАХ6*-ВА в популяции российских пациентов, характеризующаяся достоверным увеличением частоты встречаемости катаракты, подвывиха хрусталика, тяжелых стадий АК, слепоты и птоза у взрослых субъектов и отсутствием разницы в количестве случаев нистагма, глаукомы, аномалий рефракций и косоглазия между пациентами младшей и старшей возрастных групп.
2. Впервые представлен альтернативный способ оценки сохранности прогениторных структур лимба на основе ОКТ в режиме En Face, отличающийся от ЛКСМ неинвазивностью, панорамностью получаемых снимков, быстротой и возможностью применения в педиатрической практике.
3. Впервые разработана прогрессивная шкала комплексной оценки тяжести глазного фенотипа, позволяющая систематизировать структурные и функциональные нарушения органа зрения у пациентов с *РАХ6*-ВА.

4. Впервые разработана вероятностная математическая модель анализа гено-фенотипических зависимостей, позволяющая выявить взаимосвязи между типом мутаций и клиническими проявлениями *РАХ6-ВА*.

5. Впервые разработан алгоритм прогнозирования течения *РАХ6-ВА* в зависимости от типа мутационных дефектов, затрагивающих кодирующие и удаленные 3'-*цис*-регуляторные области гена *РАХ6*.

Практическая значимость

1. Выявленные особенности клинической картины *РАХ6-ВА* формируют полный офтальмологический портрет пациента с аниридийным синдромом в разных возрастных группах, что способствует целостному пониманию панокулярного характера глазных нарушений и обуславливает необходимость прицельной диагностики возможных осложнений.

2. Морфологические изменения, обнаруживаемые при помощи ЛСКМ, позволяют прогнозировать благоприятное и неблагоприятное течение АК на основе выявления сохранных прогениторных структур лимба и выраженности признаков недостаточности лимбальных стволовых клеток (НЛСК), что может служить основой для дальнейшего поиска корреляций между существующими нарушениями и результатами молекулярной диагностики *РАХ6-ВА*.

3. Установленная высокая информативность ОКТ роговицы в оценке сохранности прогениторных лимбальных структур у пациентов с АК и неинвазивный характер процедуры определяют целесообразность ее использования для обследования пациентов с патологией роговицы на фоне НЛСК.

4. Разработанная балльная система оценки глазных проявлений *РАХ6-ВА*, включающая совокупность индивидуальных особенностей офтальмологического статуса, позволяет определить степень тяжести глазного фенотипа.

5. Картина классического фенотипа *РАХ6-ВА* у носителей мутаций, ведущих к потере функции белка, характеризуется неоднородной тяжестью глазных проявлений, проградентным характером течения АК и риском ее прогрессирования в послеоперационном периоде, что определяет

необходимость взвешенного подхода к выбору тактики хирургического лечения данной категории пациентов.

6. Уникальность клинической картины пациентов с делециями 3'-*цис*-регуляторного региона *PAX6*, отличающейся от классического аниридийного фенотипа, позволяет выделить отдельный гено-фенотипический вариант, обладающий благоприятным зрительным прогнозом и хорошей переносимостью хирургических вмешательств.

7. Разработанный клиничко-диагностический алгоритм прогнозирования течения *PAX6*-ВА обеспечивает системный подход к эффективному решению лечебных задач с определением индивидуальной тактики ведения пациентов с данным врожденным пороком развития.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанный клиничко-диагностический алгоритм обследования пациентов с *PAX6*-ВА, включающий анализ клиничко-функциональных нарушений органа зрения с определением глазных проявлений, изменчивых во времени и по степени тяжести, оценку морфологических изменений роговицы с выделением двух клиничко-морфологических вариантов благоприятного и неблагоприятного течения АК на основе выявления сохранных прогениторных структур лимба и признаков НЛСК и верификацию генетических дефектов, локализующихся в кодирующих и удаленных 3'-*цис*-регуляторных областях гена *PAX6*, позволяет прогнозировать дальнейшее течение данной офтальмопатологии.

2. Выявленные сходства между клиническими проявлениями инактивирующих мутаций и делеций региона 11p13 с захватом гена *PAX6*, заключающиеся в сопоставимой остроте зрения ($p=0,95$), одинаковой частоте полной аниридии ($p=0,54$), нистагма ($p=1,0$), АК ($p=1,0$), катаракты ($p=1,0$), подвывиха хрусталика ($p=1,0$), глаукомы ($p=0,74$), гипоплазии фовеа 4-й степени ($p=1,0$), герминативных структур лимба ($p=0,52$), и их отличия от глазного статуса пациентов с делециями удаленных 3'-*цис*-регуляторных областей гена *PAX6*, соответствующего легкой степени тяжести офтальмологических проявлений в виде высокой остроты зрения ($p=0,000$), отсутствия нистагма ($p=0,000$), АК ($p=0,000$), наличия лимбальных палисад Фогта (ЛПФ) ($p=0,000$) и структурной сохранности макулярной области

($p=0,000$), существенно влияют на выбор лечебной тактики ведения пациентов с РАХ6-ВА.

Апробация результатов

Основные материалы работы доложены и обсуждены на заседаниях научных обществ, а также региональных, всероссийских и международных конференциях и конгрессах: на 2-й Европейской конференции по аниридии (Венеция, 2014); Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные проблемы офтальмологии с вопросами врожденной аниридии» (Чебоксары, 2015); X Всероссийской научной конференции молодых ученых «Актуальные вопросы офтальмологии» (Москва, 2015); X съезде офтальмологов России (Москва, 2015), Съезде медицинских генетиков (Санкт-Петербург, 2015), научной конференции офтальмологов «Невские горизонты–2016» (Санкт-Петербург, 2016); научно-клинической конференции МНТК «Микрохирургия глаза» (Москва, 2016), XIII–XV Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Федоровские чтения» (Москва, 2016; 2017; 2018); Всероссийской научно-практической конференции с интернет-трансляцией «Фундаментальные исследования в офтальмологии» под эгидой «Общества офтальмологов России» (Новосибирск, 2016; 2017); XVII, XVIII научно-практических конференциях с международным участием «Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии» (Москва, 2016; 2017; 2019); Конгрессе Всеиндийского общества офтальмологов (Калькутта, 2016); XVI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» (Сочи, 2017); Всероссийской научно-практической конференции «Новые технологии в офтальмологии–2018» (Казань, 2018); Международном конгрессе Американского общества катарактальных и рефракционных хирургов (ASCRS) и Американского общества администраторов в сфере офтальмологии (ASOA) (Вашингтон, 2018).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 20 работ, из них 14 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ, а также 2 публикации в зарубежных изданиях, индексируемых в Web of Science и Scopus; издано 1 практическое руководство, получен 1 патент на изобретение № 2654756 от 24.05.2018 и 1

свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019612211 от 13.02.2019.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 179 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 38 рисунками и 28 таблицами. Список литературы содержит 267 источников, из них 6 публикаций отечественных и 261 – иностранных авторов.

Молекулярно-генетическая диагностика биологических образцов пациентов с ВА проводилась на базе лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова» (г. Москва, канд. биол. наук Васильева Т.А.).

Статистический анализ взаимосвязей клинических проявлений ВА с типами генетических мутаций проводился на базе кафедры вычислительных систем и технологий Нижегородского государственного технического университета им. Р.Е. Алексеева (г. Н. Новгород, д-р техн. наук Ломакина Л.С., канд. техн. наук Ломакин Д.В., Канев О.К.).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для достижения поставленной цели работа была разделена на несколько последовательных этапов, соответствующих задачам исследования. **Первый этап** включал выполнение диагностического алгоритма, состоящего из комплекса клинико-функциональных, клинико-морфологических и молекулярно-генетических методов обследования. В группу ретроспективного анализа клинико-функциональных данных вошли 110 пациентов (220 глаз) с *РАХ6*-ВА из 79 неродственных семей. Анализ особенностей офтальмологических проявлений *РАХ6*-ВА проводился в двух возрастных группах. I группу составили 46 человек (92 глаза), дети и подростки до 18 лет включительно, средний возраст – $6,2 \pm 5$ лет (Me – 4,8 года). Во II группу вошли 64 пациента (128 глаз) старше 18 лет, средний

возраст которых составил $34,7 \pm 10$ лет (Me – 33 года). Дополнительно в рамках поставленной задачи по анализу глазных проявлений *РАХ6*-ВА в разных возрастных группах было выполнено сравнительное проспективное исследование темпов роста хрусталика в глазах с ВА и без нее. Толщина хрусталика была измерена у 88 аниридийных пациентов (88 глаз) в возрасте $23,2 \pm 16,6$ года и в группе контроля, состоящей из 344 здоровых пациентов (344 глаза) без интраокулярных патологий в возрасте $26,5 \pm 16,2$ лет. Длина глаза и средние значения сферэквивалента у пациентов обеих групп не отличались между собой ($p > 0,05$).

В группу клинико-морфологических методов исследования роговицы были включены 36 (68 глаз) пациентов основной группы с разными стадиями АК и 30 здоровых добровольцев (30 глаз) группы контроля без патологии переднего отрезка глаза. Обследование роговицы выполнялось с помощью ЛСКМ и ОКТ. ЛСКМ с целью детального обследования центральной и периферических зон роговицы, определения плотности крыловидных, базальных и эндотелиальных клеток, оценки структуры лимбальных палисад Фогта (ЛПФ), выявления воспалительных изменений в верхнем и нижнем лимбе проводилась на Гейдельбергском лазерном ретинальном томографе HRT3 с роговичным модулем Rostock Cornea Module (Heidelberg Engineering, Германия). ОКТ переднего отрезка глаза с целью исследования лимбальных структур (протокол 3D Cornea) и измерения центральной толщины роговицы (ЦТР) (протокол Pachymetry+CPwr) осуществлялась с помощью спектрального оптического когерентного томографа RTVue XR Avanti (Optovue, США) с насадкой для исследования переднего отрезка глаза. Молекулярно-генетическая диагностика на основе прямого двунаправленного автоматического секвенирования 14 экзонов гена *РАХ6* и мультиплексной реакции лигазозависимой амплификации зондов (MLPA) была выполнена 105 пациентам (69 пробандам).

Основываясь на результатах, полученных в ходе выполнения первого этапа работы, был реализован **второй этап**, связанный с изучением гено-фенотипических взаимосвязей между клиническими проявлениями *РАХ6*-ВА и различными типами мутационных изменений. В этот анализ вошли 68 пробандов, которые были разделены в зависимости от типа мутаций на

миссенс-мутации (n=3), инактивирующие мутации (n=23), мутации изменяющие сплайсинг (n=12), крупные хромосомные перестройки (n=14) и делеции удаленных 3'-*цис*-регуляторных областей гена *PAX6* (n=7). Возрастные различия между подгруппами были статистически незначимы ($p_H=0,8413$). **Третий** этап работы включал разработку клинко-диагностического алгоритма прогнозирования течения *PAX6*-ВА.

Полученные результаты были обработаны общепринятыми методами дескриптивной статистики с помощью пакета прикладных программ STATISTICA версия 6.1 (StatSoft Inc., США). С целью снижения влияния парных глаз на результаты статистического анализа в работу был включен лишь один глаз 1 пациента, выбранный путем рандомизации.

Результаты исследований

Результаты клинко-функционального обследования пациентов с *PAX6*-ВА

В ходе ретроспективного анализа клинко-функциональных результатов обследования была изучена частота глазных проявлений *PAX6*-ВА, включающая развитие АК (75,5%), нистагма (85,5%), катаракты (79,1%), глаукомы (31,8%), полной аниридии (74,5%), гипоплазии фовеа (89,7%) и ДЗН (17,3%), подвывиха хрусталика (21,8%), рефракционных нарушений (96,2%), косоглазия (49,1%), птоза (22,7%), микрофтальма (10,3%) и микрокорнеа (3,7%).

С целью определения клинических признаков, имеющих прогностическое значение для течения заболевания в будущем, было выполнено сравнение частоты глазных проявлений ВА в разных возрастных группах. У пациентов старшего возраста (II группа) по сравнению с педиатрическими данными (I группа) наблюдалось статистически значимое увеличение частоты тяжелых стадий АК ($p=0,008$), катаракты ($p=0,000$), птоза ($p=0,032$), подвывиха хрусталика ($p=0,046$) и слепоты ($p=0,026$). Частота глаукомы ($p=1,0$), нистагма ($p=1,0$), аномалий рефракции ($p=1,0$), косоглазия ($p=0,69$) и гипоплазии фовеа ($p=0,262$) не зависела от возраста.

Для определения степени тяжести глазного фенотипа впервые была разработана балльная система оценки клинических проявлений *PAX6*-ВА.

Фенотип каждого пациента был оценен с учетом выраженности анатомических изменений глаза (наличия нистагма, АК, катаракты, глаукомы, птоза, подвывиха хрусталика, гипоплазии фовеа и ДЗН, микрофтальма, микрокорнеа и др.), особенностей течения заболевания (прогрессирование АК, появление стафилом склеры и др.), сведений об осложнениях хирургических вмешательств (развитие отслойки сетчатки, аниридийного фиброзного синдрома, субатрофии глазного яблока и др.), а также степени нарушения зрения (оценка остроты зрения). По результатам анализа, на общую тяжесть глазного фенотипа оказывали влияние выраженность стадии АК ($r_s=0,836$, $p<0,05$), наличие глаукомы ($r_s=0,413$, $p<0,05$) и гипоплазии макулы ($r_s=0,478$, $p<0,05$).

Изучение морфометрических особенностей переднего отрезка глаза показало отставание темпов роста хрусталика (0,008 мм/год) по сравнению с группой контроля (0,019 мм/год) и достоверное уменьшение его толщины у пациентов старше 30 лет в сравнении с возрастной нормой ($p<0,05$). Аномалии развития переднего отрезка глаза дополнялись уменьшением глубины передней камеры глаза и дисгенезом структур УПК, наблюдаемым у 92% пациентов и отрицательно коррелирующим со степенью сохранности радужной ткани ($r_s=0,311$, $p=0,01$).

Результаты клинико-морфологического исследования роговицы на разных стадиях АК

С целью понимания морфологических изменений, происходящих на разных стадиях АК, и последующего обоснования особенностей послеоперационного течения кератопатии у пациентов с РАХ6-ВА, была выполнена ЛСКМ и ОКТ центральной и периферической зон роговицы. Роговичный статус оценивался по характеру эпителиальных изменений (преобладанию эпителия роговичного, конъюнктивального или смешанного типов), наличию патологической неоваскуляризации, появлению зрелых дендритных, бокаловидных и/или воспалительных клеток в центральных и парацентральных отделах роговицы.

Результаты ЛСКМ пациентов с 0 стадией АК показали обнаружение ЛПФ хотя бы в одной из зон сканирования, сохранение роговичного

эпителиального фенотипа с максимальным приближением результатов ЛСКМ к морфологическим характеристикам здоровой роговицы. Центральная зона роговицы в I стадии АК была представлена роговичным и смешанным типами эпителизации, II стадия ассоциировалась преимущественно со смешанным фенотипом, в III и IV стадиях доминировал эпителий конъюнктивального типа с фиброваскулярными изменениями. С нарастанием тяжести АК наблюдалась постепенная фенотипическая трансформация нормальной эпителиальной системы в патологическую, включая изменение типа эпителизации роговицы, увеличение инвазии воспалительных клеток ($p=0,03$, χ^2) и патологической неоваскуляризации ($p=0,006$, χ^2). Разница в количестве бокаловидных клеток на разных стадиях АК была статистически незначимой ($p=0,1$, χ^2). Начиная с I стадии АК было отмечено значительное увеличение зрелых дендритных клеток в центральной зоне роговицы с последующим снижением их количества по мере прогрессирования АК ($p=0,005$, χ^2).

Оценка согласованности результатов диагностики ЛПФ, выполненной методом ЛСКМ и ОКТ, выявила наличие сильной положительной связи при визуализации прогениторных структур в верхней ($r_s=0,81$, $p<0,05$) и нижней ($r_s=0,88$, $p<0,05$) гемисферах лимба. Статистически определялась отрицательная связь между стадией АК и сохранностью ЛПФ ($r_s=-0,63$, $p<0,05$).

В ходе выполненного анализа плотности эпителиальных клеток у пациентов с РАХ6-ВА была выявлена разница плотности базальных и крыловидных эпителиальных клеток в глазах с I и II стадиями АК в сравнении с плотностью клеток в норме (измеренной в группе контроля) и при 0 стадии АК ($p<0,05$). Разница в плотности эндотелиальных клеток во всех исследуемых группах была статистически незначимой ($p>0,05$) (Таблица 1).

Сравнение ЦТР во всех стадиях АК с контрольной выборкой показало достоверную разницу между группами ($p<0,005$) (Таблица 2). По мере прогрессирования АК наблюдалось статистически незначимое увеличение общей толщины роговицы и уменьшение высоты ее эпителиального слоя. Корреляционный анализ не выявил связи между ЦТР и стадией АК ($r_s=0,29$, $p>0,05$).

Таблица 1 – Средние значения плотности клеток центральной зоны роговицы по данным ЛСКМ

Клетки центральной зоны роговицы	Плотность клеток, кл/мм ²			
	Группа контроля	Аниридийная кератопатия		
		0 стадия	I стадия	II стадия
Базальные эпителиальные	9373±505	9353±871	8826±657*	8266±676*
Крыловидные эпителиальные	6374±291	6355±237	5943±517*	5842±437*
Эндотелиальные	3380±581	3081±188	3315±486	3464±491

Таблица 2 – Средние значения ЦТР и ее эпителия по данным ОКТ

Стадия АК	Центральная толщина роговицы, мкм	Центральная толщина эпителия, мкм	Группа контроля, мкм
0	589±25*	51±2,1*	552±17*; эпителий 54,6±2,7*
I	600±45*	52±6,2	
II	606±71*	46±9,5	
III–IV	662±90*	43±3,5*	

* Достоверная разница с группой контроля.

С целью определения прогностического влияния лимбальных прогениторных структур на прогрессирование АК после хирургических вмешательств был выполнен сравнительный анализ результатов экстракции катаракты у пациентов с 0 и I–II стадиями АК. В I группу вошли 9 пациентов с 0 стадией АК в сочетании с присутствием ЛПФ и роговичным фенотипом эпителиальной поверхности по данным ЛСКМ. II группу составили 9 пациентов с I–II стадиями АК без признаков сохранных ЛПФ. Исследуемые группы были сопоставимы по возрасту ($p=0,86$). В каждой группе были выполнены факэмульсификация катаракты (ФЭК) с имплантацией интраокулярной линзы (ИОЛ) (5 глаз), ФЭК с установкой иридохрусталиковой диафрагмы (3 глаза), экстракапсулярная экстракция катаракты без имплантации ИОЛ (1 глаз). Послеоперационный период наблюдения составил $4,8\pm 2,6$ и $4,4\pm 2,5$ лет в I и II группе соответственно.

Анализ послеоперационных данных показал отсутствие прогрессирования АК у всех пациентов I группы вне зависимости от метода хирургии катаракты. У 5 из 9 пациентов II группы (55,6%) наблюдалось утяжеление АК на одну стадию от исходной в среднем через $2,15\pm 1,8$ года.

Таким образом, изучение морфологических изменений роговицы *in vivo* позволило выделить две группы пациентов с различным течением патологических процессов. В первую группу вошли пациенты с 0 стадией АК, роговичным фенотипом эпителиального слоя, сохранными и/или частично деформированными лимбальными прогениторными структурами и увеличенной по сравнению с возрастной нормой ЦТР. Плотность фенотипических подтипов эпителиальных и эндотелиальных клеток, иммунологический статус в этой категории пациентов не отличались от нормативных показателей. Хирургические манипуляции в лимбальной области не приводили к прогрессированию признаков АК на протяжении длительного периода послеоперационного наблюдения.

Во вторую группу вошли пациенты с I–IV стадиями АК. Ни у одного из обследованных субъектов не были выявлены сохранные ЛПФ, лишь в трех случаях были обнаружены усеченные, значительно деформированные палисадоподобные структуры (10,3%). Оценка лимбальной зоны в детском возрасте также не привела к обнаружению ЛПФ. Фенотипические изменения эпителия по данным ЛСКМ всегда предшествовали определяемым при биомикроскопии признакам конъюнктивизации роговицы. Прогрессирование АК сопровождалось увеличением количества воспалительных клеток ($p=0,03$), нарастанием патологической васкуляризации ($p=0,006$), деградацией лимбальных прогениторных структур ($r_s=-0,63$, $p<0,05$), уменьшением количества антиген-презентирующих дендритных клеток ($p=0,005$) и снижением плотности клеток эпителия ($p<0,05$). Прогрессирование АК в послеоперационном периоде было отмечено в более чем половине случаев.

Гено-фенотипические взаимосвязи между типом мутаций и клиническими проявлениями *PAX6*-ВА

В следующей части исследований была выполнена оценка спектра мутационных изменений в гене *PAX6* и регионе 11p13 у пациентов с *PAX6*-ВА. Внутригенные мутации гена *PAX6* были верифицированы у 48 пробандов (69,6%), MLPA выявила крупные делеции в 21 семье (30,4%).

В результате секвенирования по Сэнгеру были выявлены 43 разные точковые мутации, в том числе 23 новых (53,5%) и 20 ранее описанных генетических вариантов. Обнаруженные малые мутации в 58% случаев были локализованы с 5-го по 9-й экзоны. Спектр малых мутаций в *PAX6* и их распределение по типу, пробандам и пациентам представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Количество пробандов и пациентов с разными типами внутригенных мутаций

Вид мутации	Мутации n=43	Пробанды n=48	Пациенты n=72
Миссенс-мутации	3	3	4
Нонсенс-мутации	12	16	24
Мутации сдвига открытой рамки считывания	15	15	21
Мутации сайта сплайсинга	6	6	9
Интронные варианты	4	5	11
Мутации в 5'-НТО*	1	1	1
Изменение сайта инициации трансляции	1	1	1
СТЕ мутации	1	1	1

* 5'-НТО – 5'-нетраслируемая область.

** СТЕ – мутации, удлиняющие открытую рамку считывания за естественный стоп-кодон.

Однонуклеотидные замены были представлены часто встречающимися в других популяциях и этнических группах мутациями: pArg203*, p.Arg240* и p.Trp156*. Кроме того, в двух неродственных семьях была обнаружена ранее зарегистрированная мутация, нарушающая донорный сайт сплайсинга с.141+4A>G.

В 21 семье (31 пациент) MLPA-анализ обнаружил протяжённые хромосомные делеции размером от 4 тыс. п. н. до 2,2 млн. п. н., захватывающие locus гена *PAX6* и/или локусы соседних генов. В трех семьях была обнаружена хромосомная перестройка с захватом областей генов *PAX6* и *WT1*. В 7 неродственных семьях (13 человек) была обнаружена делеция удаленной 3'-цис-регуляторной области *PAX6*, расположенная на уровне гена *ELP4*. Согласно положению проб длина удаленного участка в случае данной делеции могла варьировать от 350 до 1,5 млн п.н. Результаты кариотипирования выявили отсутствие других грубых хромосомных нарушений и синдромальной патологии.

Следующий этап исследований включал разработку метода выявления и оценки взаимосвязей между типами мутаций и клиническими проявлениями *РАХ6*-ВА на основе вероятностной модели с совместным использованием точного критерия Фишера и отношения правдоподобия. Значение оценки отношения правдоподобия вычислялось по формуле:

$$n \times n_{1,1} / n_1 \times n_2,$$

где исходными данными являлась выборка с размером n , в которой у n_1 пациентов была мутация заданного типа, а у n_2 пациентов были выявлены определенные клинические проявления ВА заданного типа. У $n_{1,1}$ пациентов имелось и то, и другое. Решение о наличии зависимости выносилось в том случае, если значение отношения правдоподобия превышало выбранный порог, который определялся так, чтобы обеспечить заданный уровень значимости, т. е. вероятность ошибки. Если оценка отношения правдоподобия не была равна единице, то имела место зависимость. Положительное отклонение от единицы увеличивало частоту заданного типа клинических проявлений ВА при заданном типе мутации, а отрицательное – свидетельствовало об её уменьшении.

Для вычисления вероятности ошибки дополнительно использовался метод, основанный на критерии Фишера. Критерий Фишера позволял точно вычислять вероятность полученного значения отношения правдоподобия при условии, что заданные типы мутации и клинические признаки ВА являются независимыми. Это значение вероятности принималось за уровень значимости. Уровень значимости более 0,05 указывал на отсутствие зависимости между клиническими проявлениями ВА и типами мутационных изменений.

С целью поиска возможных гено-фенотипических взаимосвязей между клинической картиной *РАХ6*-ВА и типом мутации были сформированы группы пациентов со схожими по молекулярным последствиям генотипами, которые были проанализированы с помощью вышеописанного метода.

Инактивирующие мутации ($n=32$, 46,4% 32/69). В эту категорию генетических изменений вошли нонсенс-мутации (16), мутации сдвига открытой рамки считывания (15) и мутация сайта инициации трансляции (1), приводящие к формированию преждевременного стоп-кодона, деградации матричной РНК по нонсенс-опосредованному механизму и потере функции

одного аллеля (Lof мутации). Аниридийный фенотип, сформированный в результате инактивирующих мутаций, характеризовался «классической» картиной клинических проявлений в виде полной аниридии ($p=0,034$), нистагма ($p=0,002$), кератопатии ($p=0,000$), катаракты ($p=0,000$), гипоплазии макулы ($p=0,005$) и гипоплазии фовеа 4-й степени ($p=0,003$). Связь между Lof мутациями и легкой степенью тяжести офтальмологических проявлений не была выявлена ни в одном случае ($p=0,023$).

Мутации, изменяющие сплайсинг ($n=12$, 17,4% 12/69). В эту категорию генетических изменений вошли 5 интронных вариантов, 6 мутаций сайтов сплайсинга кодирующих экзонов и одно изменение сайта сплайсинга некодирующего экзона 3 в 5'-НТО. Анализ гено-фенотипических корреляций в этой группе выявил статистически значимое фенотипическое присутствие частичной аниридии ($p=0,031$) и гипоплазии макулы ($p=0,025$). Кроме этого была отмечена значительная фенотипическая гетерогенность клинических проявлений, прежде всего на уровне внутрисемейной вариабельности признаков.

Крупные делеции *PAX6* ($n=14$, 20,3% 14/69). Фенотипическая картина крупных делеций *PAX6* складывалась из «классических» аниридийных проявлений, включая полную аниридию ($p=0,028$), нистагм ($p=0,037$), АК ($p=0,049$), гипоплазию макулы ($p=0,037$) и 4-ю степень фовеальной гипоплазии по данным ОКТ ($p=0,004$).

Делеции 3'-*цис*-регуляторного региона *PAX6* ($n=7$, 10,1% 7/69). Важной отличительной особенностью делеций 3'-*цис*-регуляторного региона *PAX6* стало отсутствие характерных для *PAX6*-ВА признаков, таких как нистагм ($p=0,000$), АК ($p=0,000$) и гипоплазия макулы ($p=0,000$). Гипоплазия фовеа достоверно чаще отсутствовала или была представлена 1-й и 2-й степенями недоразвития центральной ямки ($p=0,008$). Тяжесть фенотипа делеций 3'-*цис*-регуляторной области соответствовала легкой степени ($p=0,000$).

Следующим этапом был выполнен сравнительный анализ клинических проявлений Lof мутаций с крупными делециями *PAX6* в сопоставимых по возрасту группах ($p=0,65$), который подтвердил отсутствие различий между этими категориями пациентов, фенотипически характеризующимися одинаковой картиной «классической» *PAX6*-ВА (Таблица 4).

Таблица 4 – Сравнительный анализ фенотипа крупных делеций *PAX6* и Lof мутаций

Клинические признаки	Делеции <i>PAX6</i>	Lof мутации	p
Острота зрения	0,076±0,06	0,081±0,06	0,95*
АК, % встречаемости	100	100	1,0**
Полная аниридия, % встречаемости	100	90,6	0,54**
Нистагм, % встречаемости	100	93,7	1,0**
ЛПФ/палисадоподобные структуры, % встречаемости	7,1	3,1	0,52**
Катаракта, % встречаемости	85,7	84,4	1,0**
Подвывих хрусталика, % встречаемости	35,7	32,2	1,0**
Глаукома, % встречаемости	42,8	34,3	0,74**
Гипоплазия фовеа, 4-я степень, % встречаемости	100	95,6	1,0**

Сравнительный анализ клинических проявлений *PAX6*-ВА у пациентов с делециями 3'-*цис*-регуляторного региона гена *PAX6* и Lof мутациями в сопоставимых по возрасту группах ($p=0,97$) выявил значимые отличия между группами (Таблица 5).

Таблица 5 – Сравнительный анализ фенотипа делеций 3'-*цис*-регуляторного региона гена *PAX6* и Lof мутаций

Клинические признаки	3' делеции <i>PAX6</i>	Lof мутации	p
Острота зрения	0,45±0,23	0,081±0,06	0,0004*
АК, стадии	0	I–IV	0,0000**
Полная аниридия, % встречаемости	71,4	90,6	0,21**
Нистагм, % встречаемости	0	93,7	0,0000**
ЛПФ/палисадоподобные структуры, % встречаемости	100	3,1	0,0000**
Катаракта, % встречаемости	85,7	84,4	1,0**
Подвывих хрусталика, % встречаемости	42,8	32,2	0,67**
Глаукома, % встречаемости	14,3	34,3	0,40**
Гипоплазия фовеа, степень	0–2-я	3–4-я	0,0000**

* По Манну – Уитни.

** Двухсторонний точный критерий Фишера.

Таким образом, анализ гено-фенотипических взаимосвязей позволил нам выявить сходства и различия аниридийных фенотипов с потенциально отличающимися механизмами. Механизм гаплонедостаточности, лежащий в основе инактивирующих мутаций и делеций гена *PAX6* (без учета делеций 3'-*цис*-регуляторного региона *PAX6*), приводил к формированию классического фенотипа *PAX6*-ВА с одинаковой частотой клинических проявлений в обеих группах ($p > 0,05$). Полная аниридия, нистагм, АК, катаракта, гипоплазии макулы, *fovea plana*, небольшая доля глаз с сохранными прогениторными структурами лимба, низкая острота зрения во многом определяли плохой зрительный прогноз и тяжесть течения заболевания.

От клинической картины пациентов с мутациями в кодирующей области гена *PAX6* значительно отличались фенотипические проявления делеций 3'-*цис*-регуляторного региона *PAX6*. Результаты оценки значений по критерию Фишера и отношения правдоподобия подтвердили наличие взаимосвязей между данным типом мутаций и отсутствием нистагма ($p = 0,000$), гипоплазии фовеа ($p = 0,000$) и АК ($p = 0,000$). Полученные ОКТ-изображения ретинального интерфейса впервые позволили оценить структурную сохранность фовеальной области и степень ее гипоплазии, данные ЛСКМ подтвердили наличие ЛПФ ($p = 0,000$) и явились в целом предикторами благоприятного зрительного прогноза и хорошей переносимости оперативных вмешательств у данной категории пациентов.

Фенотипическая изменчивость и вариабельность клинической картины *PAX6*-ВА в большей мере были характерны для мутаций, изменяющих сплайсинг. Аниридийные проявления, ассоциированные с этим типом мутаций, отличались большей сохранностью радужной ткани в виде корэктопии, колобомоподобных и эллиптических дефектов радужной оболочки ($p = 0,031$), наличием гипоплазии макулы ($p = 0,025$), но в то же время сопровождалась не только тяжелыми степенями гипоплазии фовеа, определяемыми по ОКТ. Ни в одном случае не было выявлено взаимосвязей между типами мутаций в *PAX6* и видами клинической рефракции, птозом, развитием глаукомы. В целом, не было выявлено значимых взаимосвязей между степенью тяжести окулярного фенотипа и типом мутационных изменений, за исключением делеций 3'-*цис*-регуляторного региона гена *PAX6*, которые характеризовались легким течением глазных проявлений.

Разработка клинико-диагностического алгоритма исследований для прогнозирования течения *PAX6*-ВА

На основе комплексной оценки офтальмологических проявлений *PAX6*-ВА, с учетом прогрессирующего характера глазных изменений, результатов клинико-морфологических исследований роговицы с выявлением сохранных ЛПФ и признаков НЛСК, анализа гено-фенотипических зависимостей между типом мутационных изменений и поражением структур глаза был разработан клинико-диагностический алгоритм прогнозирования течения *PAX6*-ВА (Рисунок 1).

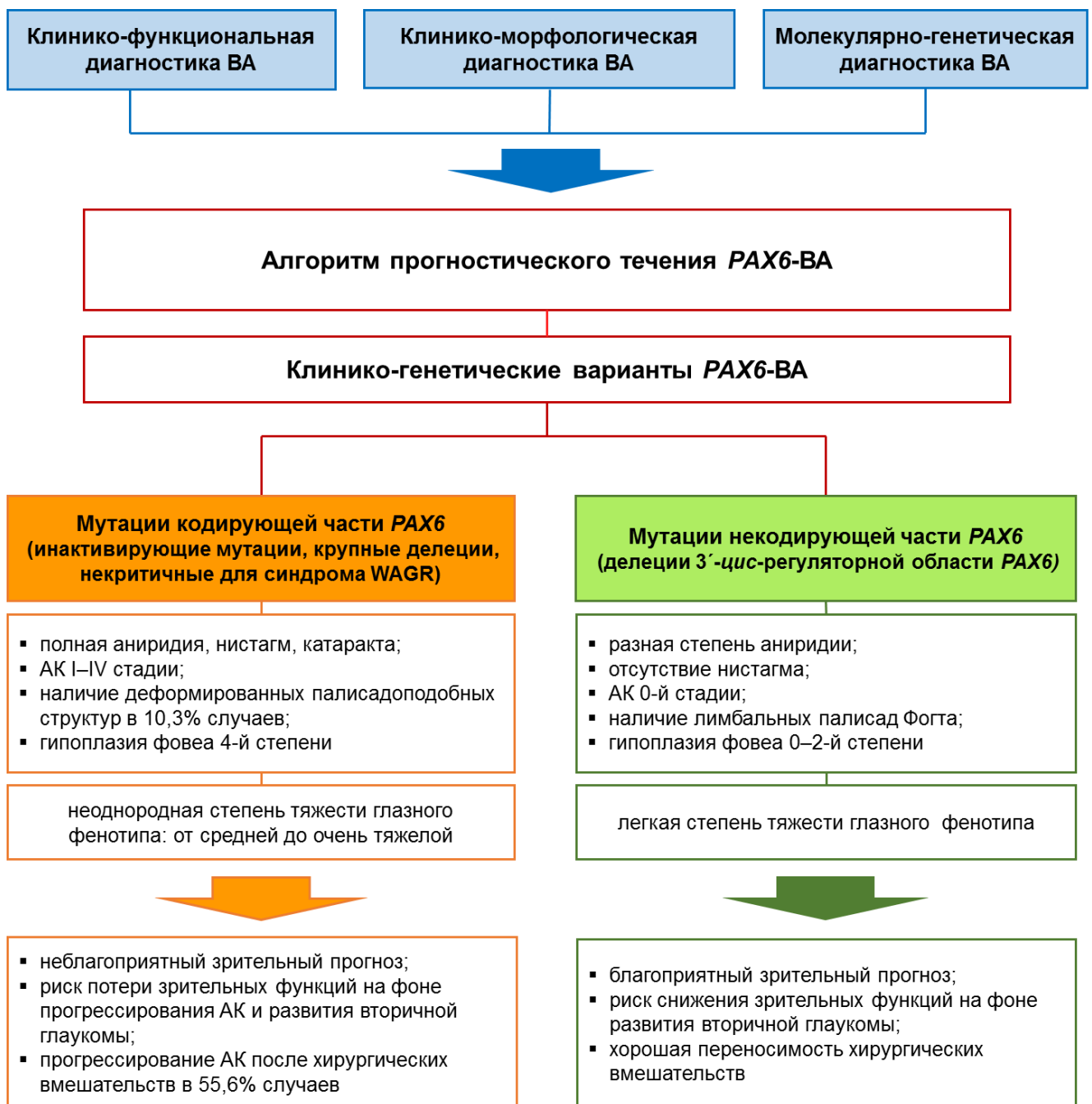


Рисунок 1 – Клинико-диагностический алгоритм исследований для прогнозирования течения *PAX6*-ВА

Данный алгоритм позволяет выделить два клинико-генетических варианта *РАХ6*-ВА, связанных с мутациями кодирующей части гена *РАХ6* (инактивирующие мутации и крупные делеции региона 11p13) и делециями удаленной 3'-*цис*-регуляторной области гена *РАХ6*, ассоциированных с неблагоприятным и благоприятным течением ВА соответственно.

ВЫВОДЫ

1. На основании ретроспективного анализа офтальмологической картины клинических проявлений *РАХ6*-ВА у пациентов старшей возрастной группы в сравнении с группой детей и подростков до 18 лет было показано увеличение случаев слепоты (37,5/13%, $p=0,026$), катаракты (90,6/63%, $p=0,000$), подвывиха хрусталика (28/13%, $p=0,046$), птоза (29,7/13%, $p=0,032$) и тяжелых стадий АК (III–IV) ($p<0,008$). Частота глаукомы (31,3/32,6%), нистагма (86/84,8%), аномалий рефракции (95,7/96,9%), косоглазия (46,9/52,2%) и гипоплазии фовеа (80,7/90%) была сопоставима между группами ($p>0,05$).

2. Анализ данных ЛСКМ выявил постепенную фенотипическую трансформацию нормальной эпителиальной системы роговицы в патологическую, начиная с I стадии АК с последующим прогрессированием и изменением типа эпителизации роговицы, увеличением инвазии воспалительных клеток ($p=0,03$), патологической васкуляризацией ($p=0,006$), уменьшением плотности эпителиальных клеток ($p<0,05$) и деградацией ЛПФ ($r_s=-0,63$, $p<0,05$); 0 стадия АК характеризовалась сохранением герминативных структур лимба и была сопоставима по качественным и количественным характеристикам эпителия со здоровыми субъектами. Была выявлена корреляционная связь между методами ЛСКМ и ОКТ при визуализации ЛПФ верхней ($r_s=0,81$, $p<0,05$) нижней ($r_s=0,88$, $p<0,05$) гемисфер роговицы.

3. Анализ данных молекулярно-генетической диагностики выявил внутригенные варианты нуклеотидной последовательности в гене *РАХ6* у 69,6% изученных пробандов, из них миссенс-мутации были обнаружены в 6,25%; мутации, ведущие к потере функции белка, – в 66,7%; мутации, нарушающие нормальный сплайсинг, – в 25%; мутации, приводящие к удлинению белка, – в 2,1% случаев; крупные делеции региона 11p13 были верифицированы у 30,4% пробандов, в том числе делеции удаленной 3'-*цис*-регуляторной области гена

РАХ6 были обнаружены в 10,1% случаев. Разработанный метод оценки гено-фенотипических зависимостей на основе вероятностной модели с совместным использованием точного критерия Фишера и отношения правдоподобия позволил выявить влияние заданного типа мутационных изменений на заданный тип клинических проявлений *РАХ6*-ВА.

4. Анализ морфометрических характеристик переднего отрезка глаза у пациентов с *РАХ6*-ВА выявил более низкие темпы роста хрусталика, уменьшение его толщины у пациентов старше 30 лет по сравнению с группой здоровых субъектов ($p < 0,05$) и уменьшение глубины передней камеры глаза во всех возрастных группах, за исключением детей первых 4 месяцев жизни ($p < 0,05$).

5. Анализ клинических проявлений *РАХ6*-ВА у пациентов с инактивирующими мутациями и делециями региона 11p13, захватывающими ген *РАХ6*, выявил сопоставимые между ними значения остроты зрения ($p = 0,95$), отсутствие значимых различий в частоте развития нистагма ($p = 1,0$), аниридийной кератопатии ($p = 1,0$), катаракты ($p = 1,0$), подвывиха хрусталика ($p = 1,0$), глаукомы ($p = 0,74$), гипоплазии фовеа ($p = 1,0$), обнаружения полной аниридии ($p = 0,54$) и прогениторных лимбальных структур ($p = 0,52$). В отличие от них клинические признаки пациентов с делециями 3'-*цис*-регуляторной области *РАХ6* характеризовались высокой остротой зрения ($p = 0,000$), отсутствием нистагма ($p = 0,000$), аниридийной кератопатии ($p = 0,000$), наличием герминативных структур лимба ($p = 0,000$), структурной сохранностью фовеальной области ($p = 0,000$), которые определяли легкую степень тяжести глазного фенотипа.

6. Разработанный клиничко-диагностический алгоритм обследования пациентов с *РАХ6*-ВА, основанный на анализе функциональных и структурных нарушений органа зрения, проявляющихся увеличением с возрастом количества случаев слепоты, катаракты, подвывиха хрусталика, тяжелых стадий АК и птоза, морфологических изменений в виде нарастания признаков НЛСК с утяжелением стадии АК и данных ДНК-диагностики с выявлением мутаций, затрагивающих кодирующие и удаленные 3'-*цис*-регуляторные области *РАХ6*, позволил выделить два клиничко-генетических варианта *РАХ6*-ВА, помогающих прогнозировать дальнейшее течение заболевания и индивидуализировать подходы к ведению пациентов с данной офтальмопатологией.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью повышения эффективности диагностических мероприятий по выявлению и оценке клинических проявлений *РАХ6*-ВА, а также прогнозирования течения заболевания, следует использовать разработанный алгоритм ведения пациентов с данной офтальмопатологией.

2. Высокая согласованность результатов визуализации ЛПФ методом спектральной ОКТ в описанном режиме с данными ЛСКМ, в сочетании с неинвазивным характером обследования, возможностью получения в одной снимке изображения всей гемисферы роговицы, его быстротой и высокой информативностью позволяет рекомендовать использование ОКТ в педиатрической практике, в диагностике пациентов с патологией роговицы на фоне НЛСК, для которых приоритетным является бесконтактность диагностических процедур (АК, последствия химического ожога, синдром Стивена – Джонсена, глазной рубцовый пемфигоид и пр.), а также с целью обнаружения и прецизионного забора стволовых клеток в кадаверных глазах для их культивирования и лимбальной трансплантации.

3. Для оптимизации техники хирургии катаракты, минимизации интраоперационных рисков и послеоперационных осложнений следует учитывать морфометрические особенности переднего отрезка глаза, связанные с увеличением толщины роговицы, уменьшением биометрических параметров хрусталика и передней камеры, а также наличием аномалий формы и положения хрусталика.

4. Разработанная балльная система оценки глазных проявлений *РАХ6*-ВА позволяет рассматривать совокупность индивидуальных характеристик с учетом выраженности функциональных и структурных изменений глаза, для определения степени тяжести глазного фенотипа.

5. В зависимости от молекулярных механизмов повреждения гена *РАХ6*, результатов биомикроскопии роговицы, ОКТ и ЛСКМ зоны лимба рекомендован дифференцированный подход к хирургическому лечению пациентов с *РАХ6*-ВА. В случае обнаружения делеций, захватывающих удаленную 3'-*цис*-регуляторную область гена *РАХ6*, биомикроскопического подтверждения 0 стадии АК, наличия прогениторных лимбальных структур по данным ЛСКМ и ОКТ проведение хирургических вмешательств в

лимбальной зоне (формирование поверхностного и глубокого склеральных лоскутов, выполнение роговичных парацентезов и тоннелей) связано с минимальным риском декомпенсации роговицы и потери ее прозрачности. При обнаружении мутаций, ведущих к потере функции белка, биомикроскопической картины АК, альтерации лимбальных прогениторных структур по данным ЛСКМ и ОКТ проведение хирургических вмешательств сопряжено с высоким риском прогрессирования НЛСК, приводящей к потере прозрачности роговицы и значительному снижению зрительных функций.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛАХ ВАК

1. Воскресенская, А. А. Клинические аспекты врожденной аниридии в России / А. А. Воскресенская, Н. А. Поздеева, О. В. Хлебникова и др. // **Практическая медицина.** – 2015. – Т. 1, № 2. – С. 7–15.
2. Поздеева, Н. А. Медицинская реабилитация пациентов с врожденной аниридией / Н. А. Поздеева, Н. П. Паштаев, А. А. Воскресенская, И. А. Фролычев // **Практическая медицина.** – 2015. – Т. 1, № 2. – С. 21–25.
3. Васильева, Т. А. Генетические аспекты врожденной аниридии / Т. А. Васильева, Н. А. Поздеева, А. А. Воскресенская и др. // **Практическая медицина.** – 2015. – Т. 1, № 2. – С. 26–33.
4. Хлебникова, О. В. Клинико-генетическая характеристика врожденной изолированной аниридии в России / О. В. Хлебникова, Т. А. Васильева, Н. А. Поздеева, А. А. Воскресенская и др. // **Медицинская генетика.** – 2015. – № 4. – С. 178.
5. Васильева, Т. А. Изучение генетических основ и разработка протоколов для диагностики наследственных заболеваний органа зрения на примере врожденной аниридии / Т. А. Васильева, О. В. Хлебникова, А. В. Марахонов и др. // **Медицинская генетика.** – 2016. – № 6. – С. 37–43.
6. Воскресенская, А. А. Клинические особенности врожденной аниридии в детском возрасте / А. А. Воскресенская, Н. А. Поздеева, Т. А. Васильева и др. // **Российская педиатрическая офтальмология.** – 2016. – № 3. – С. 121–129.
7. Паштаев, Н. П. Сравнительный анализ информативности исследования палисад Фогта методами оптической когерентной томографии и лазерной сканирующей конфокальной микроскопии в норме / Н. П. Паштаев, Н. А. Поздеева, А. А. Воскресенская и др. // **Вестник офтальмологии.** – 2017. – № 1. – С. 60–69.
8. Vasilyeva, T. A. A molecular analysis of patients with aniridia in Russian Federation broadens the spectrum of PAX6 mutations / T. A. Vasilyeva, A. A. Voskresenskaya, B. Käsman-Kellner et al. // **Clin. Genet.** – 2017. – Vol. 92, № 6. – P. 639–644.
9. Voskresenskaya, A. Clinical and morphological manifestations of aniridia-associated keratopathy on anterior segment optical coherence tomography and

- in vivo confocal microscopy / A. Voskresenskaya, N. Pozdeyeva, T. Vasilyeva et al. // **Ocul. Surf.** – 2017. – Vol. 15, № 4. – P. 759–769.
10. Воскресенская, А. А. Аниридная кератопатия / А. А. Воскресенская, Н. А. Поздеева, Т. А. Васильева, Р. А. Зинченко // **Практическая медицина.** – 2017. – № 9. – С. 139–143.
 11. Васильева, Т. А. Дифференциальная диагностика наследственных форм врожденной аниридии с позиций современной генетики / Т. А. Васильева, А. А. Воскресенская, О. В. Хлебникова и др. // **Вестник Российской академии медицинских наук.** – 2017. – Т. 72, № 4. – С. 233–241.
 12. Воскресенская, А. А. Диагностические возможности оптической когерентной томографии и лазерной сканирующей конфокальной микроскопии в изучении проявлений аниридной кератопатии / А. А. Воскресенская, Н. А. Поздеева, Т. А. Васильева и др. // **Вестник офтальмологии.** – 2017. – Т. 133, № 6. – С. 30–44.
 13. Марахонов, А. В. Опыт применения медицинской технологии диагностики врожденной аниридии в ФГБНУ «МГНЦ» / А. В. Марахонов, Т. А. Васильева, А. А. Воскресенская и соавт. // **Медицинская генетика.** – 2017. – Т. 16, № 11. – С. 23–26.
 14. Васильева, Т. А. Клинико-молекулярно-генетические особенности врожденной аниридии / Т. А. Васильева, А. А. Воскресенская, В. В. Кадышев и др. // **Клиническая офтальмология.** – 2018. – № 1. – С. 7–12.
 15. Ломакина, Л. С. Модель и алгоритм выявления межатрибутивных зависимостей на основе априорных статистических данных в офтальмологии / Л. С. Ломакина, Н. А. Поздеева, Д. В. Ломакин и др. // **Научно-технический вестник Поволжья.** – 2018. – № 10. – С. 185–188.
 16. Васильева, Т. А. Характеристика гена *Raxb* и роль его мутаций в развитии наследственной патологии органа зрения / Т. А. Васильева, А. А. Воскресенская, Н. А. Поздеева и др. // **Генетика.** – 2018. – № 9. – С. 979–987.

Патенты РФ на изобретения по теме диссертации

1. Поздеева Н. А., Воскресенская А. А., Гаглоев Б. В., Шипунов А. А. Способ прогнозирования безопасности хирургического лечения у пациентов с кератопатией на фоне врожденной аниридии. Патент РФ на изобретение № 2654756. Оpubл. 24.05.2018; Бюл. № 15.
2. Канев О. К., Воскресенская А. А., Поздеева Н. А., Ломакин Д. В., Ломакина Л. С. Выявление межатрибутивной взаимосвязи между типами мутации гена *РАХб* и клиническими проявлениями врожденной аниридии в офтальмологии. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019612211 от 13.02.2019.

Учебное пособие

- Паштаев, Н. П. Медицинское сопровождение пациентов с аниридной кератопатией / Н. П. Паштаев, Н. А. Поздеева, А. А. Воскресенская; Чебоксарский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. – Чебоксары, 2015. – 20 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК – аниридийная кератопатия
ВА – врожденная аниридия
ВПР – врожденный порок развития
ДЗН – диск зрительного нерва
ИОЛ – интраокулярная линза
ЛПФ – лимбальные палисады Фогта
ЛСКМ – лазерная сканирующая конфокальная микроскопия
НЛСК – недостаточность лимбальных стволовых клеток
5'-НТО – 5'-нетранслируемая область
ОКТ – оптическая когерентная томография
ФЭК – факэмульсификация катаракты
ЦТР – центральная толщина роговицы
СТЕ (C-terminal extension mutation) – мутации, удлиняющие открытую рамку считывания за естественный стоп-кодон
Lof (loss-of-function) – мутации с потерей функции одного аллеля
MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) – мультиплексная реакция лигазозависимой амплификации зондов
OMIM (online mendelian inheritance in man) – база данных менделирующих заболеваний человека
РАХ6 (РАired-boX 6) – ген-мастер регуляции эмбрионального развития глаза, член семейства генов парного бокса
РАХ6-ВА – РАХ6-ассоциированная врожденная аниридия

Биографические данные

Воскресенская Анна Александровна, 1981 года рождения, в 2005 г. с отличием окончила Казанский государственный медицинский университет по специальности «Лечебное дело». В период с 2005 по 2007 г. проходила обучение в ординатуре по специальности «Офтальмология» на базе Чебоксарского филиала «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова». С 2007 по 2013 г. работала врачом-офтальмологом витреоретинального отделения, с 2013 г. по настоящее время – врачом отделения амбулаторной хирургии и консервативных методов лечения Чебоксарского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Автор более 30 научных работ, 18 из которых опубликованы в журналах, рецензируемых ВАК РФ, имеет 4 публикации в зарубежных изданиях, 2 практических руководства; 2 патента Российской Федерации на изобретение и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.