

МикроРНК в офтальмологии



А.Ф. Бровкина



Г.А. Яровая



Н.Д. Цыбикова

ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
ул. Баррикадная, 2/1, Москва, 123995, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2021;18(2):188–197

В статье представлены краткие сведения по истории изучения микроРНК. В настоящее время их роль в патологии человека расценивают как ключевые регуляторы экспрессии генов и кодируемых ими белков: молекулы микроРНК выполняют важные физиологические функции в клетках и тканях различных органов. Конкретные механизмы их участия в патологическом процессе пока малоизвестны. Первыми были исследованы микроРНК у больных спинальной мышечной атрофией и лейкозами. Публикации, посвященные изучению микроРНК и их роли в жизнедеятельности глаза, появились в 2002 г. Первоначально были изучены микроРНК в тканях глаз животных (мыши и зебры), позднее в эксперименте была исследована роль микроРНК ретинального пигментного эпителия при воспалительных изменениях. Проанализированы первые сведения о поисках и выделении микроРНК, их количественной характеристике у больных первичной открытоугольной глаукомой, возрастной макулодистрофией, аутоиммунным увеитом. Были получены обнадеживающие результаты и отмечена перспективность таких исследований в раскрытии патогенеза и возможности таргетного лечения. Высказаны предварительные суждения о роли микроРНК в формировании различных клинических форм офтальмопатии Грейвса (эндокринной офтальмопатии), что также вселяет надежду на появление целевой терапии этого заболевания. Большое количество публикаций выполнено по теме значимости микроРНК в развитии первичных злокачественных внутриглазных опухолей (ретинобластома и увеальная меланома). Значительное внимание уделено ретинобластоме: представлены результаты изучения различных микроРНК в качестве биомаркеров этой опухоли для ранней диагностики с конечным выходом на таргетную терапию как при локальном поражении, так и при метастазировании. Большинство исследований ограничивается изучением микроРНК в тканях опухоли. В течение последних 5 лет выполнен ряд исследований, позволяющих выделить спектр циркулирующих микроРНК, имеющих потенциальную диагностическую ценность для раннего выявления метастазов увеальной меланомы. Количество наблюдений или экспериментов в анализируемых работах невелико, исследования носят поисковый характер, и публикации практически все заканчиваются фразой: «Требуются дальнейшие исследования».

Ключевые слова: микроРНК, глаз, биомаркеры, опухоли

Для цитирования: Бровкина А.Ф., Яровая Г.А., Цыбикова Н.Д. МикроРНК в офтальмологии. *Офтальмология*. 2021;18(2):188–197. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2021-2-188-197>

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах

Конфликт интересов отсутствует



MicroRNA in Ophthalmology

A.F. Brovkina, G.A. Yarovaya, N.D. Tsybikova

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education
Barrikadnaya str., 2/1, Moscow, 125993, Russian Federation

ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2021;18(2):188–197

The article provides brief information on the history of microRNA studies. Today, their role in human pathology is regarded as key regulators of the expression of genes and the proteins encoded by them: miRNA molecules perform important physiological functions in cells and tissues of various organs. The specific mechanisms of their participation in the pathological process are insufficiently known. MicroRNAs were the first to be studied in patients with spinal muscular atrophy and leukemia. Publications devoted to the study of miRNAs and their role in the life of the eye appeared in 2002. Initially, miRNAs were studied in the tissues of the animals' eyes (mice and zebras), and later the role of miRNAs of retinal pigment epithelium in inflammatory changes was studied in the experiment. The first information on the searches and isolation of microRNAs, their quantitative characterization in patients with primary open-angle glaucoma, age-related macular degeneration, autoimmune uveitis was analyzed. Encouraging results were obtained and the prospects of such studies in revealing the pathogenesis and the possibility of targeted treatment. Preliminary judgments were made about the role of miRNAs in the formation of various clinical forms of Graves' ophthalmopathy (endocrine ophthalmopathy), which also gives hope for the emergence of targeted therapy for this disease. More publications have been devoted to the importance of miRNAs in the development of primary malignant intraocular tumors (retinoblastoma and uveal melanoma). Considerable attention is paid to retinoblastoma: the results of a study of various miRNAs as biomarkers of this tumor for early diagnosis with final access to targeted therapy, both in case of local lesion and in conditions of its metastasis, are presented. Most studies are limited to the study of miRNAs in tumor tissues. Over the past 5 years, a number of studies have been performed to highlight the spectrum of circulating miRNAs that have potential diagnostic value for early detection of metastases of uveal melanoma. The number of observations or experiments in the analyzed works is small, the studies are exploratory in nature and the publications all end almost with the phrase: "Further research is required".

Keywords: microRNA, eye, biomarkers, tumors

For citation: Brovkina A.F., Yarovaya G.A., Tsybikova N.D. MicroRNA in Ophthalmology. *Ophthalmology in Russia*. 2021;18(2):188–197. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2021-2-188-197>

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned

There is no conflict of interests

МикроРНК (miRNA) — многочисленный класс малых одноцепочечных молекул РНК длиной от 18 до 25 нуклеотидов, первые сведения о которых появились в 1993 году [1, 2]. Известно, что эти молекулы лишены функций, кодирующих белки, но они выступают как регуляторы их экспрессии на посттранскрипционном трансляционном уровне. В большинстве случаев miRNA регулируют экспрессию генов, связываясь с комплементарными участками матричной РНК (мРНК), в результате этого блокируется трансляция с мРНК или разрушается матричная РНК под действием экзонуклеаз. В любом случае подавляется синтез белка [3].

Гены, кодирующие miRNA, локализованы в ядерной ДНК и располагаются в интронах и экзонах генов, а также между ними. Биогенез miRNA начинается с формирования транскрипта, состоящего из нескольких сотен нуклеотидов, и осуществляется с участием РНК-полимеразы II. Этот транскрипт подвергается дальнейшему превращению (процессингу), при котором фермент рибонуклеаза Droscha расщепляет транскрипт с образованием пре-miRNA, включающего 70 нуклеотидов, соединенных петлей с 3' и 5' концами. С помощью белка экспортина-5 пре-miRNA из ядра переносится в цитоплазму, где подвергается окончательному процессингу под действием рибонуклеазы III Dicer, которая вырезает петлю в пре-miRNA. Таким образом формируется зрелая двухцепочечная miRNA, каждая длиной

18–25 нуклеотидов. Обе цепи являются функциональными miRNA. Однако лишь одна из них является основной, а вторая — пассажирской, которая подвергается деградации под действием эндонуклеазы. Основная цепь miRNA образует с рибонуклеопротеином (PNA) комплекс, который называют RISC (RNA-induced silencing complex). В этом комплексе молекула miRNA связана с главным каталитическим белком комплекса Ago (Argonante), в результате этого miRNA становится устойчивой к действию эндонуклеаз и способна комплементарно взаимодействовать с мРНК [4–7].

В настоящее время в тканях человека обнаружено более 2500 микроРНК (онлайн-база miRBase) [8], регулирующих экспрессию более 60 % белок-кодирующих генов [9]. Одна молекула miRNA способна контролировать работу множества генов, а один определенный ген может регулироваться десятками различных miRNA [10]. miRNA, имеющие высокое сходство в последовательности и вторичной структуре, объединяются в семейства. Регистрацию miRNAs в настоящее время проводят в порядке их открытия путем присвоения порядкового номера. Зрелую miRNA обозначают «miR», а предшественник — «mir». Если из одного гена образуется несколько предшественников, то добавляется цифровой номер (например, mir-281-1, mir-281-2). Усложняется название при образовании различных микроРНК из одного предшественника (miR-17-5p и miR-17-3p) [11].

A.F. Brovkina, G.A. Yarovaya, N.D. Tsybikova

Contact information: Tsybikova Natalia D. natashatd@bk.ru

MicroRNA in Ophthalmology

В геноме человека закодировано несколько тысяч miRNA, которые являются эндогенными регуляторами работы множества генов и поэтому вовлечены в многочисленные процессы жизнедеятельности организма. Они играют важную роль в дифференцировке, пролиферации и апоптозе клеток, эмбриогенезе, ангиогенезе, иммунных реакциях как в норме, так и при патологических состояниях [12]. Нарушение miRNA регуляции приводит к широкому спектру заболеваний. Особый интерес представляет информация о роли miRNA в онкогенезе. Было показано, что miRNA могут действовать как онкогены или гены-супрессоры [13–15].

Известно, что профиль экспрессии miRNA различен в поврежденных и нормальных тканях. В основном miRNA локализованы внутри клетки, поэтому первоначальные исследования были посвящены экспрессии miRNA в тканях с целью определения их функциональной и диагностической роли. Однако значительная часть этих молекул присутствует вне клеток, они секретируются клетками в составе экзосом и внеклеточных везикул [16]. Секретируемые miRNA остаются стабильными в жидкостях организма [17], и поэтому циркулирующие miRNA являются предметом особых исследований.

Первые сведения о роли miRNA в патологии человека опубликованы в 2002 году и посвящены спинальной мышечной атрофии и лейкозам [18, 19]. В настоящем обзоре оценено значение некоторых miRNA в патологии глаза, а также представлены данные, касающиеся изучения miRNA в качестве мишени для терапии и новых биомаркеров для диагностики.

Роль miRNA в жизнедеятельности глаза в эксперименте была показана в начале 2000-х годов, когда появились публикации, подтверждающие наличие miRNA в глазах мыши и зебры [20, 21]. Было доказано присутствие нескольких miRNA в роговице, хрусталике и сетчатке [22].

С появлением возможности определения уровня экспрессии miRNA и выявления ее мишени начаты исследования miRNA в ретинальном пигментном эпителии в норме и после обработки его воспалительными цитокинами [23]. К настоящему времени работ по miRNA в офтальмологии еще недостаточно. Они посвящены изучению некоторых социально значимых заболеваний, таких как глаукома, и в первую очередь первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ), возрастная макулодистрофия, диабетическая ретинопатия, аутоиммунные заболевания (uveит, эндокринная офтальмопатия).

Глаукома — одна из распространенных глазных патологий, сопровождающихся утратой зрительных функций. Сколько существует понятий об этой патологии, столько же времени идут дискуссии по поводу ее патогенеза. Появились первые исследования о роли полиморфизмов генов, кодирующих miRNA, и о генах, связанных с биогенезом miRNA у больных ПОУГ [24]. Изучена роль 92 полиморфизмов в патогенезе псевдоэксфолиативного синдрома (203 чел.), псевдоэксфолиативной глаукомы

(38 чел.) и ПОУГ (40 чел.) в одной и той же популяции с вариантами генов, участвующих в биогенезе miRNA, и с полиморфизмами генов miRNA. Обнаружена протективная связь полиморфизма mir-3161 с псевдоэксфолиативным синдромом. Полиморфизм mir-3196 оказался связанным и с повышенным риском развития ПОУГ. Авторы расценивают свое сообщение как предварительное, так как требуются дальнейшие исследования в больших группах пациентов различных популяций с целью подтверждения данных, содержащихся в опубликованных предварительных результатах.

Изучение экспрессии miRNA в водянистой влаге у пациентов с ПОУГ и в контрольной группе соответствующего возраста показало достаточный уровень miRNA в водянистой влаге в качестве биомаркеров ПОУГ [25]. К настоящему времени идентифицированы три miRNA (miRNA-125b-5p, miRNA-302d-3p и miRNA-451a) в водянистой влаге в глазах с ПОУГ. Полагают, что эти miRNA могут играть роль в развитии ПОУГ и выступать в качестве биомаркеров для понимания патогенеза заболевания [26].

С целью изучения профилирования microRNA в глазах с ПОУГ, осложненной оптической нейропатией различной степени выраженности, изучены образцы водянистой влаги у 6 пациентов ПОУГ и у 6 — с катарактой (контрольная группа). Изучены уровни 466 зрелых miRNA (больные глаукомой) и 480 (пациенты с катарактой). Во всех образцах водянистой влаги в глазах с ПОУГ обнаружены 164 miRNA, в глазах с катарактой — 96 miRNA. Уровни экспрессии miRNA-184, miRNA-486-5p и miRNA-93-5p были подтверждены количественной ПЦР. Доказана экспрессия miRNA в водянистой влаге в глазах с ПОУГ, сопровождающейся различной степенью нарушения поля зрения. Полученные данные можно расценивать как выявление новых мишеней патогенеза и прогрессирования ПОУГ [27].

ВГД контролируется балансом между секрецией водянистой влаги цилиарным телом и ее дренажом через трабекулярную сеть. Обнаружена экспрессия miRNA-143 и miRNA-145 в гладких мышцах и трабекулярной сети глаза [28]. Авторы расценили miRNA-143/145 в качестве важного регулятора ВГД, что может иметь базовое значение для дальнейших исследований в области терапии ПОУГ. Никем не оспаривается роль трабекулярной сети в оттоке водянистой влаги. Исследована роль miRNA-144-3p в регуляции функции клеток трабекулярной сети человека и фибронектина-1 в плазме крови у 40 пациентов с ПОУГ и у 40 здоровых людей (контроль). Оптическая плотность клеток в группе с повышенной экспрессией miRNA-144-3p оказалась значительно выше ($p < 0,05$), а в группе с пониженной экспрессией этого маркера — значительно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Авторы пришли к выводу, что сверхэкспрессия miRNA-144-3p приводит к пролиферации и последующей инвазии трабекулярной сети человека путем ингибирования экспрессии фибронектина-1 в трабекулярную

сеть, что вызывает неокислительный стресс. Авторы полагают, что обнаруженные новые факты, объясняющие причину нарушения оттока водянистой влаги, могут стать предметом исследований в области таргетной терапии глаукомы [29]. Y. Wang и соавт. показали роль miR-181a в апоптозе клеток трабекулярной сети, вызванном действием H₂O₂. При сверхэкспрессии miR-181a наблюдали подавление апоптоза в клетках трабекул, в то время как резкое снижение miR-181a сопровождалось активацией апоптоза. Представленные результаты могут быть предметом новых разработок таргетного лечения глаукомы [30]. Полученные первые сведения позволяют выделить четыре основных направления, по которым ведутся исследования связи микроРНК и ПОУГ: 1) возможность использования miRNA влаги передней камеры как биомаркера ПОУГ; 2) определение роли miRNA в прогнозировании тяжести глаукомного процесса; 3) определение роли miRNA в патогенезе нарушения оттока влаги передней камеры; 4) уточнение возможности использования miRNA в разработке таргетного лечения глаукомы. Представленные сообщения следует расценивать как предварительные. Авторы надеются, что опубликованные сведения заинтересуют читателя и исследования будут продолжаться.

Возрастная макулодистрофия и диабетическая ретинопатия. Возрастную макулодистрофию (ВМД) расценивают как эпидемию, так как количество пациентов после 40 лет неуклонно растет, преимущественно страдают женщины. Вопросы этиопатогенеза до настоящего времени остаются неразрешенными. В последнее время привлекают внимание работы, освещающие роль miRNA в патогенезе ВМД. Экспериментальным путем была доказана роль miRNA в прогрессировании ВМД. В частности, miRNA-24 и ее роль в поддержании структуры сетчатки показана в эксперименте на крысах путем нацеливания на хитиназо-3-подобный белок 1 (CHI3L1) [16]. Авторы полагают, что miRNA-24 и CHI3L1 можно рассматривать в качестве маркера для разработки таргетной терапии ВМД и других дегенеративных заболеваний глаз. Изучена роль miRNA в ангиогенезе ретинального пигментного эпителия человека (РПЭ). Использована miRNA-152, которая нацелена на LIN28B (члена высококонсервативного семейства белков РНК-связывающего белка LIN28 гомолога B-lin-28), регулирующий уровень глюкозы в сетчатке [17]. Установлена связь уровня LIN28B 3' приводит к снижению активности miRNA-152, что, в свою очередь, запускает механизм ангиогенеза. Доказана корреляция между экспрессией 18 miRNA, роль которых в регуляции гена VEGF-A уже известна. miRNA исследовали в плазме крови у страдающих влажной формой ВМД (76 человек) и здоровых лиц (70 человек). Обнаружено снижение экспрессии генов miRNA-34-5p, miRNA-126-3p, miRNA-145-5p и miRNA-205-5p. В плазме крови контрольной группы указанные miRNA не обнаружены. Показана роль вышеперечисленных miRNA в регуляции ангиогенеза,

цитопротекции и клиренса белка. Однако не удалось получить значительной корреляции перечисленных miRNA с результатами лечения [31].

Общеизвестна роль эндотелиального фактора роста в развитии сосудистых осложнений и при сахарном диабете 2-го типа (СД2). Были исследованы и сопоставлены уровни различных маркеров: сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), оксида азота (NO) и общей антиоксидантной способности (ТАО) с уровнями miRNA и характером их изменений при наличии сосудистых осложнений СД2 [32]. Обследовано 10 пациентов с СД2 без ретинопатии и 37 с ретинопатией (непролиферативная ретинопатия — 22, пролиферативная — 15). Определены уровни NO, VEGF, ТАО и 16 кандидатов miRNA в сыворотке крови этих пациентов. Изучены уровни мРНК эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), индуцированной NOS (iNOS), реактивного белка С (CRP), VEGF, фактора некроза опухоли альфа (TNF-α), PON2, p22 и SOD2 в эндотелиальных клетках сосудов человека. Доказано существование перекрестной информации при передаче сигналов между miRNA-423 и VEGF, которые влияют на функцию eNOS. На основании полученных данных авторы пришли к выводу об участии miRNA-423 в регуляции пролиферации сосудов сетчатки. В качестве кандидата гена диабетической ретинопатии исследовали и miRNA-223-3p. Количественная ПЦР в реальном времени показала, что miRNA-223-3p часто избыточно экспрессировалась в образцах при диабетической ретинопатии и эндотелиальных клетках сетчатки человека (hRECs) в условиях гипергликемии, но снижалась при гипергликемии после добавления транстиретина [33]. Авторы считают, что транстиретин может влиять на неоваскуляризацию посредством недавно идентифицированного каскада STAT4/miR-223-3p/FBXW7 при диабетической ретинопатии.

Аутоиммунный увеит представляет определенные трудности не только для уточненной диагностики, но и выбора лечения. В последнее время появились работы о возможности miRNA контролировать такие патогенные клетки, как Th17 (Т-лимфоциты). В эксперименте на животных показано, что при аутоиммунном увеите значительно активизируется miRNA-223-3p в белок-специфичных клетках Th17. Снижение miRNA-223-3p приводит к снижению патогенности клеток Th17 частично посредством подавления экспрессии рецептора IL-23 (интерлейкин-23). Обнаруженные данные могут быть базой для исследований в области таргетного лечения аутоиммунных увеитов [34].

Эндокринная офтальмопатия (ЭОП) возникает, как правило, на фоне болезни Грейвса (БГ). Существует мнение, что в основе развития последней лежит генетическая предрасположенность, хотя это пока и не доказано. Но эпигенетические факторы, ответственные за передачу информации, в значительной степени «регулируют» степень тяжести БГ, ее рецидивы, равно как и начало развития ЭОП [35]. Протеомный анализ и анализ miRNA

в сочетании с надежной биоинформатикой позволили выявить циркулирующие биомаркеры, применимые для диагностики БГ, прогнозирования возникновения ЭОП и оптимизации ведения пациентов [36]. У больных ЭОП (в зарубежной транскрипции «офтальмопатия Грейвса» — ОГ) в активной и неактивной фазе исследовали сывороточную miRNA-146a. Экспрессия ее в обеих группах оказалась значительно ниже, чем у здоровых лиц (контрольная группа), а при активной фазе заболевания ниже, чем в неактивной. Авторы высказали предположение, что циркулирующие в сыворотке крови miRNA могут оказаться потенциальными биомаркерами и играть ключевую роль в определении прогрессирования заболевания [37]. В фазе активного воспаления miRNA-155 может стимулировать аутоиммунное воспаление, активизируя Т-клетки у таких больных, подавляя активацию Т-клеток и ингибируя иммунный ответ. Кроме того, miRNA-155 и miRNA-146a принимают участие в пролиферации и дифференцировке клеток, оказывая на воспалительные процессы противоположное действие, осуществляемое Т-лимфоцитами [37, 38].

Z.J. Hu и соавт. использовали те же miRNA-146a для изучения их роли при воздействии на CD4 + Т-клеток в сыворотке крови у пациентов с ЭОП в активной стадии процесса. Показано уменьшение экспрессии miRNA-146a на высоте остроты процесса [39]. В то же время у больных ЭОП находили повышение miRNA-146a в орбитальной клетчатке по сравнению с контролем. Интерлейкин-6 индуцировал экспрессию miRNA-146a с учетом временного интервала, и через 16 часов количество miRNA увеличивалось в 17,5 раз. Вывод авторов гласил, что miRNA-146a может играть роль в регуляции воспаления орбитальных фибробластов, тем самым участвуя в патогенезе ЭОП [40].

Фактор роста тромбоцитов (PDGF) — белок, содержащийся в тромбоцитах. В каждом тромбоците находится около 1000 молекул тромбоцитарного фактора роста. PDGF обладает способностью стимуляции тканей к репарации, располагается на фибробластах сосудистой стенки и клетках гладкой мышечной ткани, стимулирует пролиферацию этих клеток. PDGF способен увеличивать количество гликозаминогликанов, коллагена в соединительной ткани. Проведены исследования по влиянию PDGF на пролиферацию клеток и его возможный механизм в фибробластах человека. Последние были получены из орбитального жира больных ЭОП. Влияние PDGF4 на пролиферацию клеток оценивали с помощью miRNA-21. Показано, что PDGF-BB стимулирует пролиферацию клеток фибробластов посредством miRNA-21, которая опосредовано снижает ее активность, что и приводит к развитию ЭОП [41]. Экспрессия miRNA-146a оказалась повышенной у пациентов с ЭОП по сравнению с контрольной группой, в то время как Notch 2 (предполагаемая мишень miRNA-146a) в этой же группе больных была снижена. Повышение экспрессии miRNA-146a подавляло клеточный апоптоз, увеличивало

жизнеспособность и митоз фибробластов. Экзогенная miRNA-146a вызывала экспрессию Notch 2 у больных ЭОП, и это приводило к активированию IL-6. Таким образом, miRNA-146a принимает участие в подавлении клеточного апоптоза и, воздействуя на Notch 2, может активизировать IL-6 [42]. На модели *in vitro* первичных орбитальных культур фибробластов, полученных от больных ЭОП и здоровых лиц (контрольная группа), изучали взаимодействие miRNA-146a с трансформирующим фактором роста- β (TGF- β), цитокина на развитие фиброза мягких тканей орбиты. И эти результаты указывают на ответственность miRNA-146a за снижение продукции трансформирующего фактора роста- β (TGF- β), индуцированного фибронектина, коллагена I α , что свидетельствует о непосредственной регуляции miRNA-146a в развитии фиброза у пациентов с ЭОП [43].

В группе больных ЭОП выделяют отечный экзофтальм, который, в свою очередь, может подразделяться на клинические формы в зависимости от зоны поражения (миогенный и липогенный). Терапевтическому воздействию не поддается именно липогенный вариант, в основе которого лежит повышенный адипозогенез с увеличением массы жировой клетчатки в орбите. S.Y. Jang и соавт. определяли уровень miRNA-27a и miRNA-27b в орбитальной ткани у пациентов, страдающих липогенным вариантом отечного экзофтальма, и здоровых лиц. ПЦР в реальном времени достоверно показала снижение уровня miRNA-27a и miRNA-27b в орбитальном жире у больных липогенным вариантом по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Наиболее высоким оказался уровень miRNA-27a и miRNA-27b в начале эксперимента, по мере адипозогенной дифференцировки уровень их постепенно снижался [44]. Авторы утверждают, что miRNA-27a и miRNA-27b подавляют адипозогенез орбитальных фибробластов у пациентов с липогенным вариантом отечного экзофтальма. Недостаточное количество наблюдений требует дальнейших исследований с целью изучения потенциала указанных miRNA в качестве мишени для таргетной терапии.

Анализ вышеперечисленных работ за период с 2014 по 2019 г. показал, что наиболее активными в патогенезе ЭОП пока оказались miRNA-146. Они принимают участие в пролиферации и дифференцировке клеток, оказывая на воспалительные процессы через Т-лимфоциты противоположное действие, осуществляемое через CD4⁺ Т-клетки, через интерлейкин-6 (подавляют клеточный апоптоз, увеличивают жизнеспособность и митоз орбитальных фибробластов), а miRNA-146a ответственны за развитие фиброза мягких тканей орбиты.

Роль циркулирующих сывороточных miRNA у больных ЭОП для оценки эффективности ГК-терапии представлена в публикации L. Shen и соавт. [45]. Было изучено 9 miRNA. Обнаружен низкий сывороточный уровень miRNA-224-5p в группе пациентов, резистентных к ГК-терапии. *In vitro* на модели резистентных клеток сверхэкспрессия miRNA восстанавливала чувствительность

к ГК. Полученные данные могут быть использованы для прогнозирования чувствительности к ГК или выделения группы резистентных больных до начала ГК терапии.

Внутриглазные опухоли и микроРНК. В настоящее время не оспаривается, что дисрегулированные miRNA являются важными эпигенетическими регуляторами многочисленных биологических событий, в том числе различных заболеваний и опухолей. О роли miRNA в развитии опухолей глаза пока известно немного. Имеющиеся публикации освещают в основном роль miRNA при ретинобластоме и увеальной меланоме.

Ретинобластома. Анализ литературы позволил выделить два направления в изучении роли miRNA в развитии ретинобластомы (РБ): получение новых сведений о патогенезе РБ с помощью miRNA, определение возможности таргетной терапии этой опухоли. Изучено несколько miRNA. Получены результаты, свидетельствующие об увеличении экспрессии miRNA-503 в тканях и клеточных линиях опухоли. А именно, ингибирование ее *in vitro* препятствует размножению и инвазии клеток РБ. Показано, что miRNA-503 может играть роль в прогрессировании активности РБ, непосредственно воздействуя на RPTN12 (прямая мишень miRNA-503) [46]. Дальнейшие исследования подтвердили значительную роль miRNA в онкогенной или опухолеподавляющей активности при развитии РБ.

Исследования по выделению miRNA-338-5p в сыворотке крови как биомаркера РБ позволили установить значительное повышение этого маркера у детей с РБ по сравнению с контролем (сыворотка крови здоровых детей). Помимо этого, установлено отсутствие различия количественной характеристики miR-338-5p как биомаркера у детей с РБ разновозрастных групп, пола, стадии развития опухоли, как при моно-, так и при билатеральном поражении [47]. Авторы считают, что исследование сыворотки крови на miRNA-338-5p может стать опухолевым маркером РБ, а в сочетании с NSE (нейрон-специфической енолазой) miRNA-338-5p может улучшить раннюю диагностику этой опухоли. Роль эпигенетического miRNA в развитии РБ подтвердили исследования L. Wang и соавт. [48]. Авторы обнаружили снижение жизнеспособности и ослабление инвазии клеток РБ в условиях повышенной экспрессии miRNA-330 в клетках РБ *in vitro*. Супрессорную активность в развитии РБ miRNA-330 проявляет через прямое нацеливание на ROCK1, что указывает на возможность использования экспрессии miRNA-330 в качестве терапевтического маркера таргетной терапии РБ.

Исследование уровней мРНК BANCR и miRNA-204-3p в клеточных линиях пигментного эпителия сетчатки человека ARPE-19, линии клеток РБ человека HXO-RB44, Y79 и WERI-Rb1 показало, что матричная РНК (мРНК BANCR) отрицательно моделирует экспрессию miRNA-204-3p через ингибирование сигнального пути подавления опухолевых клеток [49].

Базируясь на сведениях о свойствах малой ядерной РНК 16 (SNHG16) длиной некодирующей РНК как онкогена при множественном раке, С. Ху и соавт. подчеркнули биологическую роль и основной механизм регуляции SNHG16 в прогрессировании РБ. Экспрессия SNHG16 оказалась повышенной в тканях и клеточных линиях РБ по сравнению с контролем. Снижение экспрессии SNHG16 в клетках РБ ингибировало miRNA-140-5p, и это приводило к значительному подавлению пролиферации клеток, образованию колоний, восстановлению апоптоза *in vitro*, замедлению роста опухоли *in vivo*. Таким образом показано, что SNHG16 играет онкогенную роль в развитии РБ посредством спонгирования miRNA-140-5p. Есть основание предполагать, что SNHG16 может стать потенциальной мишенью для таргетной терапии РБ [50].

Подтверждением предположения, что miRNA могут оказаться эффективными терапевтическими мишенями у детей с РБ, являются исследования с miRNA-506 на клетках опухоли человека и клеточных линиях. Z. Song и соавт. выявили влияние miRNA на выживание и пролиферацию клеток опухоли: уменьшение экспрессии miRNA-506 приводило к нарушению пролиферации клеток опухоли и ухудшению апоптоза [51]. Таким образом, в регуляции роста клеток РБ могут принимать участие несколько miRNA, и уже в настоящее время большая часть из них представляет интерес как основа для целевой терапии этой злокачественной опухоли сетчатки у детей.

Увеальная меланома — злокачественная опухоль, как правило, у взрослых встречается с частотой 9–11 человек на 1 000 000 популяции. Метастазы выявляются поздно. Первая публикации о роли miRNA в развитии увеальной меланомы (УМ) появилась в 2008 г. [52]. Авторы выявили miRNA в образцах меланомы (цилиарного тела и хориоидеи), полученных после удаления пораженного глаза (энуклеации). Наиболее значимыми оказались изменения экспрессии let-7b и miRNA-199a, подтвержденные ПЦР. Впервые высказано предположение о возможности использования этих miRNA в качестве биомаркера как фактора риска метастазирования УМ. Годом позже в Китае D. Yan и соавт. выделили miRNA-34a и определили ген-супрессор p53 УМ. Уровень супрессии miRNA-34a изучен в клетках меланомы (3 глаза) и в клеточных линиях меланоцитов (в качестве контроля) методом вестерн-блоттинг-анализа. Установлена активная экспрессия miRNA-34a в меланоцитах, но не в клетках УМ. Это позволило сделать вывод, что miRNA-34a действует как супрессор УМ при распространении и миграции ее клеток через подавление c-Met [53]. Низкие экспрессивные уровни miRNA-34a в клеточных линиях УМ доказаны в более поздних работах [54, 55]. Аналогичные результаты получены по miRNA-137, которая в клетках опухоли также представлена с более низкой экспрессией, чем в увеальных меланоцитах. Роль miRNA-137 как клеточного супрессора клеточной пролиферации в УМ подтверждена в последующих

публикациях [56]. Уже к 2011 году стало ясно, что многие miRNA эпигенетически могут отключаться во время опухолегенеза УМ. Наряду с гипоэкспрессией miRNA-34 в УМ обнаружены значительно сниженные экспрессии miRNA-145 и miRNA-204. Контролем и в этих случаях служила клеточная линия увеальных меланоцитов [57]. К 2014 г. стали известны 47 miRNA, которые могут играть роль в патогенезе УМ. Из них сверхэкспрессия miRNA-145 подавляет пролиферацию клеток УМ, блокируя фазу G1 при переходе в S-фазу в клетках опухоли, что способствует апоптозу опухолевых клеток [58]. Низкая экспрессия miRNA-144, miRNA-32, miRNA-34a, miRNA-140-5p, возможно, может быть использована в качестве потенциальной терапевтической мишени УМ [59–61]. Наряду с этим в УМ обнаружен miRNA-155, действующий как промотор увеальной меланомы путем усиления пролиферации и инвазии клеток. Таким образом, miRNA-155, вероятно, сможет служить потенциальной терапевтической мишенью у пациентов с увеальной меланомой [62]. Сверхэкспрессивным в тканях УМ оказался и miRNA-181b, который также способствовал прогрессированию клеточного цикла в клетках УМ [63]. К 2015 г. был выделен miRNA-454 — онкоген, регулирующий PTEN, экспрессия которого в тканях УМ повышена по сравнению с нормальными меланоцитами [64]. Эктопическая экспрессия miRNA-454 приводила к активной стимуляции пролиферации клеток, образованию колоний, инвазии и индукции клеточного цикла в клетках УМ. Наиболее дисрегулированными оказались miRNA кластера miRNA-506 и miRNA-514, miRNA-592 и miRNA-199a-5p при УМ высокой степени агрессивности по сравнению с УМ менее агрессивной, что коррелировало с общей выживаемостью больных [65]. Однако авторы расценивают свои выводы как предварительные.

Накопленный опыт позволил начать исследования по выявлению связи экспрессии miRNA с хромосомными изменениями и их роли в метастазировании УМ. А. Larsen и соавт., выделив 3 класса УМ по степени агрессивности (26 глаз) до определения уровня экспрессии miRNA, идентифицировали хромосомные изменения методом амплификации (MLPA) на основе ПЦР. Методом MLPA была показана связь плохой выживаемости больных УМ с потерей хромосомы 3 и увеличением 8q. Однако не удалось получить четкую корреляцию хромосомных изменений с клинико-морфологическими особенностями УМ и уровнем экспрессии miRNA [66]. Связь хромосомных изменений (моносомия 3 / дисомия 3) в УМ с экспрессией miRNA, клинико-морфологическими изменениями изучали и N. Venkatesan и соавт. [67]. Было исследовано 86 образцов УМ. Контроль — увеальные меланоциты кадаверных глаз человека. Потери хромосомы 3 с использованием хромогенной гибридизации *in situ* (CISH) были обнаружены в 59 % УМ, наличие обеих копий хромосомы 3 было обнаружено в 41 % УМ. За 5 лет наблюдения у 17 пациентов выявили метастазы (19,77 %). Изучена дифференциальная экспрессия

8 miRNA: miRNA-214, miRNA-149, miRNA-143, miRNA-146b, miRNA-199a, let7b, miRNA-1238 и miRNA-134. Прогнозирование гена-мишени выявило SMAD4, WISP1, HIPK1, HDAC8 и C-KIT в качестве посттранскрипционных регуляторов miRNA-146b, miRNA-199a, miRNA-1238 и miRNA-134. Обнаружено, что 5 miRNA (miRNA-214, miRNA-146b, miRNA-143, miRNA-199a и miRNA-134) дифференциально экспрессируются в УМ с моносомией 3 / дисомией 3 при УМ. Но и в этом исследовании не удалось выявить четкую корреляцию экспрессии miRNA с метастазированием и витальным прогнозом.

В 2012 году опубликована первая работа по определению miRNA, участвующих в ангиогенезе с циркулирующими эндотелиальными клетками (ЦЭК в сыворотке крови). В исследовании приняли участие больные УМ (21 человек), которым вводили препараты с антиангиогенной активностью (дакарбазин и интерферональфа-2b) [68]. Установлено, что уменьшение экспрессии miRNA-126 и miRNA-199a, увеличение miRNA-16 и miRNA-106a наблюдали после введения интерферональфа-2b, но не после дакарбазина. Уровни miRNA не коррелировали с уровнями фактора роста эндотелия сосудов. Ангиогенные белки после лечения также существенно не менялись. Учитывая, что все исследуемые пациенты получали системную терапию, можно предположить включение пациентов в исследование на стадии метастазирования. Других данных о пациентах нет. Профилирование экспрессии miRNA выявило присутствие 19 miRNA, экспрессируемых в не метастазирующей меланоме и отсутствующих в метастазирующей меланоме, 11 miRNA экспрессируются в метастазирующей меланоме и отсутствуют в неметастазирующей меланоме. Показано, что гены, на которые нацелены miRNA, присутствуют в хромосомных областях 8p22, 13q и 17p с часто обнаруживаемыми делециями [69]. miRNA кластера miRNA-506 и miRNA-514, miRNA-592 и miRNA-199a-5p оказались чаще дисрегулированными в наиболее агрессивной УМ по сравнению с УМ с более низкой степенью агрессивности. Эти показатели имели корреляцию с общей выживаемостью больных [67]. Однако авторы расценивают свои выводы как предварительные. Очень интересны и перспективны результаты исследования роли miRNA в метастазировании УМ, проведенные S. Achberger и соавт. [70]. В исследование были включены 6 пациентов с УМ и с инструментально подтвержденным отсутствием метастазов (5 больным проведена энуклеация, одному — брахитерапия), контрольную группу составили 26 здоровых лиц. Результаты исследования: экспрессия miRNA-20a, miRNA-125b, miRNA-146a, miRNA-155, miRNA-181a и miRNA-223 была повышена в группе больных с УМ по сравнению с контрольной. В ходе динамического наблюдения выявлено повышение уровня miRNA-20a, miRNA-125b, miRNA-146a, miRNA-155 и miRNA-223 и снижение уровня miRNA-181a на фоне инструментально выявленных метастазов через 6 и 24 месяца. Следует отметить,

что сыворотка крови для исследования была получена у 6 больных с большой УМ (толщина от 7 до 10 мм, диаметр от 15 до 19 мм). Учитывая особенность развития метастазов УМ в печени, можно полагать, что забор крови у этих больных проводили в стадии «скрытого» метастазирования. М. Ragusa и соавт. у больных УМ обнаружили активированный miRNA-146a в сыворотке крови, в стекловидном теле и в образцах опухоли; дополнительно исследовано 12 образцов парафиновых блоков УМ из патогистологической лаборатории для сравнения. Изменения в стекловидном теле и сыворотке крови у больных УМ расценили как следствие нарушения регуляции в опухолевых клетках [71]. У 14 больных УМ определяли характер экспрессии 754 miRNA в сыворотке крови, перенесших первичную энуклеацию, сравнением являлась сыворотка крови здоровых лиц. Обнаружено 8 сывороточных miRNA, дифференциально экспрессированных по сравнению с контролем: 2 положительно регулируемых miRNA (miRNA-146a, miRNA-523); 6 с гипоэкспрессией miRNA (miRNA-19a, miRNA-30d, miRNA-127, miRNA-451, miRNA-518f, miR-1274B). Значительную экспрессию имел только miRNA-146a (контроль — хориоидальные меланоциты немеланомных глаз). Увеличение miRNA-146a в сыворотке больных УМ была подтверждена статистически [72]. Несмотря на полученные результаты, авторы осторожны в своих выводах: только дальнейшие исследования покажут, можно ли считать miRNA-146a маркером УМ в крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В соответствии с современными представлениями miRNA следует признать ключевыми регуляторами экспрессии генов и кодируемых ими белков. Это дает

веские основания утверждать, что молекулы miRNA выполняют важные физиологические функции в клетках и тканях различных органов. Однако конкретные механизмы их участия пока остаются малоизвестными. В настоящее время исследования роли miRNA в регуляции различных функций глаза и их нарушений при патологических процессах весьма ограничены. Тем не менее анализ данных литературы, касающийся исследования спектра и уровня экспрессии miRNA при глаукоме, возрастной макулодистрофии, диабетической ретинопатии, аутоиммунном увеите, эндокринной патологии, указывает на перспективность таких исследований. Наиболее эффективно miRNA зарекомендовали себя в качестве биомаркеров в ранней диагностике онкологических заболеваний. В течение последних 5 лет выполнен ряд исследований, позволяющих выделить спектр циркулирующих miRNA, имеющих потенциальную диагностическую ценность для раннего выявления таких опухолей, как РБ и УМ. При этом особую ценность для диагностики и прогнозирования этих злокачественных новообразований представляют специфические для различных видов опухолей циркулирующие в плазме крови miRNA. Следует отметить, что большинство публикаций имеет в своем заключении определяющую фразу: «Сведения следует расценивать как предварительные». Таким образом, приведенный анализ литературы должен нацеливать читателя на продолжение исследований в этом молодом и прогрессивном разделе науки.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Бровкина А.Ф. — концепция исследования, написание текста, научное редактирование, сбор литературы;
Яровая Г.А. — написание текста, научное редактирование;
Цыбикова Н.Д. — сбор литературы, написание текста, оформление библиографии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Lee R., Feinbaum R., Ambros V. The C. Elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*. 1993;75(5):843–854. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-y
- Wightman B., Ha I., Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in C. elegans. *Cell*. 1993;75(5):855–862. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90530-4
- Mohr A.M., Mott J.L. Overview of microRNA biology. *Semin Liver Dis*. 2015;35(1):3–11. DOI: 10.1055/s-0034-1397344
- Carthew R.W., Sontheimer E.J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*. 2009;136(4):642–655. DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.035
- Yates L.A., Norbury C.J., Gilbert R.J. The long and short of microRNA. *Cell*. 2013;153(3):516–519. DOI: 10.1016/j.cell.2013.04.003
- Киселев Ф.Л. МикроРНК и рак. *Молекулярная биология*. 2014;48(2):232–242. [Kiselev F.L. MicroRNA and cancer. *Molecular Biology = Molekuljarnaja biologija*. 2014;48(2):232–242 (In Russ.)]. DOI: 10.7868/S0026898414020086
- Киселева Я.Ю., Птицин К.Г., Радько С.П., Згода В.Г., Арчаков А.И. Цифровая капельная ПЦР — перспективный технологический подход к количественному профилированию микроРНК. *Биомедицинская химия*. 2016;62(4):403–410. [Kiseleva Ya.Yu., Ptitsyn K.G., Radko S.P., Zgoda V.G., Archakov A.I. Digital droplet PCR—a prospective technological approach to quantitative profiling of microRNA. *Biomedical Chemistry = Biomeditsinskaya himiya*. 2016;62(4):403–410 (In Russ.)]. DOI: 10.18097/PBMC20166204403
- Онлайн-база miRBase; 2018 [обновлено: октябрь 2018; процитировано 20 декабря 2019]. Доступно: <http://microrna.sanger.ac.uk/>
- Kozomara A., Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic acids research*. 2014;42(Database issue):68–73. DOI: 10.1093/nar/gkt1181
- Vienberg S., Geiger J., Madsen S., Dalgaard L.T. MicroRNAs in metabolism. *Acta Physiol (Oxf)*. 2017;219(2):346–361. DOI: 10.1111/apha.12681
- Ambros V., Bartel B., Bartel D.P., Burge C.B., Carrington J.C., Chen X., Dreyfuss G., Eddy S.R., Griffiths-Jones S., Marshall M., Matzke M., Ruvkun G., Tuschl T. A unified system for microRNA annotation. *RNA*. 2003;9(3):277–279. DOI: 10.1261/rna.2183803
- Flynt A.S., Lai E.C. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity. *Nature Reviews Genetics*. 2008;9(11):831–842. DOI: 10.1038/nrg2455
- Lu J., Getz G., Miska E.A., Alvarez-Saavedra E., Lamb J., Peck D., Sweet-Corredo A., Ebert B.L., Mak R.H., Ferrando A.A., Downing J.R., Jacks T., Horvitz H.R., Golub T.R. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005;435(7043):834–838. DOI: 10.1038/nature03702
- Volinia S., Calin G.A., Liu C.G., Ambs S., Cimmino A., Petrocca F., Visone R., Iorio M., Roldo C., Ferracin M., Prueitt R.L., Yanaihara N., Lanza G., Scarpa A., Vecchione A., Negrini M., Harris C.C., Croce C.M. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(7):2257–2261. DOI: 10.1073/pnas.0510565103
- Rosenfeld N., Aharonov R., Meiri E., Rosenwald S., Spector Y. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotechnol*. 2008;26(4):462–469. DOI: 10.1038/nbt1392
- Lian C., Lou H., Zhang J., Tian H., Ou Q., Xu J.Y., Jin C., Gao F., Zhang J., Wang J., Li W., Xu G., Lu L., Xu G.T. MicroRNA-24 protects retina from degeneration in rats by down-regulating chitinase-3-like protein 1. *Exp Eye Res*. 2019;188(2019):107791. DOI: 10.1016/j.exer.2019.107791
- Fu X., Ou B. miR-152/LIN28B axis modulates high-glucose-induced angiogenesis in human retinal endothelial cells via VEGF signaling. *J Cell Biochem*. 2019;121(2):954–962. DOI: 10.1002/jcb.28978
- Mourelatos Z., Dostie J., Paushkin S., Sharma A., Charroux B., Abel L., Rappsilber J., Mann M., Dreyfuss G. miRNPs: a novel class of ribonucleoproteins containing numerous microRNAs. *Genes Dev*. 2002;16(6):720–728. DOI: 10.1101/gad.974702
- Calin G.A., Dumitru C.D., Shimizu M., Bichi R., Zupo S. et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(24):15524–15529. DOI: 10.1073/pnas.242606799

20. Lagos-Quintana M., Rauhut R., Meyer J., Borkhardt A., Tuschl T. New microRNAs from mouse and human. *RNA*. 2003;9(2):175–179. DOI: 10.1261/rna.2146903
21. Wienholds E., Kloosterman W.P., Miska E., Alvarez-Saavedra E., Berezikov E., Horvitz H.R., Kauppinen S., Plasterk R.H. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science*. 2005;309(5732):310–311. DOI: 10.1126/science.1114519
22. Huang K.M., Dentchev T., Stambolian D. MiRNA expression in the eye. *Mamm Genome*. 2008;19(7–8):510–516. DOI: 10.1007/s00335-008-9127-8
23. Rapicavoli N.A., Blackshaw S. New meaning in the message: noncoding RNAs and their role in retinal development. *Dev Dyn*. 2009;238(9):2103–2114. DOI: 10.1002/dvdy.21844
24. Chatzikiyakidou A., Founti P., Melidou A., Minti F., Bouras E., Anastopoulos E., Pappas T., Haidich A.B., Lambropoulos A., Topouzis F. MicroRNA-related polymorphisms in pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliative glaucoma, and primary open-angle glaucoma. *Ophthalmic Genet*. 2018;39(5):603–609. DOI: 10.1080/13816810.2018.1509352
25. Jayaram H., Phillips J.L., Lozano D.C., Choe T.E., Cepurna W.O., Johnson E.C., Morrison J.C., Gattley D.M., Saugstad J.A., Keller K.E. Comparison of MicroRNA Expression in Aqueous Humor of Normal and Primary Open-Angle Glaucoma Patients Using PCR Arrays: A Pilot Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017;58(7):2884–2890. DOI: 10.1167/iovs.17-21844
26. Drewry M.D., Challa P., Kuchty J.G., Navarro I., Helwa I., Hu Y., Mu H., Stamer W.D., Kuchty R.W., Liu Y. Differentially expressed microRNAs in the aqueous humor of patients with exfoliation glaucoma or primary open-angle glaucoma. *Hum Mol Genet*. 2018;27(7):1263–1275. DOI: 10.1093/hmg/ddy040
27. Liu Y., Chen Y., Wang Y., Zhang X., Gao K., Chen S., Zhang X. microRNA Profiling in Glaucoma Eyes With Varying Degrees of Optic Neuropathy by Using Next-Generation Sequencing. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(7):2955–2966. DOI: 10.1167/iovs.17-23599
28. Li X., Zhao F., Xin M., Li G., Luna C., Li G., Zhou Q., He Y., Yu B., Olson E., Gonzalez P., Wang S. Regulation of intraocular pressure by microRNA cluster miR-143/145. *Sci Rep*. 2017;7(1):915. DOI: 10.1038/s41598-017-01003-z
29. Yin R., Chen X. Regulatory effect of miR-144-3p on the function of human trabecular meshwork cells and fibronectin-1. *Exp Ther Med*. 2019;18(1):647–653. DOI: 10.3892/etm.2019.7584
30. Wang Y., Zhou H., Liu X., Han Y., Pan S., Wang Y. MiR-181a inhibits human trabecular meshwork cell apoptosis induced by H₂O₂ through the suppression of NF- κ B and JNK pathways. *Adv Clin Exp Med*. 2018;27(5):577–582. DOI: 10.17219/acem/6913
31. Blasiak J., Watala C., Tuuminen R., Kivinen N., Koskela A., Uusitalo-Järvinen H., Tuulonen A., Winiarczyk M., Mackiewicz J., Zmorzyński S., Filip A., Kaarniranta K. Expression of VEGFA-regulating miRNAs and mortality in wet AMD. *J Cell Mol Med*. 2019;23(12):8464–8471. DOI: 10.1111/jcmm.14731
32. Blum A., Meerzon A., Rohana H., Jabaly H., Nahul N., Celesh D., Romanenko O., Tamir S. MicroRNA-423 may regulate diabetic vasculopathy. *Clin Exp Med*. 2019;19(4):469–477. DOI: 10.1007/s10238-019-00573-8
33. Shao J., Fan G., Yin X., Gu Y., Wang X., Xin Y., Yao Y. A novel transthyretin/STAT4/miR-223-3p/FBXW7 signaling pathway affects neovascularization in diabetic retinopathy. *Mol Cell Endocrinol*. 2019;498:110541. DOI: 10.1016/j.mce.2019.110541
34. Wei Y., Chen S., Sun D., Li X., Wei R., Li X., Nian H. miR-223-3p promotes autoreactive T_H17 cell responses in experimental autoimmune uveitis (EAU) by inhibiting transcription factor FOXO3 expression. *FASEB J*. 2019;33(12):13951–13965. DOI: 10.1096/fj.201901446R
35. Tatlashvili S., Baudry C., Sadoul J.L. New perspectives for the diagnosis and prognosis of Graves' disease. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2018;79(1):31–39. DOI: 10.1016/S0003-4266(18)31239-3. (In French)
36. Zhang L., Masetti G., Colucci G., Salvi M., Covelli D., Eckstein A., Kaiser U., Draman M.S., Muller I., Ludgate M., Lucini L., Biscarini F. Combining micro-RNA and protein sequencing to detect robust biomarkers for Graves' disease and orbitopathy. *Sci Rep*. 2018;8(1):8386. DOI: 10.1038/s41598-018-26700-1
37. Wei H., Guan M., Qin Y., Xie C., Fu X., Gao F., Xue Y. Circulating levels of miR-146a and IL-17 are significantly correlated with the clinical activity of Graves' ophthalmopathy. *Endocr J*. 2014;61(11):1087–1092. DOI: 10.1507/endocrj.ej14-0246
38. Li K., Du Y., Jiang B.L., He J.F. Increased microRNA-155 and decreased microRNA-146a may promote ocular inflammation and proliferation in Graves' ophthalmopathy. *Med Sci Monit*. 2014;20:639–643. DOI: 10.12659/MSM.890686
39. Hu Z.J., He J.F., Li K.J., Chen J., Xie X.R. Decreased microRNA-146a in CD4+T cells promote ocular inflammation in thyroid-associated ophthalmopathy by targeting NUMB. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(8):1803–1809.
40. Jang S.Y., Chae M.K., Lee J.H., Lee E.J., Yoon J.S. Role of miR-146a in the Regulation of Inflammation in an In Vitro Model of Graves' Orbitopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(10):4027–4034. DOI: 10.1167/iovs.16-19213
41. Lee J.Y., Yun M., Paik J.S., Lee S.B., Yang S.W. PDGF-BB Enhances the Proliferation of Cells in Human Orbital Fibroblasts by Suppressing PDCD4 Expression Via Up-Regulation of microRNA-21. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(3):908–913. DOI: 10.1167/iovs.15-18157
42. Wang N., Chen F.E., Long Z.W. Mechanism of MicroRNA-146a/Notch2 Signaling Regulating IL-6 in Graves Ophthalmopathy. *Cell Physiol Biochem*. 2017;41(4):1285–1297. DOI: 10.1159/00046443
43. Jang S.Y., Park S.J., Chae M.K., Lee J.H., Lee E.J., Yoon J.S. Role of microRNA-146a in regulation of fibrosis in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy. *Br J Ophthalmol*. 2018;102(3):407–414. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2017-310723
44. Jang S.Y., Chae M.K., Lee J.H., Lee E.J., Yoon J.S. MicroRNA-27 inhibits adipogenic differentiation in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy. *PLoS One*. 2019;14(8):e0221077(1–11). DOI: 10.1371/journal.pone.0221077
45. Shen L., Huang F., Ye L., Zhu W., Zhang X., Wang S., Wang W., Ning G. Circulating microRNA predicts insensitivity to glucocorticoid therapy in Graves' ophthalmopathy. *Endocrine*. 2015;49(2):445–456. DOI: 10.1007/s12020-014-0487-4
46. Cheng Y., Liu W. MicroRNA-503 serves an oncogenic role in retinoblastoma progression by directly targeting PTPN12. *Exp Ther Med*. 2019;18(3):2285–2292. DOI: 10.3892/etm.2019.7795
47. Zhou P., Li X. Serum miR-338-5p has potential for use as a tumor marker for retinoblastoma. *Oncol Lett*. 2019;18(1):307–313. DOI: 10.3892/ol.2019.10331
48. Wang L., Wang L., Li L., Zhang H., Lyu X. MicroRNA-330 is downregulated in retinoblastoma and suppresses cell viability and invasion by directly targeting ROCK1. *Mol Med Rep*. 2019;20(4):3440–3447. DOI: 10.3892/mmr.2019.10545
49. Sun Q.X., Wang R.R., Liu N., Liu C. Dysregulation of miR-204-3p Driven by the Viability and Motility of Retinoblastoma by Wnt/ β -catenin Pathway In Vitro and In Vivo. *Pathol Oncol Res*. 2019. DOI: 10.1007/s12253-019-00722-0 [Epub ahead of print]
50. Xu C., Hu C., Wang Y., Liu S. Long noncoding RNA SNHG16 promotes human retinoblastoma progression via sponging miR-140-5p. *Biomed Pharmacother*. 2019;117:109153. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109153
51. Song Z., Wang H., Zong F., Zhu C., Tao Y. MicroRNA-506 regulates apoptosis in retinoblastoma cells by targeting siirtuin 1. *Cancer Manag Res*. 2019; 1:8419–8429. DOI: 10.2147/CMAR.S211122
52. Worley L.A., Long M.D., Onken M.D., Harbour J.W. Micro-RNAs associated with metastasis in uveal melanoma identified by multiplexed microarray profiling. *Melanoma Research*. 2008;18(3):184–190. DOI: 10.1097/CMR.0b013e3282feca6c
53. Yan D., Zhou X., Chen X., Hu D.N., Dong X.D., Wang J., Lu F., Tu L., Qu J. MicroRNA-34a inhibits uveal melanoma cell proliferation and migration through downregulation of c-Met. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(4):1559–1565. DOI: 10.1167/iovs.08-2681
54. Liu J., Ma L., Li C., Zhang Z., Yang G., Zhang W. Tumor-targeting TRAIL expression mediated by miRNA response elements suppressed growth of uveal melanoma cells. *Mol Oncol*. 2013;7(6):1043–1055. DOI: 10.1016/j.molonc.2013.08.003
55. Hou Q., Han S., Yang L., Chen S., Chen J., Ma N., Wang C., Tang J., Chen X., Chen F., Dong X.D.E., Tu L. The Interplay of MicroRNA-34a, LGR4, EMT-Associated Factors, and MMP2 in Regulating Uveal Melanoma Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60(13):4503–4510. DOI: 10.1167/iovs.18-26477
56. Chen X., Wang J., Shen H., Lu J., Li C., Hu D.N., Dong X.D., Yan D., Tu L. Epigenetics, microRNAs, and carcinogenesis: functional role of microRNA-137 in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(3):1193–1199. DOI: 10.1167/iovs.10-5272
57. Yang C., Wei W. The miRNA expression profile of the uveal melanoma. *Sci China Life Sci*. 2011;54(4):351–358. DOI: 10.1007/s11427-011-4149-y
58. Li Y., Huang Q., Shi X., Jin X., Shen L., Xu X., Wei W. MicroRNA 145 may play an important role in uveal melanoma cell growth by potentially targeting insulin receptor substrate-1. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(8):1410–1416.
59. Sun L., Bian G., Meng Z., Dang G., Shi D., Mi S. MiR-144 Inhibits Uveal Melanoma Cell Proliferation and Invasion by Regulating c-Met Expression. *PLoS One*. 2015;10(5):e0124428(1–11). DOI: 10.1371/journal.pone.0124428
60. Ma Y.B., Song D.W., Nie R.H., Mu G.Y. MicroRNA-32 functions as a tumor suppressor and directly targets EZH2 in uveal melanoma. *Genet Mol Res*. 2016;15(2). DOI: 10.4238/gmr.15027935
61. Zhao G., Yin Y., Zhao B. miR-140-5p is negatively correlated with proliferation, invasion, and tumorigenesis in malignant melanoma by targeting SOX4 via the Wnt/ β -catenin and NF- κ B cascades. *J Cell Physiol*. 2019;235(3):2161–2170. DOI: 10.1002/jcp.29122
62. Peng J., Liu H., Liu C. MiR-155 Promotes Uveal Melanoma Cell Proliferation and Invasion by Regulating NDFIP1 Expression. *Technol Cancer Res Treat*. 2017;16(6):1160–1167. DOI: 10.1177/1533034617737923
63. Zhang L., He X., Li F., Pan H., Huang X., Wen X., Zhang H., Li B., Ge S., Xu X., Jia R., Fan X. The miR-181 family promotes cell cycle by targeting CTDSPL, a phosphatase-like tumor suppressor in uveal melanoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018;37(1):15. DOI: 10.1186/s13046-018-0679-5
64. Sun L., Wang Q., Gao X., Shi D., Mi S., Han Q. MicroRNA-454 functions as an oncogene by regulating PTEN in uveal melanoma. *FEBS Lett*. 2015;589(19 Pt B):2791–2796. DOI: 10.1016/j.febslet.2015.08.007
65. Falzone L., Romano G.L., Salemi R., Bucolo C., Tomasello B., Lupo G., Anfuso C.D., Spandidos D.A., Libra M., Candido S. Prognostic significance of deregulated microRNAs in uveal melanomas. *Mol Med Rep*. 2019;19(4):2599–2610. DOI: 10.3892/mmr.2019.9949
66. Larsen A.-C., Holst L., Kaczowski B., Andersen M.T., Manfè V., Siersma V.D., Kolko M., Kiilgaard J.F., Winther O., Prause J.U., Gniadecki R., Heegaard S. MicroRNA expression analysis and Multiplex ligation-dependent probe amplification in metastatic and non-metastatic uveal melanoma. *Acta Ophthalmol*. 2014; 92(6): 541–549. DOI: 10.1111/aos.12322
67. Venkatesan N., Kanwar J., Deepa P.R., Khetan V., Crowley T.M., Raguraman R., Sugneswari G., Rishi P., Natarajan V., Biswas J., Krishnakumar S. Clinicopathological Association of Delineated miRNAs in Uveal Melanoma with Monosomy 3/Disomy 3 Chromosomal Aberrations. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146128(14). DOI: 10.1371/journal.pone.0146128
68. Triozzi P.L., Achberger S., Aldrich W., Singh A.D., Grane R., Borden E.C. The association of blood angioregulatory microRNA levels with circulating endothelial cells and angiogenesis in patients receiving dacarbazine and interferon. *J Transl Med*. 2012;10:241. DOI: 10.1186/1479-5876-10-241
69. Radhakrishnan A., Badhrinarayanan N., Biswas J., Krishnakumar S. Analysis of chromosomal aberration (1, 3, and 8) and association of microRNAs in uveal melanoma. *Mol Vis*. 2009;15:2146–2154.

70. Achberger S., Aldrich W., Tubbs R., Crabb J.W., Singh A.D., Triozzi P.L. Circulating immune cell and microRNA in patients with uveal melanoma developing metastatic disease. *Mol Immunol.* 2014;58(2):182–186. DOI: 10.1016/j.molimm.2013.11.018
71. Ragusa M., Barbagallo C., Statello L., Caltabiano R., Russo A., Puzzo L., Avitabile T., Longo A., Toro M.D., Barbagallo D., Valadi H., Pietro C.D., Purrello M., Reibaldi M. miRNA profiling in vitreous humor, vitreal exosomes and serum from uveal melanoma patients: Pathological and diagnostic implications. *Cancer Biol Ther.* 2015;16(9):1387–1396. DOI: 10.1080/15384047.2015.1046021
72. Russo A., Caltabiano R., Longo A., Avitabile T., Franco L.M., Bonfiglio V., Puzzo L., Reibaldi M. Increased Levels of miRNA-146a in Serum and Histologic Samples of Patients with Uveal Melanoma. *Front Pharmacol.* 2016;7:424. DOI: 10.3389/fphar.2016.00424

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Бровкина Алевтина Федоровна
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры офтальмологии ул. Баррикадная, 2/1, Москва, 125993, Российская Федерация

ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Яровая Галина Алексеевна
доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской биохимии и иммунопатологии
ул. Баррикадная, 2/1, Москва, 125993, Российская Федерация

ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Цыбикова Наталья Дашазгбэевна
аспирант кафедры офтальмологии
ул. Баррикадная, 2/1, Москва, 125993, Российская Федерация

ABOUT THE AUTHORS

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education
Brovkina Alevtina F.
Academician, MD, Professor, Professor of the Ophthalmology department
Barrikadnaya str, 2/1, Moscow, 123995, Russian Federation

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education
Yarovaya Galina A.
MD, Professor, Department of medical biochemistry and immunopathology
Barrikadnaya str, 2/1, Moscow, 123995, Russian Federation

Tsybikova Natalia D.
postgraduate of the Ophthalmology department
Barrikadnaya str, 2/1, Moscow, 123995, Russian Federation