

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ
PHARMACOLOGY



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-6

УДК 617.73-007/681

Морфофункциональные изменения сетчатки при моделировании глаукомного процесса у крыс

А.А. Должиков¹ , А.С. Победа¹ , О.А. Шевченко² , И.Н. Должикова¹ 

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация
Автор для переписки: А.А. Должиков (dolzhikov@bsu.edu.ru)

Резюме

Актуальность: Современным перспективным направлением фармакотерапии поражений сетчатки при глаукоме является нейро- или ретинопротекция, что определяет актуальность создания адекватных экстраполируемых на заболевание у человека моделей патологии для доклинических испытаний соответствующих препаратов. **Цель исследования:** Определение морфофункциональных изменений в сетчатке у крыс при использовании одного из способов моделирования глаукомного процесса длительным введением гиалуриновой кислоты (ГК) в переднюю камеру глаза. **Материалы и методы:** Исследование выполнено на двух равных (по 10 особей) группах белых лабораторных крыс: контрольной и экспериментальной. В экспериментальной моделировали хроническое повышение внутриглазного давления (ВГД) еженедельным введением в переднюю камеру глаза 25 мкл 1% раствора ГК в течение 10 недель. Определяли уровень внутриглазного давления (ВГД), электроретинографические характеристики сетчатки. Проведено ее гистологическое исследование с компьютерной морфометрией. **Результаты:** Введение ГК в переднюю камеру глаза уже в раннем периоде приводит к достоверному повышению ВГД до $23,6 \pm 1,33$ мм рт. ст., которое стойко удерживается на протяжении 10 недель. Электроретинография демонстрирует развитие дисфункции как фоторецепторов, так и ассоциативных нейронов сетчатки в виде достоверного снижения амплитуды а- и в- волн. Морфологические изменения свидетельствуют о развитии характерных для глаукомного поражения изменений нейральных слоев с гибелью ганглионарных нейронов, атрофией слоя нервных волокон. При этом отсутствуют нарушения микроциркуляции в той степени, которая может несомненно свидетельствовать об ишемической природе нейрональной гибели. Последнюю можно связать с двумя другими механизмами: с прямым дей-

ствием повышенного ИГД, либо с механизмом эксайтотоксичности, что требует отдельного исследования. Сохранившиеся нейроны проявляют признаки компенсаторной реакции с гипертрофией перикарионов, что вероятнее является проявлением их дендритной пластичности. **Заключение:** Использованная модель воспроизводит характерные для глаукомы морфофункциональные изменения сетчатки и является адекватной для воспроизведения гипертензионного компонента патогенеза данного заболевания.

Ключевые слова: глаукома; моделирование; изменения сетчатки

Для цитирования: Должиков АА, Победа АС, Шевченко ОА, и др. Морфофункциональные изменения сетчатки при моделировании глаукомного процесса у крыс. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(4):503-514. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-6

Morphofunctional changes in the retina when modeling the glaucoma process in rats

Aleksandr A. Dolzhikov¹ , Anna S. Pobeda¹ , Olga A. Shevchenko² ,
Irina. N. Dolzhikova¹ 

¹ Belgorod State National Research University,
85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia

² Kursk State Medical University,
3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

Corresponding author: Aleksandr A. Dolzhikov (dolzhikov @bsu.edu.ru)

Abstract

Background: Neuroprotective approaches are considered to be the most promising among existing modern directions in the development of antiglaucomatous drugs. **The aim of the study:** The detection of morphofunctional changes in the retina following the chronic increase in intraocular pressure modelled by injection of hyaluronic acid (HA) into anterior eye chamber. **Materials and methods:** Two groups (intact and experimental) of albino rats (10 animals in each group) were used. In experimental animals 25ml of 1% solution of HA was weekly injected into the anterior eye chamber during 10 weeks. The intraocular pressure (IOP) measurement, electroretinography and histological methods with computer morphometry were used. **Results:** The intracameral administration of HA leads to a statistically significant increase of IOP up to 23,6±1,33 mm Hg which remains stable during 10 weeks. Electroretinography demonstrates the development of dysfunction of both photoreceptor and associative neurons of the retina in the form of a significant decrease in the amplitude of a- and b-waves. Histological changes observed in experimental retinas are characteristic of glaucomatous damage with specific neuronal loss in the ganglion layer and atrophic thinning of the nerve fibers layer. The surviving neurons show signs of a compensatory reaction with hypertrophy of the pericarions, which is more likely a manifestation of their dendritic plasticity. **Conclusion:** The model used reproduces morphofunctional changes in the retina characteristic of glaucoma and is adequate for reproducing the hypertensive component of the pathogenesis of this disease.

Keywords: glaucoma; experimental model; changes of retina

For citation: Dolzhikov AA, Pobeda AS, Shevchenko OA, et al. Morphofunctional changes in the retina. Research Results in Biomedicine. 2020;6(4):503-514. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-6

Введение. Глаукома является одной из основных причин необратимой потери зрения во многих странах [1, 2]. Хотя длительное изучение природы заболевания привело к формированию трех дополняющих друг друга теорий этиологии и патогенеза: гидромеханической, сосудистой и метаболической [3, 4, 5] в качестве главного фактора прогрессирующего дегенеративного поражения сетчатки и зрительного нерва с развитием оптической нейропатии, имеющей характерные морфологические и клинические проявления, рассматривается действие длительно повышенного или нетолерантного внутриглазного давления (ВГД).

Основной мишенью действия патологических факторов являются ганглионарные нейроны сетчатки и дендритные ветвления с синаптическими контактами во внутреннем сетчатом слое и эфферентный выход, формируемый аксонами в слое нервных волокон и зрительном нерве, получившие вместе название «комплекс ганглионарных клеток» [6]. В исследованиях новых фармакотерапевтических средств, направленных против повреждений его компонентов новейшей является парадигма нейропротекции, подразумевающая меры защиты именно ганглионарных нейронов [7, 8, 9], или ретинопротекции, не ограничиваясь только этой частью сетчатки [10]. В связи с фармакологическими исследованиями на первый план выходит проблема создания модели глаукомного поражения, позволяющей максимально экстраполировать экспериментальные данные на человека, чему посвящен целый ряд современных аналитических работ [11, 12, 13]. Другим активно изучаемым вопросом являются механизмы гибели ганглионарных нейронов, особенно с учетом противоречиво оцениваемой возможностью ее селективности у морфологически и функцио-

нально различных субпопуляций данных клеток [14, 15, 16]. В связи с последними аспектами проблемы нами определена цель данного исследования.

Цель исследования. Определить особенности морфологических и функциональных (электроретинография) изменений сетчатки при моделировании глаукомного процесса у крыс хроническим повышением внутриглазного давления.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 20 белых лабораторных крысах-самцах возрастом 3-4 месяца, массой 180-220 г, составивших две равные группы: интактного контроля и экспериментальную. Для создания в экспериментальной группе хронической внутриглазной гипертензии из часто используемых моделей, выполняемых введением в переднюю камеру глаза микросфер [17, 18], конъюнктивальных фибробластов [19], компонентов основного вещества соединительной ткани [20, 21, 22], нами с учетом технических особенностей и возможностей сопоставлений с имеющимися литературными данными выбрана модель с введением в переднюю камеру глаз 25 мкл 1% раствора гиалуроновой кислоты [21, 22]. Введение выполняли под внутрибрюшинным хлоралгидратным (300 мг/кг) наркозом один раз в неделю в течение 10 недель. Регистрацию уровня внутриглазного давления (ВГД) осуществляли тонометром Icare® TONOVET (Финляндия) согласно инструкции.

Электрофизиологическое исследование сетчатки осуществляли по методике, описанной ранее [23]. Животных выводили из эксперимента под наркозом в CO₂ камере. Глаза извлекали целиком с прилежащими тканями и фиксировали в 10% растворе формалина в течение 24 часов. Исследовали периферические части сетчатки, для чего после фиксации осторожного

удаляли роговицу, разрезали глаза парацентралью в сагиттальной плоскости и обе части заливали в парафин стандартным способом. Гистологические срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Микропрепараты исследовали под микроскопом «Ломо» с видеокамерой «DV1000». Для морфометрии под максимальным увеличением микроскопа с использованием объектива $\times 100$ и масляной иммерсии с помощью программы «McA-View 7.3.1.7» (ЛОМО-микросистемы, Россия) получали изображения случайных полей зрения стандартной площади с захватом в их пределах внутреннего сетчатого, ганглионарного слоев и слоя нервных волокон сетчатки. В каждой серии проанализировано не менее 50 изображений. С использованием программы «ImageJ» (NIH, Bethesda, USA) выполняли линейные измерения. Количественную оценку ганглионарного слоя выполняли путем подсчета количества (линейной плотности) клеток на протяжении стандартных участков слоя в полях зрения. Данные регистрировали в электронных таблицах MsExcel 2003, средствами математического и статистического анализа которых осуществляли первичную статистическую обработку. Достоверность различий величин показателей оценивали с помощью онлайн сервиса статистического анализа «medstatistic.ru», используя критерии t Стьюдента и χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса.

Результаты и их обсуждение. В результате примененного моделирования глаукомного процесса было достигнуто достоверное значимое повышение ВГД до $23,6 \pm 1,33$ мм рт. ст. (у интактных животных $10,4 \pm 0,65$ мм рт. ст.; $p < 0,001$). В исследовании-прототипе [21] была достигнута такая же степень повышения давления уже после первой инъекции и на протяжении всего исследования с еженедельными инъекциями его уровень сохранялся на достоверно больших значениях ($21,63 \pm 1$ мм рт. ст.). Электрофизиологического и морфологического исследования

сетчатки авторы не выполняли. Они выполнены в последующих исследованиях, что мы обсудим дальше.

В результате электроретинографического исследования у экспериментальных животных через 10 недель повышения ВГД нами выявлены признаки дисфункции в наружной (фоторецепторные и биполярные нейроны) части сетчатки в форме достоверного ($p < 0,05$) снижения амплитуды а-волн до 67% ($78,0 \pm 6,11$ μV) от контрольного ($116,0 \pm 6,70$ μV) значения. Амплитуда в-волн достоверно ($p < 0,05$) снизилась до 56% ($115,0 \pm 8,06$ μV) от контрольного значения ($206,0 \pm 9,57$ μV). В представленных в литературе исследованиях с интракамеральным введением гиалуроновой кислоты в аналогичном нашему исследованию объеме [22] и другом исследовании с введением хондроитинсульфата в объеме 20 мкл [20] были получены сходные данные: повышение ВГД с шестой недели эксперимента с прогрессированием до десятой, снижение амплитуд ретинографических волн. Механизм действия гликозаминогликанов авторы связывают не с прямой механической закупоркой трабекулярных структур угла глаза, как это наблюдается в окклюзионных моделях с применением микросфер [17], а с влиянием концентрации гликозаминогликанов с высоким содержанием связывающих воду анионных групп на сопротивление ее транспорту в межклеточном матриксе структур системы склерального синуса.

При морфологическом исследовании материала экспериментальной группы нами обнаружено, что общая структура сетчатки при использованной модели патологии не подвергается значимым изменениям (рис. 1). В фоторецепторном слое наблюдались лишь мелкие очаги разрыхления структуры. В наружном и внутреннем ядерном слоях имелись очаги разрежения расположения ядер нейронов за счет отечного расширения межклеточных промежутков.

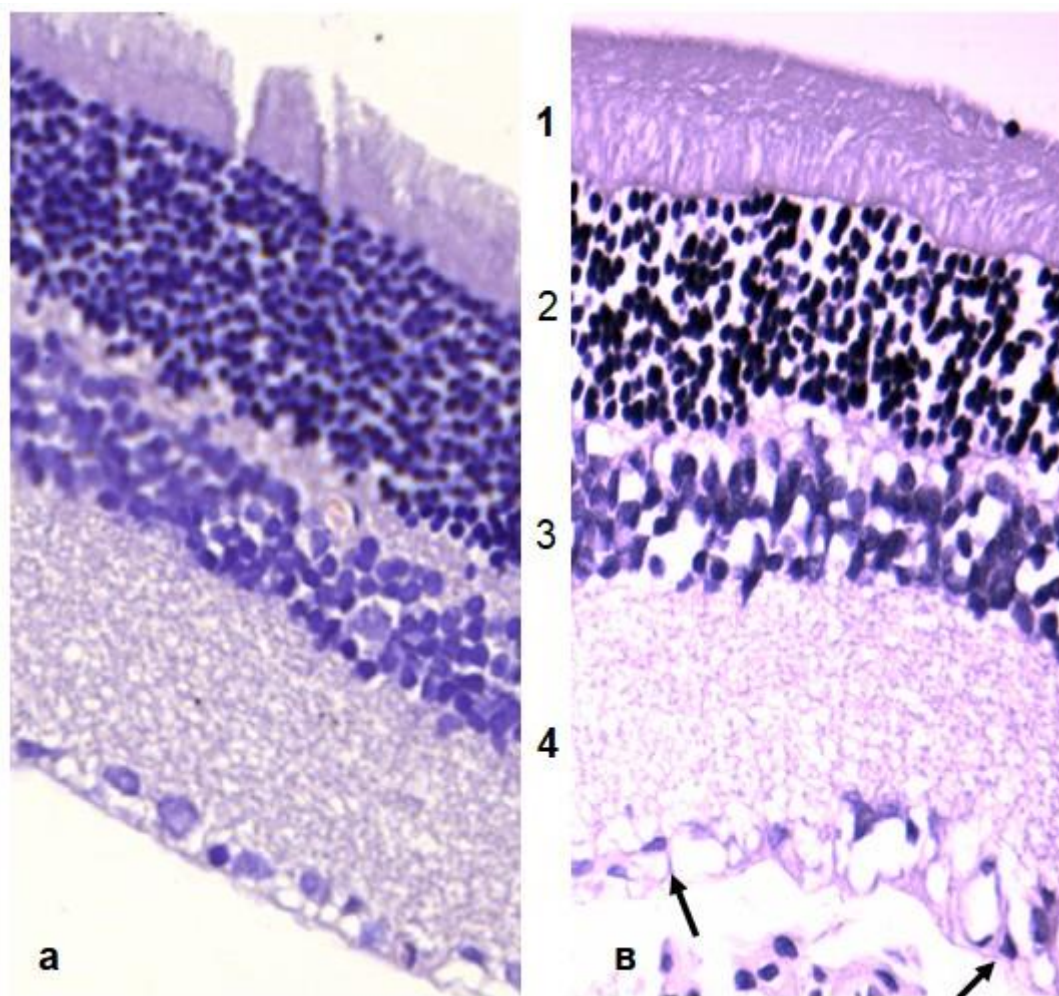


Рис. 1. Общий вид гистологической структуры сетчатки у интактных (а) и экспериментальных (в) животных: фоторецепторный слой (1) с очагами разрежения, ганглионарный слой, наружный (2) и внутренний (3) ядерные слои с расширенными межклеточными промежутками, ганглионарный с очагами нейронального опустошения (стрелки на рис. 1в), внутренний сетчатый слой (4) спонгиозно изменен. Окр. гематоксилиномиеозином.

Ув. 10×100 (иммерс).

Fig. 1. Histological structure of the retina in control (a) and experimental (b) animals: photoreceptor layer (1) with foci of discomplexity, outer (2) and inner (3) nuclear layers with dilated intercellular spaces, ganglionic layer with foci of neural death (arrows), inner plexiform layer (4) with spongiform changes. Hem&eosinstain. Magnification 10×100 (oilimmers)

Толщина внутреннего сетчатого слоя уменьшилась только на 10% ($116,6 \pm 4,3$ мкм) и достоверно от интактной ($128,1 \pm 4,7$) не отличалась ($p=0,07$). Однако в структуре его было выражено спонгиозное разрушение преимущественно в области внутреннего подслоя на границе с ганглионарным слоем (рис. 2в). Сходный тип изменений выявлен и в слое нервных волокон, который утрачивал сравнительную компактность и четкость контуров, что отразилось и в увеличении толщины на 20%

($42,2 \pm 3,5$ мкм), но также без ($p=0,2$) достоверных отличий от интактного ($35,8 \pm 3,1$) показателя. В имеющихся в литературе морфологических исследованиях в аналогичной примененной нами модели [22] также не было выявлено изменений толщины слоев и сетчатки в целом, но при этом значимым изменениям подвергся ганглионарный слой. В одном из клинических исследований [6] оптическая когерентная томография не выявила четкой зависимости толщины комплекса ганглионарных

клеток от внутриглазного давления. Таким образом, толщина внутреннего сетчатого слоя и слоя нервных волокон сами по себе не являются достаточными индикаторами состояния комплекса ганглионарных нейронов. Увеличение толщины внутреннего сетчатого слоя имеет отечную природу и не отражает состояние дендритных ветвлений и синаптических связей ганглионарных нейронов. Об этом свидетельствует и сопоставление с данными других исследований, в которых применены высокоселективные методы идентификации нейронных субпопуляций. В исследовании на модели глаукомы у обезьян [18] установлено, что дегенерация как крупных, так и мелких ганглионарных нейронов начинается с поражения дендритных ветвлений и затем тел нейронов. Как нами указано, заметные спонгиозформные изменения наблюдаются во внутреннем подслое внутреннего сетчатого слоя, то есть месте компактных дендритных ветвлений Оп-типа. При этом известно, что нейроны с проекцией дендритов в наружный (Off) подслой внутреннего сетчатого слоя изменяются в ранний период повышения ВГД в большей степени, чем нейроны с дендритными ветвлениями Оп типа [24]. К тому же имеется определенная дендритная пластичность с возможным компенсаторным увеличением Оп отростков при потере Off ветвлений у бистратифицированных (Op-Off) клеток [14]. Полное определение природы изменений компонентов ганглионарного комплекса оказывается возможным при применении методов выявления и оценки структурно-функционального подтипа нейронов и соответствующих синаптических полей. Тем не менее, даже рутинные общегистологические методы, использованные и нами, при дополнении количественной оценкой клеточных популяций дают возможность суждения о наличии и степени поражения основной мишени глаукомного процесса – ганглионарных нейронов (ГК). В связи с этим внимания заслуживают результаты сравнительного исследования трех моделей глаукомы созданием повышенного ВГД [24]. Авторами исследованы изменения ганглионар-

ного слоя в модели с введением латексных микросфер, микросфер в смеси с метилцеллюлозой и после каутеризации эписклеральных вен. Выявлено, что степень гибели ГК не зависит от типа модели и, более того, одинакова при 13 и 24-х недельной длительности внутриглазной гипертензии, что авторы объяснили наступлением снижения ВГД после 17 недель. Самым интересным в связи с нашим обсуждением является увеличение площадей перикарионов сохранившихся ГК. При этом оно было более выражено в местах наибольших нейрональных потерь. Такие же результаты пятью годами ранее получены в другом исследовании с моделированием глаукомы каутеризацией эписклеральных вен [25]. При этом увеличенные сохранившиеся нейроны не были дегенерирующими, поскольку наблюдалось и увеличение площади синаптических связей.

Нами выявлено значительное достоверное ($p < 0,01$) увеличение среднего максимального размера ганглионарных нейронов до $52,9 \pm 1,7$ мкм (контроль = $10,8 \pm 0,7$ мкм) с перераспределением количества клеток по размерным классам в виде достоверного преобладания больших клеток и редукции средних размерных групп. При этом, хотя в больших ГК наблюдались признаки дистрофических изменений и ранние гистологические проявления апоптоза (рис. 3), значительная часть клеток была с минимальными изменениями как перикарионов, так и видимых частей отростков.

В пределах информативности статичных морфологических картин относительно динамики клеточных изменений мы оцениваем выявленное перераспределение нейронов по размерным классам с редукцией промежуточного следующим образом. С одной стороны, произошел «сдвиг влево», то есть пикноморфные изменения, возможно апоптотической природы, этого класса клеток, составляющие истинный компонент их потерь. С другой стороны, оставшиеся клетки этого класса подвергаются гипертрофии, увеличивая субпопуляцию крупных нейронов и составляя относительный компонент уменьшения численности промежуточных размерных типов.

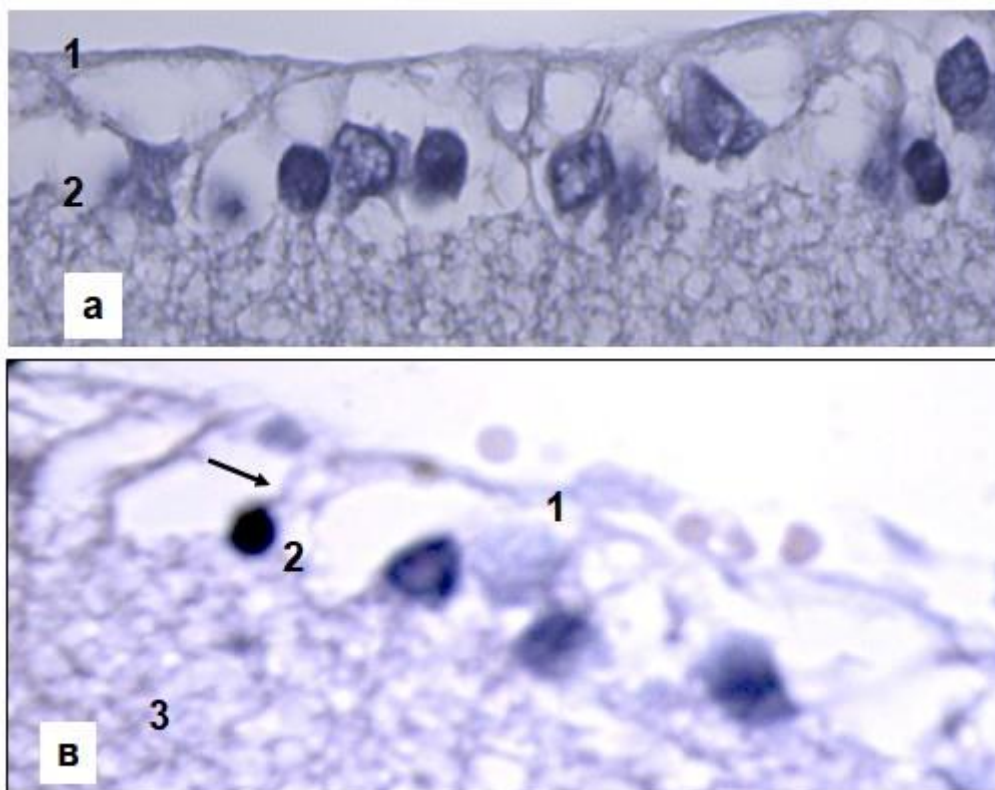


Рис. 2. Микроструктура слоя нервных волокон (1), ганглионарного слоя (2) и внутреннего сетчатого (3) у интактных (а) и экспериментальных (в) животных: интактный слой нервных волокон сравнительно компактный, ганглионарные нейроны преимущественно со средними объемами перикарионов, формируют монослой (рис 2а), у экспериментальных животных слой нервных волокон разрыхлен, с нечеткими контурами, неравномерной толщины, внутренний сетчатый слой со спонгиозным разрыхлением преимущественно внутреннего подслоя вблизи ганглионарных нейронов, ганглионарные нейроны с пикноморфными ядрами (стрелкой на рис. 2в указан начальный отдел аксона мелкого ганглионарного нейрона.

Окр. гематоксилиномиеозином. Ув. 10×100 (иммерс).

Fig. 2. Structure of nerve fibers layer (1), ganglion layer (2) and inner pleiform layer (3) in intact (a) and glaucomatous (b) animals: the intact nerve fibers layer is comparatively compact, with smooth outlines, Ganglion neurons are predominantly middle-sized, form continuous monolayer (a); in glaucomatous animals there is a loosening of nerve fibers layer, ganglion cells are picnotic (arrow indicates the initial part of axon), spongiform changes of inner plexiform layer in its on-sublayer near the ganglion neurons. Hem&eosinstain. Magnification 10×100 (oilimmers)

С учетом приведенных выше данных литературы нейрональную гипертрофию можно предположить связанной с компенсаторной реакцией, обеспечивающей дендритную пластичность в претерпеваемом видимые изменения внутреннем сетчатом слое, условия для чего создает достаточная длительность эксперимента.

Перед заключением необходимо отметить, что при использованной модели мы не выявили микроциркуляторных изменений в той степени, в которой они мог-

ли бы стать объяснением нейрональной гибели в ганглионарном слое. На основании известного [3, 14] остается предполагать фактор нарушения аксоплазматического тока на уровне ламинарной части зрительного нерва вследствие прямого действия внутриглазной гипертензии на решетчатую пластинку, а также механизм эксайтотоксичности, что представляет интерес и актуальность для дальнейшего отдельного исследования.

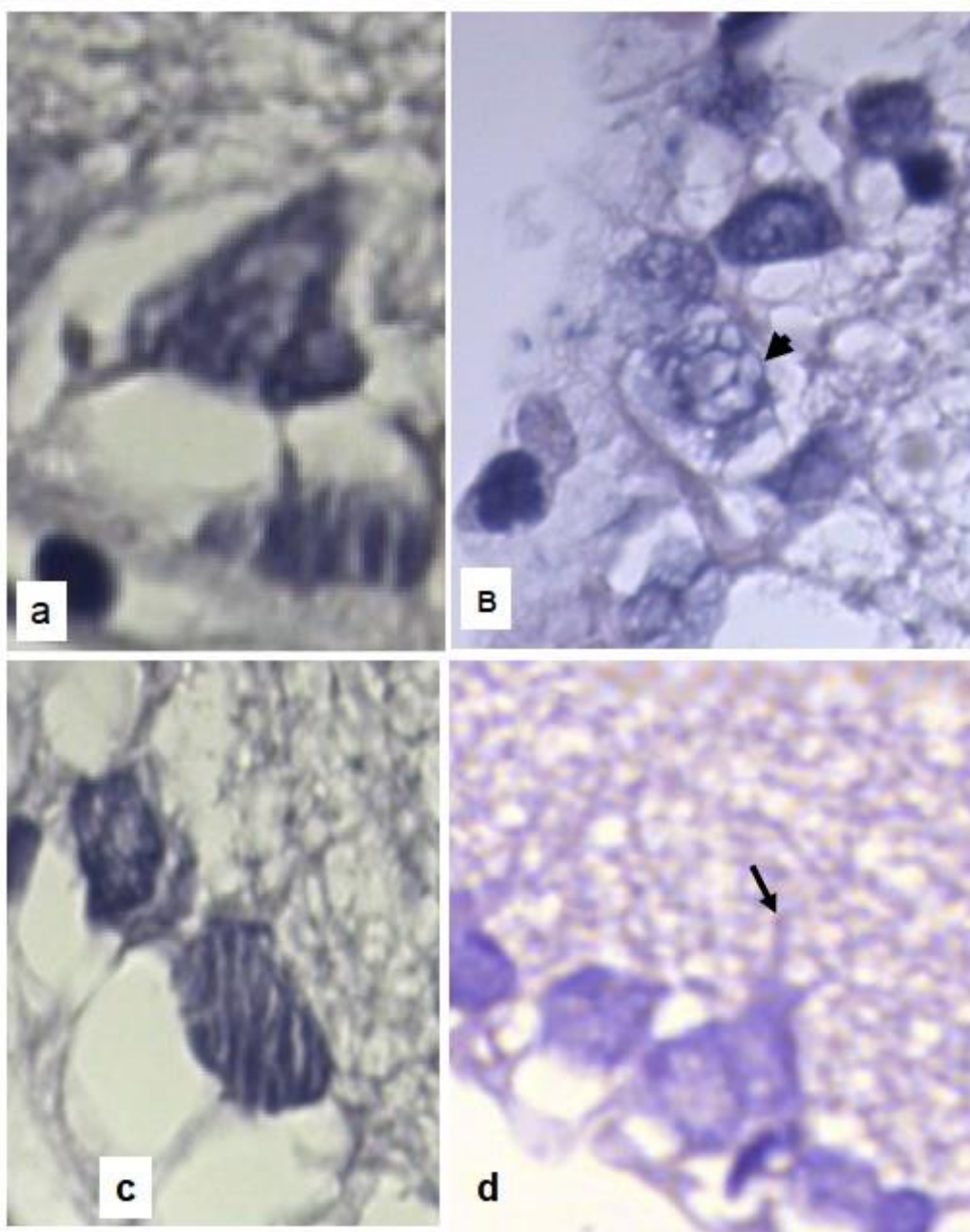


Рис. 3. Полиморфизм изменений ганглионарных нейронов у экспериментальных животных: а – большие нейроны с неоднородной структурой хромотофильного вещества; в – средние и большие нейроны с очагами хромотолиза, вакуолизацией ядер с неравномерным распределением конденсированного хроматина; с, d – наименее измененные большие нейроны (стрелка – дендритные ветвления в Оп-подслое внутреннего сетчатого слоя).

Окр. гематоксилиномиеозином. Ув. 10×100 (иммерс).

Fig. 3. Polymorphous changes of ganglion neurones in glaucomatous animals: a – large cells with nonhomogenous chromophilic substance, b – medium and large cells with focal chromatolysis, c, d – minimally changed cells (arrow – dendritic branches in on-sublayer of the inner plexiform layer). Hem&eosinstain. Magnification 10×100 (oilimmers)

Заключение. Результаты выполненного исследования свидетельствуют, что при использованной модели с достиженни-

ем приведенных величин повышения внутриглазного давления в сетчатке развиваются электрофизиологические и морфо-

логические изменения ганглионарных нейронов, соответствующие глаукомной оптической нейропатии. Это делает возможным использование данной модели для воспроизведения одного из ведущих патогенетических механизмов глаукомного процесса – внутриглазной гипертензии, с целью клинически экстраполируемого исследования путей фармакологической коррекции развивающихся изменений и нейропротекции. Значимым и перспективным для дальнейших исследований представляются сосудистый и метаболический (эксайтотоксичность) компоненты патогенеза, а также проявления, механизмы и возможности нейрональной пластичности в естественных и фармакологически скорректированных условиях.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Егоров ЕА, Куроедов АВ. Отдельные клинико-эпидемиологические характеристики глаукомы в странах СНГ и Грузии. Результаты многоцентрового открытого ретроспективного исследования (ч. 2). РМЖ. Клиническая офтальмология. 2012;1:19-23.
2. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. *British Journal of Ophthalmology*. 1996;80(5):389-393. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bjo.80.5.389>
3. Еричев ВП. О патогенезе первичной открытоугольной глаукомы. *Вестник Офтальмологии*. 2014;130(6):98-105.
4. Курышева НИ. Сосудистая теория патогенеза глаукомной оптиконейропатии: основные аспекты, формирующие сосудистую теорию патогенеза глаукомы. Часть 3. Национальный журнал глаукома. 2018;17(1):101-112. DOI: <https://doi.org/10.25700/NJG.2018.01.10>
5. Нестеров АП. Патогенез первичной открытоугольной глаукомы: какая концепция более правомерна. *Офтальмологические ведомости*. 2008;1(4):63-67.
6. Lestak J, Bartosova L, Jiraskova N, et al. Ganglion cell complex depending on the intraocular pressure. *Wulfenia*. 2016;23(8):270-275.
7. Аветисов СЭ, Еричев ВП, Яременко ТВ. Обоснование нейропротекции при глаукоме. *Национальный журнал глаукома*. 2019;18(1):85-94. DOI: <https://doi.org/10.25700/NJG.2019.01.10>
8. Габашвили АН, Еричев ВП, Нестерова ТВ, и др. Ганглиозные клетки сетчатки: возможности нейропротекции при глаукоме. *Национальный журнал глаукома*. 2017;16(2):74-81.
9. García-Campos J, Villena A, Díaz F, et al. Morphological and functional changes in experimental ocular hypertension and role of neuroprotective drugs. *Histology and Histopathology*. 2007;22(12):1399-1411. DOI: <https://doi.org/10.14670/HH-22.1399>
10. Лоскутов ИА, Саверская ЕН, Лоскутова ЕИ. Ретинопротекция как терапевтическая стратегия глаукомы: обзор исторических и современных мировых тенденций. *Национальный журнал глаукома*. 2017;16(4):86-97.
11. Газизова ИР, Алексеев ВН, Никитин ДН. Экспериментальное воспроизведение глаукомного процесса. *Офтальмологические ведомости*. 2013;6(3):43-50. DOI: <https://doi.org/10.17816/OV2013343-50>
12. Петров СЮ, Суббот АМ, Габашвили АН, и др. Способы моделирования глаукомной оптической нейропатии в эксперименте на крысах. *Национальный журнал глаукома*. 2017;16(4):79-85.
13. Ishikawa M, Yoshitomi T, ZorumskiChF, et al. Experimentally induced mammalian models of glaucoma. *BioMed Research International*. 2015;2015:281214. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/281214>
14. Зуева МВ. Динамика гибели ганглиозных клеток сетчатки при глаукоме и ее функциональные маркеры. *Национальный журнал глаукома*. 2016;15(1):70-85.
15. Glovinsky Y, Quigley HA, Dunkelberger GR. Retinal ganglion cell loss is size dependent in experimental glaucoma. *Investigative*

Ophthalmology and Visual Science. 1991;32(3):184-91.

16. Morgan JE. Selective cell death in glaucoma: does it really occur? *British Journal of Ophthalmology*. 1994;78(11):875-879. DOI: <https://doi.org/10.1136/bjo.78.11.875>

17. Sappington RM, Carlson BJ, Crish SD, et al. The Microbead Occlusion Model: A Paradigm for Induced Ocular Hypertension in Rats and Mice. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2010;51(1):207-216. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.09-3947>

18. Weber AJ, Kaufman PL, Hubbard WC. Morphology of Single Ganglion Cells in the Glaucomatous Primate Retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1998;39(12):2304-2320.

19. Nakagawa A, Sakai O, Tokushige H, et al. Development and characterization of a new rat ocular hypertension model induced by intracameral injection of conjunctival fibroblasts. *Scientific Reports*. 2019;9:6593. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43048-2>

20. Belforte N, Sande P, de Zavalía N, et al. Effect of Chondroitin Sulfate on Intraocular Pressure in Rats. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2010;51(11):5768-5775. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.10-5660>

21. Benozzi J, Nahum LP, Campanelli JL, et al. Effect of Hyaluronic Acid on Intraocular Pressure in Rats. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2002;43:2196-2200.

22. Moreno MC, Marcos HJA, Croxatto JO, et al. A new experimental model of glaucoma in rats through intracameral injections of hyaluronic acid. *Experimental Eye Research*. 2005;81(1):71-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.01.008>

23. Shabelnikova AS, Peresyphkina AA, Pokrovskii MV, et al. Pharmacological preconditioning by recombinant erythropoietin – a new way of treatment of retinal ischemia/reperfusion. *International Journal of Pharmacy and Technology*. 2016;8(4):26889-26896.

24. Urcola JH, Hernández M, Vecino E. Three experimental glaucoma models in rats: Comparison of the effects of intraocular pressure elevation on retinal ganglion cell size and death. *Experimental Eye Research*. 2006;83(2):429-437. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2006.01.025>

25. Ahmed FA, Chaudhary P, Sharma SC. Effects of increased intraocular pressure on rat retinal ganglion cells. *International Journal of De-*

velopmental Neuroscience. 2001;19:209-218. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0736-5748\(00\)00073-3](https://doi.org/10.1016/s0736-5748(00)00073-3)

References

1. Egorov EA, Kuroedov AV. Separate clinical and epidemiological characteristics of glaucoma in the CIS countries and Georgia. The results of a multicenter open retrospective study (part 2). *Russian Medical Journal. Clinical Ophthalmology*. 2012;1:19-23. Russian.

2. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. *British Journal of Ophthalmology*. 1996;80(5):389-393. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bjo.80.5.389>

3. Elichev VP. On the pathogenesis of primary open-angle glaucoma. *The Russian Annals of Ophthalmology*. 2014;130(6):98-105. Russian.

4. Kuryshva NI. Vascular theory of the glaucomatous optic neuropathy pathogenesis: the leading concepts of vascular theory. Part 3. *National Journal glaucoma*. 2018;17(1):101-112. Russian. DOI: <https://doi.org/10.25700/NJG.2018.01.10>

5. Nesterov AP. The pathogenesis of primary open-angle glaucoma: which concept is more legitimate. *Ophthalmology journal*. 2008;1(4):63-67. Russian.

6. Lestak J, Bartosova L, Jiraskova N, et al. Ganglion cell complex depending on the intraocular pressure. *Wulfenia*. 2016;23(8):270-275.

7. Avetisov SE, Elichev VP, Yaremenko TV. Rationale for neuroprotection in glaucoma. *National Journal glaucoma*. 2019;18(1):85-94. Russian. DOI: <https://doi.org/10.25700/NJG.2019.01.10>

8. Gabashvili AN, Elichev VP, Nesterova TN, et al. Retinal ganglion cells: potentiality for neuroprotective glaucoma treatment. *National Journal glaucoma*. 2017;16(2):74-81. Russian.

9. García-Campos J, Villena A, Díaz F, et al. Morphological and functional changes in experimental ocular hypertension and role of neuroprotective drugs. *Histology and Histopathology*. 2007;22(12):1399-1411. DOI: <https://doi.org/10.14670/HH-22.1399>

10. Loskutov IA, Saverskaya EN, Loskutova EI. A review of the historical context and emerging trends in relation to retinoprotection as a therapeutic strategy for glaucoma. *National Journal glaucoma*. 2017;16(4):86-97. Russian.

11. Gazizova IR, Alekseev VN, Nikitin DN. Experimental reproduction of the glaucoma

process. *Ophthalmology journal*. 2013;6(3):43-50. Russian. DOI:

<https://doi.org/10.17816/OV2013343-50>

12. Petrov SY, Subbot AM, Gabashvili AN, et al. Rat models of glaucomatous optic neuropathy. *National Journal glaucoma*. 2017;16(4):79-85. Russian.

13. Ishikawa M, Yoshitomi T, ZorumskiChF, et al. Experimentally induced mammalian models of glaucoma. *BioMed Research International*. 2015;2015:281214. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/281214>

14. Zueva MV. Dynamics of retinal ganglion cell death in glaucoma and its functional markers. *National Journal glaucoma*. 2016;15(1):70-85. Russian.

15. Glovinsky Y, Quigley HA, Dunkelberger GR. Retinal ganglion cell loss is size dependent in experimental glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1991;32(3):184-91.

16. Morgan JE. Selective cell death in glaucoma: does it really occur? *British Journal of Ophthalmology*. 1994;78(11):875-879. DOI: <https://doi.org/10.1136/bjo.78.11.875>

17. Sappington RM, Carlson BJ, Crish SD, et al. The Microbead Occlusion Model: A Paradigm for Induced Ocular Hypertension in Rats and Mice. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2010;51(1):207-216. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.09-3947>

18. Weber AJ, Kaufman PL, Hubbard WC. Morphology of Single Ganglion Cells in the Glaucomatous Primate Retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1998;39(12):2304-2320.

19. Nakagawa A, Sakai O, Tokushige H, et al. Development and characterization of a new rat ocular hypertension model induced by intracameral injection of conjunctival fibroblasts. *Scientific Reports*. 2019;9:6593. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43048-2>

20. Belforte N, Sande P, de Zavalía N, et al. Effect of Chondroitin Sulfate on Intraocular Pressure in Rats. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2010;51(11):5768-5775. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.10-5660>

21. Benozzi J, Nahum LP, Campanelli JL, et al. Effect of Hyaluronic Acid on Intraocular Pressure in Rats. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2002;43:2196-2200.

22. Moreno MC, Marcos HJA, Croxatto JO, et al. A new experimental model of glaucoma in rats through intracameral injections of hyalu-

ronic acid. *Experimental Eye Research*. 2005;81(1):71-80. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.01.008>

23. Shabelnikova AS, Peresyphkina AA, Pokrovskii MV, et al. Pharmacological preconditioning by recombinant erythropoietin – a new way of treatment of retinal ischemia/reperfusion. *International Journal of Pharmacy and Technology*. 2016;8(4):26889-26896.

24. Urcola JH, Hernández M, Vecino E. Three experimental glaucoma models in rats: Comparison of the effects of intraocular pressure elevation on retinal ganglion cell size and death. *Experimental Eye Research*. 2006;83(2):429-437. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2006.01.025>

25. Ahmed FA, Chaudhary P, Sharma SC. Effects of increased intraocular pressure on rat retinal ganglion cells. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2001;19:209-218. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0736-5748\(00\)00073-3](https://doi.org/10.1016/s0736-5748(00)00073-3)

Статья поступила в редакцию 28 февраля 2020 г.

Поступила после доработки 1 июня 2020 г.

Принята к печати 15 августа 2020 г.

Received 28 February 2020

Revised 1 June 2020

Accepted 15 August 2020

Информация об авторах

Александр Анатольевич Должиков, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры анатомии и гистологии человека, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: dolzhikov@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0001-7425-8416.

Анна Сергеевна Победа, кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: pobeda@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0002-0541-8946.

Ольга Александровна Шевченко, клинический ординатор кафедры иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, ORCID: 0000-0003-4881-6378.

Ирина Николаевна Должикова, кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, E-mail: dolzhikova@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0001-9534-2959.

Information about the authors

Aleksandr A. Dolzhikov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Professor at the Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: dolzhikov@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0001-7425-8416.

Anna S. Pobeda, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: pobeda@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0002-0541-8946.

Olga A. Shevchenko, Clinical Resident at the Department of Immunology, Allergology and Phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, ORCID: 0000-0003-4881-6378.

Irina N. Dolzhikova, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, E-mail: dolzhikova@bsu.edu.ru, ORCID: 0000-0001-9534-2959.