

THE CONTENT OF PROSTACYCLIN AND THROMBOXANE IN THE INTRAOCULAR FLUIDS AND ITS INFLUENCE ON THE FREQUENCY OF MACULAR EDEMA AFTER SURGICAL TREATMENT OF AGE-RELATED CATARACTS

I. N. Bezkorovaina, I. S. Steblovska

HSEI «Ukrainian medical stomatological Academy» of the Ministry of Public Health of Ukraine
Poltava, Ukraine

Despite the achievements in modern cataract surgery, poor postoperative results in some patients don't lose its relevance through the development of edema of the macular area of the retina. Therefore, the aim of the study was to examine the state of the system prostacyclin / tromboxan in the intraocular fluids and its influence on the nature and incidence of macular edema after phacoemulsification of cataract. We determined the threshold levels of thromboxane and prostacyclin and their correlation coefficient that develops macular edema.

Key words: *age-related cataract, surgical treatment, macular edema, prostacyclin, thromboxane.*

Стаття надійшла до редакції 15.11.2017 р.

***Н. В. Войтенко¹, С. А. Рыков², И. В. Шаргородская², К. С. Агашков¹,
М. Е. Краснякова¹, Н. С. Николайчук³, О. А. Рыбачук¹,
Е. Ю. Забенько¹, А. В. Дромарецкий¹***

¹ Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины
– г. Киев, Украина,

² Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика МЗ Украины
– г. Киев, Украина,

³ Киевская городская клиническая офтальмологическая больница
«Центр микрохирургии глаза» МЗ Украины
– г. Киев, Украина

УДК 617.7–007.681:612.13–073

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВИТАЛЬНОСТИ ГАНГЛИОНАРНЫХ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ НИЗКОГО ДАВЛЕНИЯ У КРЫС: ЭФФЕКТ ТЕРАПИИ ПОЛЯРИЗОВАННЫМ СВЕТОМ

Цель работы. Глаукома низкого давления (норматензивная глаукома) (ГНД) – это прогрессирующая нейропатия зрительного нерва без повышения внутриглазного давления, характеризующаяся сужением полей, снижением остроты зрения или развитием полной слепоты с атрофией дисков зрительно нерва. Целью данной работы было изучение витальности ганглионарных клеток сетчатки, которые поражаются при глаукоме, после их специфической идентификации.

Материалы и методы. Ганглионарные клетки сетчатки (ГКС) идентифицировались введением флуоресцентного красителя Fluogold в структуры, где заканчиваются аксоны этих клеток, а именно: *superior colliculi* среднего мозга. Экспериментальную глаукому низкого давления у крыс индуцировали путем повреждения зрительных нервов.

Результаты и их обсуждение. Предложена новая модель экспериментальной глаукомы низкого давления. Показано, что по сравнению с контрольными животными у крыс с экспериментальной глаукомой существенно уменьшается количество ганглионарных клеток сетчат-

ки. Анализ действия поляризованного света на ГКС в модели экспериментальной глаукомы у крыс выявил тенденцию к изменению количества ГКС в отличие от контроля.

Ключевые слова: глаукома низкого давления, ганглионарные клетки сетчатки, зрительный нерв, поляризованный зеленый свет, флуоресцентный краситель.

Перспективы дальнейшего поиска методов ранней субклинической диагностики глаукомы, которые помогли бы объяснить механизмы развития, выявления склонности к прогрессированию, оптимизировать методы лечения и определять результативность проводимой терапии этого патологического процесса, приводящего к глубокой инвалидизации и слепоте, с каждым годом становятся все актуальнее. Глаукома, как известно, – заболевание, характеризующееся снижением остроты зрения, изменениями головки зрительного нерва, увеличением экскавации диска зрительного нерва, что соответствует повреждению ганглионарных клеток сетчатки (ГКС) и обуславливает характерные нарушения в поле зрения под влиянием повышенного внутриглазного давления. Это – тяжелое, прогрессирующее заболевание и является первой в мире причиной необратимой слепоты [21].

Исторически сложилось так, что глаукома считается болезнью высокого внутриглазного давления. Однако в последнее время коренным образом изменились представления о патогенезе этого заболевания. Установлена возможность развития глаукомы при нормальном уровне внутриглазного давления. Глаукома низкого давления (норматензивная глаукома) – это прогрессирующая нейропатия зрительного нерва без повышения внутриглазного давления, характеризующаяся характерными изменениями диска зрительного нерва и сужением поля и остроты зрения вплоть до развития полной слепоты с атрофией дисков зрительно нерва. The Baltimore Eye Survey сообщает, что примерно половина всех пациентов с диагнозом первичной открытоугольной глаукомы имеет внутриглазное давление ниже 21 мм рт. ст. [25, 27]. Патологическая картина известна как *глаукома нормального давления* (ГНД), сам термин появился в научной медицинской литературе в XX веке [13] и продолжает фигурировать и на современном этапе. Статистически глаукома нормального давления составляет от 30 % до 40 % от всех пациентов с характерными для глаукомы дефектами полей зрения [27]. Согласно данным литературы [12], в европейских странах глаукома низкого давления составляет 20 % – 30 % от всех случаев глаукомы, а в Японии ГНД страдают 2 % населения, и у лиц в возрасте после 40 лет число случаев ГНД в 4 раза превышает число случаев глаукомы с высоким давлением.

Эволюционно зрительная система возникла благодаря существованию электромагнитных волн оптиче-

ского диапазона. Одним из его биотропных параметров является поляризованный свет. Свет называется поляризованным, если взаимно перпендикулярные векторы напряжения электрического и магнитного полей колеблются с постоянной во времени разностью фаз. Оно возникает при рассеянии солнечного света в пределах атмосферы и гидросферы, а также при отражении света от водных поверхностей, грунта, горных пород, растительности. Пайлер-свет – это линейный поляризованный некогерентный полихроматический свет с длиной волны 400–2000 нм.

Исследования и поиск новых методов лечения глаукомы нормального давления являются актуальным вопросом, ведь ранняя диагностика и скрининг этого заболевания крайне сложны. Необходим поиск новых методов лечения, так как несвоевременное и неэффективное лечение может иметь значительные негативные последствия для индивидуального и общественного здоровья. Для повышения эффективности лечения больных глаукомой низкого давления актуальным является изучение влияния пайлер-света.

Пайлер-терапия – лечебное применение поляризованного полихроматического некогерентного с низкой интенсивностью излучения света видимого и инфракрасного спектра. Начало современной светотерапии положил датский врач *Нильс Рибберг Финзен* более 100 лет назад. В 1903 году он был награжден Нобелевской премией (медицина) за достижения в лечении светом. Финзен создал первый аппарат, который генерировал свет, подобно солнечному, и получил выдающиеся результаты в лечении пациентов, страдающих волчанкой.

По данным *Вуено J.* [2], рецепторы сетчатки реагируют на поляризованный свет, в зрительной коре возникают вызванные потенциалы в ответ на стимуляцию сетчатки глаза поляризованным светом. Неизученным остается влияние поляризованного света при глаукоме нормального давления.

Материалы и методы. В опыт включены взрослые крысы линии Wistar, самцы массой тела 250–300 г. Для анестезии использовали ксилазин 10 мг/кг (Биовет–Пулави, Польша) и кетамин 60 мг/кг массы тела (Фармак, Украина). Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с нормами Комитета по биоэтике животных Института физиологии имени А. А. Богомольца и Национальной медицинской академии последипломного образования имени П. Л. Шупика (Киев, Украина) и соответствуют ди-

рективам европейской комиссии (86/609/ЕЕС). Были приложены все усилия для уменьшения страдания животных и для того, чтобы минимизировать их количество. При проведении всех манипуляций соблюдались условия асептики и антисептики.

Ретроградная маркировка ганглионарных клеток сетчатки. Одним из основных методов для визуализации ГКС является проведение стереотаксических инъекций при использовании ретроградного красителя Fluorogold 2 % (FG, Teromfisher scientific) [16, 23, 24] с последующей идентификацией с помощью флуоресцентной микроскопии [4, 13, 15, 26, 30]. Стереотаксические инъекции проводились с использованием следующего оборудования: стандартная рамка для стереотаксиса, держатель для головы крысы, индивидуально выполненный держатель для шприца, пинцет, микроножницы, иглодержатель и шприц Гамильтон (Hamilton). В ходе операции крысы были анестезированы интраперитонеально смесью кетамина и ксилазина, животные проверялись на наличие арефлексии к болевому стимулу. Кожа в теменной области была очищена от шерсти, и животное было закреплено в рамку стереотаксиса. Защитные глазные капли закапывались в каждый глаз для предотвращения пересыхания в течение операции. Затылочный участок был обработан 70 % спиртом и раствором повидон-йода. Кожа рассекалась продольно в проекции сагиттального шва, что позволяет визуализировать структуры черепа и соответствующие ориентиры (сагиттальный шов, брегма, лямбдовидный шов, затылочный шов). Рана обрабатывалась салфеткой, смоченной в 3 %-ом растворе перекиси водорода. После идентификации брегмы superior colliculus (SC) – верхний, или зрительный, бугорок четверохолмия – определялся согласно атласу [19] по координатам: -6.5mm AP ; 1.2mm ML ; 3.5mm DV с каждой стороны гемисфер. Трепанационные отверстия черепа делались с обеих сторон в соответствии с этими координатами. С помощью микровинта и шприца Гамильтон выполнялась инъекция FG в объеме 200 nL в superior colliculus в каждую гемисферу. Далее накладывались швы на рану, и кожа обрабатывалась раствором повидон-йода. После операции животных перемещали в сухую подогретую клетку и наблюдали за ними до восстановления их функций, после чего транспортировали в виварий. Краситель FG активно захватывается терминалями соответствующих аксонов, имеющих свойство синаптически переключаться в superior colliculus, и транспортируется к соматическим клеткам с помощью микровезикул, где и аккумулируются. На третьи сутки большинство ГКС становится FG положительными и могут быть использованы для дальнейшего исследования.

Индукция экспериментальной глаукомы низкого давления. Экспериментальная глаукома у крыс инду-

цировалась повреждением зрительных нервов [32]. Операция повреждения зрительного нерва проводилась на третьи сутки после инъекции 2 % раствора FG. Крысы анестезировались интраперитонеально смесью кетамина и ксилазина и проверялись на наличие арефлексии к болевому стимулу. Защитные глазные капли (Natrium hyaluronate) инсталлировались в каждый глаз для предотвращения пересыхания глаз в течение операции. Животные фиксировались под бинокулярным микроскопом, и латеральная канто-томия проводилась для доступа к заднему полюсу глазного яблока. Бульбарная конъюнктура в верхнем темпоральном участке осторожно фиксировалась микропинцетом и под углом 90° рассекалась микроножницами. Мягкие ткани осторожно разводились для предотвращения травмы сосудов и мышц. Зрительный нерв выделялся на расстоянии примерно 1 мм от заднего полюса глазного яблока, после чего на него накладывался самозажимающийся пинцет Dumont No.5 на 3 секунды. На конъюнктуру и на латеральный угол глаза накладывались швы. Повреждение зрительного нерва проводилось на обоих глазах. После операции животных перемещали в сухую подогретую клетку и наблюдали за ними до восстановления их функций, после чего транспортировали в виварий.

Апликация поляризованного света. На 1 сутки после проведения повреждения зрительного нерва и в течение следующих 10 дней ежедневно в одинаковое время использовали поляризованный свет с зеленым фильтром аппарата «Биоптрон» для изучения его действия при данных условиях. Животные фиксировались, левый глаз экранировался, и с расстояния 30 см в течение 3 минут проводилась терапия только правого глаза. Опыты проходили в затемненной комнате при отсутствии воздействия прямого естественного и искусственного освещения, после чего животные возвращались в виварий.

Морфологические исследования. Через сутки после последнего сеанса в 10-дневном курсе животные были исключены из эксперимента путем эвтаназии с использованием диэтилового эфира и дислокации шейного отдела спинного мозга. Глаза были энуклеированы и перемещены в камеру с раствором Рингера, который состоял (в миллимолях): NaCl 115, KCl₃, CaCl₂ 2, MgCl₂ 1, NaH₂PO₄ 1, NaHCO₃ 25, глюкоза 11, раствор был насыщен смесью 95 % O₂ и 5 % CO₂. В этом растворе сетчатка с каждого глаза отпрепарировывалась и делались декомпрессионные разрезы, после чего они сразу фиксировались охлажденным раствором 4 % параформальдегида в течение 1 часа. В дальнейшем ткань сетчатки отмывали охлажденным раствором 0.1 м фосфатного буфера и фиксировали стеклом в специальной среде для флуоресцентных препаратов (Sigma, США). Оптические исследования

проводили с помощью конфокального микроскопа FluoView™ FV1000 (Olympus Inc., Япония) с цифровой фотокамерой, совмещенной с компьютером. Количество FG-положительных клеток в ткани сетчатки в норме и после моделирования глаукомы подсчитывали в пределах прямоугольной зоны фиксированного размера – 0,4 мм². Подсчеты FG-положительных клеток проводились по конфокальным снимкам с помощью программы для исчисления клеток в конфокальных изображениях. Для проведения исследования была разработана специальная программа на языке Python с использованием программных библиотек Scikit-Image, Numpy, OpenCV2, Matplotlib.

Сразу после проведения энуклеации проводилась трепанация черепа и удаление головного мозга крысы, который сразу фиксировали охлажденным раствором 4 % параформальдегида в течение 1 часа. В дальнейшем ткань головного мозга отмывали охлажденным раствором 0,1 мл фосфатного буфера. Через некоторое время с помощью вибратора (Cempdel, Великобритания) делали коронарные срезы головного мозга толщиной 200 мкм, и соответственно методике, описанной выше, проводилась оценка и качество проведения стереотаксических инъекций.

Статистический анализ полученных данных. Обработка статистических данных проводилась в программе Windows Microsoft Excel 2010. Полученные результаты обрабатывались методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Подсчеты FG-положительных клеток проводились по конфокальным снимкам с помощью программы для пересчета клеток в конфокальных изображениях. Программа написана на языке Python с использованием программных библиотек Scikit-Image, Numpy, OpenCV2, Matplotlib.

Результаты и их обсуждение. *Ретроградная маркировка ганглионарных клеток сетчатки.* Изучение ГКС, которые поражаются при глаукоме, возможно только после их специфической идентификации. Одним из основных методов для визуализации большинства ГКС является их отслеживание с помощью введения красителя в структуры, где заканчиваются аксоны этих клеток, а именно: superior colliculi среднего мозга [16, 23, 24]. Для этих целей мы выполняли стереотаксические инъекции с использованием специфического ретроградного красителя FG. Он активно захватывается терминалями соответствующих аксонов и транспортируется к соматическим клеткам, где и аккумулируется. После этого с помощью флуоресцентной микроскопии можно четко идентифицировать популяцию ГКС. Такая идентификация является высокоспецифичной [4, 14, 15, 26, 30].

При проведении анализа конфокальных снимков коронарных срезов головного мозга крыс был установлен флуоресцентный ответ, соответствующий

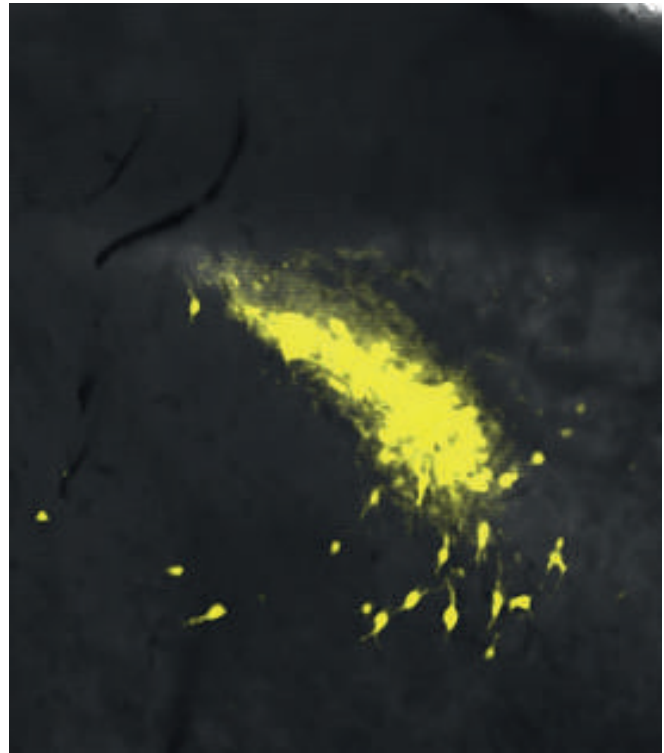


Рис. 1. Визуализация красителя Fluorogold в superior colliculi среднего мозга

участку красителя FG, что дает основание для дальнейшей идентификации ГКС.

Влияние поляризованного света на ГКС. Для оценки влияния поляризованного света на ГКС использовали группу животных (n=6), которым было проведено ретроградное мечение путем введения FG в superior colliculi каждой гемисферы. На третьи сутки каждое животное получало терапию поляризованным светом с зеленым фильтром при помощи аппарата «Биоптрон». Левый глаз экранировался, а на правый глаз проводилась экспозиция света в течение 3 мин с расстояния 30 см. После 10 сеансов терапии животные выводились из эксперимента, проводился подсчет количества FG-положительных клеток и статистическая обработка результатов. Подсчеты FG-положительных клеток проводились с помощью программы для перечисления клеток в конфокальных изображениях (рис. 2).

Каждое конфокальное изображение обрабатывалось по следующему алгоритму: пространственная низкочастотная фильтрация для устранения низкочастотных градиентов; пространственная высокочастотная фильтрация для устранения пространственных шумов; перевод изображения в черно-белое представление; удаление слишком больших или слишком маленьких пятен сегментации изображения и подсчет клеток (рис. 3).

Сравнение количества ГКС левого и правого глаза не выявило достоверной разницы между этими двумя группами, хотя наблюдалась положительная тенденция увеличения ГКС под влиянием терапии поляри-

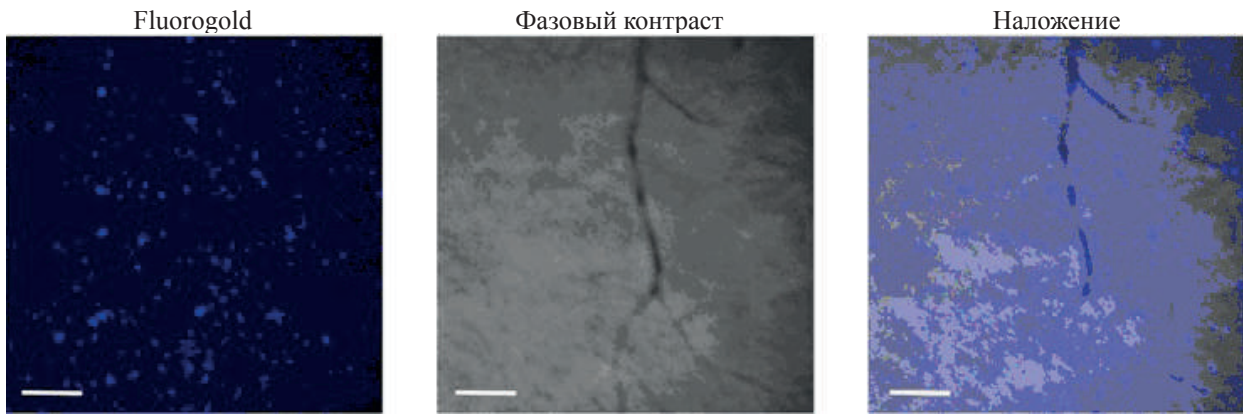


Рис. 2. Визуализация ретроградно маркированных ганглионарных клеток сетчатки при экспериментальной глаукоме низкого давления у крыс

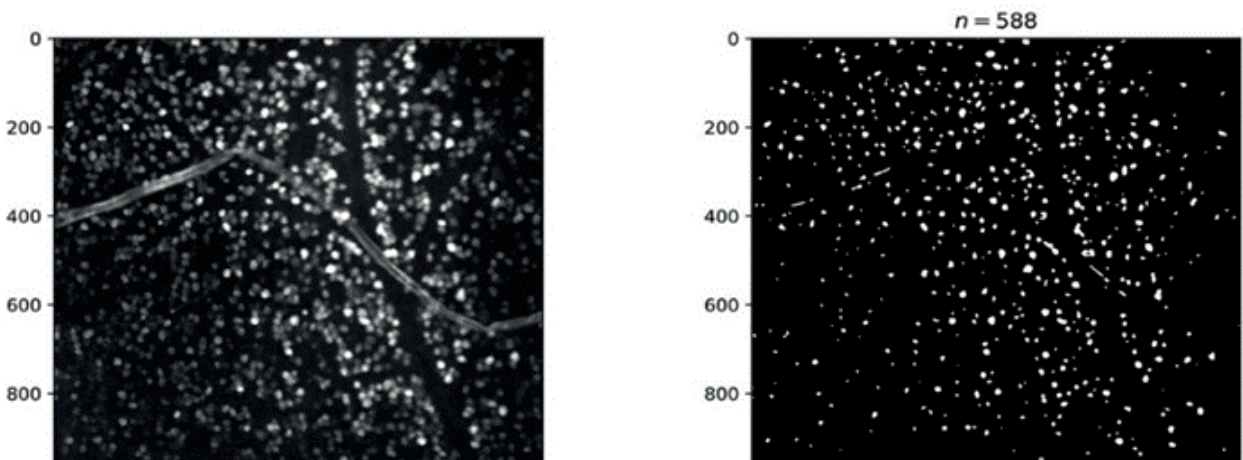


Рис. 3. Подсчет FG-положительных клеток по конфокальным снимкам с помощью программы для исчисления клеток в конфокальных изображениях

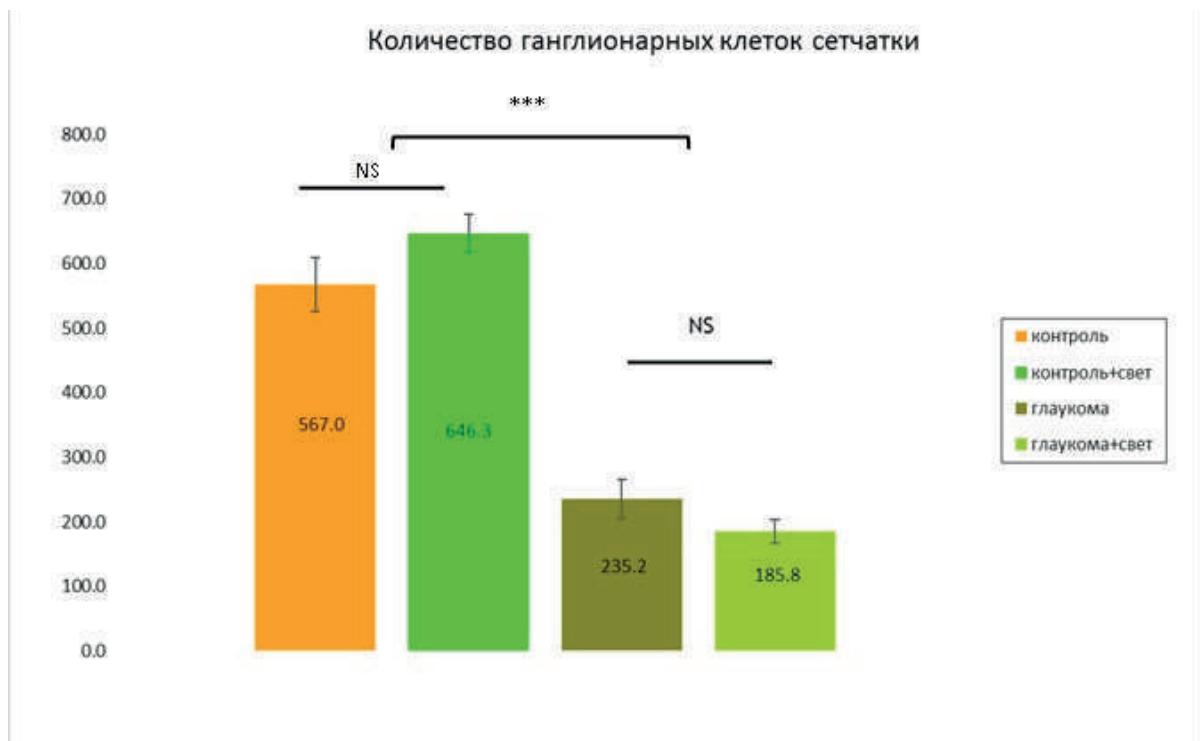


Рис. 4. Количество идентифицированных ганглионарных клеток сетчатки в контроле, при воздействии зеленого поляризованного света, при глаукоме и при воздействии зеленого поляризованного света на сетчатку с экспериментальной глаукомой

зованным зеленым светом (рис. 4). Среднее значение количества клеток в контрольных образцах сетчатки, полученных от крыс с глаукомой низкого давления, было 567.0 ± 42.2 , в то время как среднее значение количества клеток в сетчатке, подлежащей воздействию поляризованного света, было 646.3 ± 29.3 ($p=0.269$). Результаты данного эксперимента показывают, что выбранные протоколы воздействия поляризованного зеленого света на здоровый глаз не являются токсичными и вредными и могут быть использованы в дальнейшем исследовании лечения экспериментальной глаукомы у крыс.

В работах *Karu T. I.* и соавторов [9, 10] высказывается гипотеза о том, что цитохромоксидаза – фермент, который катализирует перенос электронов с цитохрома С на молекулы кислорода на финальном этапе дыхательной цепи внутри митохондрий – выполняет роль первичного фоторецептора. В дальнейшем эта гипотеза продолжала изучаться и неоднократно подтверждалась [8, 9, 29]. Группа ученых из Медицинского колледжа Висконсина [3] в своем исследовании продемонстрировала, что светодиодная фотостимуляция глаза индуцирует каскад сигнальных событий, инициированных начальным поглощением света цитохромоксидазой. Эти сигнальные события могут включать активацию ближайших ранних генов, факторов транскрипции, экспрессии гена субъединицы цитохромоксидазы и многих других ферментов и путей, связанных с повышенным окислительным метаболизмом [11, 28, 31]. Кроме увеличения окислительного метаболизма, как известно, стимуляция митохондриального электронного переноса способствует увеличению образования активных форм кислорода [11]. Эти митохондриально образованные реактивные виды кислорода могут функционировать как сигнальные молекулы для обеспечения связи между митохондриями, цитозолем и ядром, и таким образом играют важную сигнальную роль в активации ретинопротекторных процессов после влияния света, что подтверждалось улучшением зрения [31].

Стимуляция цитохромоксидазы с помощью света может приводить к повышению энергетического обмена в митохондриях, повышению уровня метаболизма внутри клетки, активировать пролиферацию и миграцию клеток [5, 18]. Таким образом в данном случае положительная тенденция к увеличению ганглионарных клеток в сетчатке может быть следствием стимуляции цитохромоксидазы поляризованным светом.

Развитие глаукомы низкого давления и влияние на ГКС у крыс. На третьи сутки после проведения ретроградного окрашивания ГКС в группе крыс ($n=7$) было выполнено травматическое повреждение зрительного нерва на 1 мм от глазного яблока на обоих глазах. Через 24 часа после вмешательства каждое

животное получало терапию поляризованным светом с зеленым фильтром. Левый глаз экранировался, а на правый глаз проводилась экспозиция света в течение 3 мин с расстояния 30 см. После 10 сеансов терапии животные выводились из эксперимента и проводился подсчет количества FG-положительных клеток и статистическая обработка результатов.

Обработка результатов проводилась как описано выше и продемонстрировала существенное достоверное уменьшение количества ганглионарных клеток при экспериментальной глаукоме в соответствии с контролем. Среднее значение количества клеток в сетчатках, полученных от крыс с глаукомой низкого давления, было 235.2 ± 29.9 , в то время как среднее значение количества клеток в контрольных сетчатках было 567.0 ± 42.22 ($p \leq 0.0003$).

Повреждения оптического нерва – одна из классических методик изучения механизмов развития глаукомы, а именно – гибели ГКС и потери зрения [26]. За развитием данного состояния стоят различные механизмы. Учитывая тот факт, что глаза – это иммунокомпетентный орган, защищенный от воздействия периферических иммунных клеток, можно предположить, что в результате травмы происходит активация микроглии сетчатки, астроцитов и клеток Мюллера, которые синтезируют различные провоспалительные медиаторы (глутамат-d-серин, нитрит азота, фактор некроза опухолей), в результате чего и происходит повреждение ГКС [6, 17, 20]. Также при развитии глаукомы описана дисфункция митохондрий [22], в результате этого нарушается окислительное фосфорилирование и обмен энергии в клетке с накоплением реактивных соединений кислорода, нарушается работа цитохрома С, активируются проапоптотические медиаторы и, наконец, запускаются механизмы апоптоза, в результате чего происходит гибель клеток сетчатки.

Влияние поляризованного света ГКС при глаукоме. Анализ действия поляризованного света на ГКС в модели глаукомы низкого давления у крыс не показал существенных различий, хотя наблюдалась тенденция уменьшения ГКС под влиянием терапии поляризованным зеленым светом. Среднее значение количества клеток в сетчатке, полученных от крыс с глаукомой низкого давления, было 235.2 ± 29.9 . В то же время среднее значение количества клеток в сетчатке крыс с глаукомой, которые подвергались воздействию поляризованного света, было 185.8 ± 18.5 ($p=0.096$).

По данным *Kalesnykas G.* [7], после проведения повреждения оптического нерва происходят значительные изменения в морфологии ГКС, а именно: снижение флуоресцентного сигнала от ГКС, а также оставшиеся уменьшения длины дендритов и степени их разветвления по сравнению с контролем. На 9

сутки после повреждения оптического нерва почти все аксоны отсутствовали или имели дегенеративные изменения, и оставалось примерно 36 % ганглионарных клеток по сравнению с контролем.

Сопоставляя данные литературы и результаты наших исследований, следует отметить, что получен очень похожий результат – 34 %-е уменьшение количества ГКС при глаукоме по сравнению с контрольными образцами сетчатки.

Кроме того, другие исследователи [3] сообщают о положительном влиянии красного и инфракрасного света на восстановление клеток сетчатки после травмы зрительного нерва.

Результаты проведенного экспериментального исследования показали перспективность дальнейших исследований в направлении изучения влияния поляризованного света при глаукоме нормального давления в клинике. Однако протокол терапии по времени и дозе применяемого лечения требует дальнейшего усовершенствования при экстраполяции в клинических условиях.

Выводы

Предложена новая модель экспериментальной глаукомы низкого давления. Установлена тенденция влияния поляризованного света на ГКС при экспериментальной глаукоме. Биологическое действие энергии света реализуется путем фотохимической трансформации в митохондриях через взаимодействие цитохромоксидазы и влияет на энергетические процессы внутри клетки, на обезвреживание реактивных соединений кислорода, пролиферацию, миграцию клеток. В целом это позволяет в дальнейшем изучать свойства влияния света на биологические процессы внутри клеток и рассматривать его как перспективное направление в развитии альтернативной терапии заболеваний сетчатки.

Литература

1. *Barron K. D.* Qualitative and quantitative ultrastructural observations on retinal ganglion cell layer of rat after intraorbital optic nerve crush / K. D. Barron, M. P. Dentinger, G. Krohel [et al.] // *J Neurocytol.* – 1986. – Vol. 15. – P. 345–362.
2. *Bueno J.* Polarization and retinal image quality estimates in the human eye / J. Bueno // *Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis.* – 2001. – Vol. 18 (3). – P. 489–496.
3. *Eells J. T.* Therapeutic photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity / J. T. Eells, M. M. Henry, P. Summerfelt [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2003. – Vol. 100 (6). – P. 3439–3444.
4. *Fisher J.* Vaccination for neuroprotection in the mouse optic nerve: implications for optic neuropathies / J. Fisher // *J Neurosci.* – 2001. – Vol. 21. – P. 136–142.
5. *Hamblin M. R.* Mechanisms of low level light therapy / M. R. Hamblin, T. N. Demidova // *Proc of Spie.* – 2006. – Vol. 6140 (6). – P. 1–12.
6. *Inman D. M.* Reactive nonproliferative gliosis predominates in a chronic model of glaucoma / D. M. Inman, P. J. Horner // *Glia.* – 2007. – Vol. 55. – P. 942–953. – DOI: 10.1002/glia.20516.
7. *Kalesnykas G.* Retinal ganglion cell morphology after optic nerve crush and experimental glaucoma / G. Kalesnykas, E. N. Oglesby, D. J. Zack [et al.] // *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* – 2012. – Vol. 53 (7). – P. 3847–3857. – DOI: 10.1167/iovs.12–9712.
8. *Karu T. I.* A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation / T. I. Karu, L. V. Pyatibrat, N. I. Afanasyeva // *Photochem Photobiol.* – 2004. – Vol. 80 (2). – P. 366–372.
9. *Karu T. I.* Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: reduction of cytochrome oxidase under near IR radiation / T. I. Karu, L. V. Pyatibrat, S. F. Kolyakov, N. I. Afanasyeva // *J Photochem Photobiol B.* – 2005. – Vol. 81 (2). – P. 98–106.
10. *Karu T. I.* Photobiology of Low-Power Laser Therapy / T. I. Karu // United Kingdom: The Universities Press (Belfast) Ltd. – 1989.
11. *Karu T. J.* Primary and Secondary mechanisms of action on visible to near-IR Radiation on cells / T. J. Karu // *Photochem Photobiol.* – 1999. – Vol. 49. – P. 1–17.
12. *Levene R. Z.* Low tension glaucoma: a critical review and new material / R. Z. Levene // *Surv Ophthalmol.* – 1980. – Vol. 24 (6). – P. 621–664.
13. *Levine R. Z.* Low-tension glaucoma: A critical review and new material / R. Z. Levine // *Surv Ophthalmol.* – 1980. – Vol. 24. – P. 621–663.
14. *Levkovitch-Verbin H.* RGC death in mice after optic nerve crush injury: oxidative stress and neuroprotection / H. Levkovitch-Verbin // *Investigative ophthalmology & visual science.* – 2000. – Vol. 41. – P. 4169–4174.
15. *Li Y.* VEGF-B inhibits apoptosis via VEGFR-1-mediated suppression of the expression of BH3-only protein genes in mice and rats / Y. Li // *The Journal of clinical investigation.* – 2008. – Vol. 118. – P. 913–923.
16. *Linden R.* Massive retinotectal projection in rats / R. Linden, V. H. Perry // *Brain Res.* – 1983. – Vol. 272. – P. 145–149.
17. *Liu S.* Tracking retinal microgliosis in models of retinal ganglion cell damage / S. Liu, Z. W. Li, R. N. Weinreb [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2012. – Vol. 53. – P. 6254–6262. – DOI: 10.1167/iovs.12–9450.

18. *Lovschall H.* Low level laser therapy effect on mitochondrial rodamine 123 uptake in human oral fibroblasts in vitro / H. Lovschall, D. Arenholt-Bindslev // *Lasers Life Sci.* – 1998. – Vol. 8. – P. 101–116.
19. *Paxinos G.* The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos. – Sydney: Academic Press. – 2008. – 400 p.
20. *Perez V. L.* The eye: a window to the soul of the immune system / V. L. Perez, A. M. Saed, Y. Tan [et al.] // *J Autoimmun.* – 2013. – Vol. 45. – P. 7–14. – DOI: 10.1016/j.jaut.2013.06.011.
21. *Quigley H. A.* The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020 / H. A. Quigley, A. T. Broman // *Br J Ophthalmol.* – 2006. – Vol. 90. – P. 262–267.
22. *Sadun A. A.* Mitochondrial optic neuropathies / A. A. Sadun // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2002. – Vol. 72. – P. 423–425.
23. *Salinas-Navarro M.* A computerized analysis of the entire retinal ganglion cell population and its spatial distribution in adult rats / M. Salinas-Navarro, S. Mayor-Torroglosa, M. Jimenez-Lopez [et al.] // *Vis. Res.* – 2009. – Vol. 49. – P. 115–126.
24. *Salinas-Navarro M.* Retinal ganglion cell population in adult albino and pigmented mice: a computerized analysis of the entire population and its spatial distribution / M. Salinas-Navarro, M. Jimenez-Lopez, F. J. Valiente-Soriano [et al.] // *Vis. Res.* – 2009. – Vol. 49. – P. 637–647.
25. *Sommer A.* Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Baltimore Eye Survey / A. Sommer, J. M. Tielsch, J. Katz [et al.] // *Arch Ophthalmol.* – 1991. – Vol. 109. – P. 1090–1095.
26. *Tang Z.* Survival effect of PDGF-CC rescues neurons from apoptosis in both brain and retina by regulating GSK3beta phosphorylation / Z. Tang // *The Journal of experimental medicine.* – 2010. – Vol. 207. – P. 867–880.
27. *Tielsch J. M.* A population based evaluation of glaucoma screening: The Baltimore Eye Survey / J. M. Tielsch, J. Katz, K. Singh [et al.] // *Am J Epidemiol.* – 1991. – Vol. 134. – P. 1102–1110.
28. *Wong-Riley M. T.* Light-emitting diode treatment reverses the effect of TTX on cytochrome oxidase in neurons / M. T. Wong-Riley, X. Bai, E. Buchmann, H. T. Whelan // *NeuroReport.* – 2001. – Vol. 12. – P. 3033–3037.
29. *Wong-Riley M. T.* Photobiomodulation directly benefits primary neurons functionally inactivated by toxins: role of cytochrome oxidase / M. T. Wong-Riley, H. L. Liang, J. T. Eells [et al.] // *J Biol Chem.* – 2005. – Vol. 280 (6). – P. 4761–4771.
30. *Yoles E.* GM1 reduces injury-induced metabolic deficits and degeneration in the rat optic nerve / E. Yoles // *Investigative ophthalmology & visual science.* – 1992. – Vol. 33. – P. 3586–3591.
31. *Zhang C.* Depolarization stimulation upregulates GA-binding protein in neurons: a transcription factor involved in the bigenic expression of cytochrome oxidase subunits / C. Zhang, M. Wong-Riley // *Eur J Neurosci.* – 2000. – Vol. 12. – P. 1013–1023.
32. *Zhongshu T.* Optic Nerve Crush Injury Murine Model to Study Retinal Ganglion Cell Survival / T. Zhongshu, Zh. Shuihua, Lee Chunsik [et al.] // *J Vis Exp.* – 2011. – Vol. 50. – P. 2685.

КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ ВІТАЛЬНОСТІ ГАНГЛІОНАРНИХ КЛІТИН СІТКІВКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГЛАУКОМІ НИЗЬКОГО ТИСКУ У ЩУРІВ: ЕФЕКТ ТЕРАПІЇ ПОЛЯРИЗОВАНИМ СВІТЛОМ

*Н. В. Войтенко, С. О. Риков, І. В. Шаргородська, К. С. Агашков, М. Є. Краснякова, Н. С. Ніколайчук,
О. А. Рибачук, Є. Ю. Забенько, А. В. Дромарецький*

Глаукома – захворювання, що характеризується зниженням гостроти зору, звуженням поля зору через пошкодження гангліонарних клітин сітківки під впливом підвищеного внутрішньоочного тиску. Вивчення гангліонарних клітин сітківки, які уражаються при глаукомі, можливе лише після їхньої специфічної ідентифікації. У даній роботі гангліонарні клітини сітківки ідентифікувалися введенням флуоресцентного барвника Fluorogold у структури, де закінчуються аксони цих клітин, а саме – в superior colliculi середнього мозку. Експериментальну глаукому низького тиску у щурів індукували шляхом пошкодження зорових нервів. Було виявлено, що у щурів з експериментальною глаукомою істотно зменшується кількість гангліонарних клітин сітківки (ГКС) у порівнянні з контрольними тваринами. Аналіз дії поляризованого світла в моделі експериментальної глаукоми низького тиску у щурів виявив тенденцію до зміни кількості ГКС на відміну від контролю.

Ключові слова: глаукома низького тиску, гангліонарні клітини сітківки, зоровий нерв, поляризоване зелене світло, флуоресцентний барвник.

QUANTITATIVE ANALYSIS OF VITALITY OF RETINAL GANGLION CELLS IN EXPERIMENTAL LOW-PRESSURE GLAUCOMA IN RATS: THE EFFECT OF POLARIZED LIGHT THERAPY

N. V. Voitenko¹, S. O. Rykov², I. V. Shargorodska², K. S. Agashkov¹, M. E. Krasniakova¹, N. S. Nikolaichuk³,
O. A. Rybachuk¹, E. Y. Zabenko¹, A. V. Dromaretsky¹

¹ Institute of Physiology named after O. O. Bogomoletz of NASU
Kyiv, Ukraine,

² National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupyk
of the Ministry of Public Health of Ukraine
Kyiv, Ukraine,

³ Kyiv City Clinical Ophthalmological Hospital “Eye Microsurgery Center”
of the Ministry of Public Health of Ukraine
Kyiv, Ukraine

Aim. Glaucoma is a disease characterized by a decrease in visual acuity, narrowing of the visual fields due to damage of retinal ganglion cells under the influence of increased intraocular pressure. Low-pressure glaucoma (normotensive glaucoma) is a progressive neuropathy of the optic nerve without an increase in intraocular pressure, characterized by narrowing of the fields, decreased visual acuity, or development of complete blindness with an atrophy of optic nerve discs. The aim of this study was to analyze the vitality of retinal ganglion cells, which are affected by glaucoma, after their specific identification.

Materials and methods. In this study, retinal ganglion cells were identified by the injection of the fluorescent dye Fluorogold into the structures where the axons of these cells terminate, namely, the *superior colliculi* of the midbrain. Experimental low-pressure glaucoma in rats was induced by damage to the optic nerves.

Results and discussion. Here, we shown that in rats with experimental glaucoma the amount of ganglion cells in the retina is significantly reduced in comparison with control animals. The analysis of the effect of polarized light on ganglionic cells of the retina in the model of experimental glaucoma in rats did not reveal any significant differences from the control.

Key words: *low-pressure glaucoma, retinal ganglion cells, optic nerve, polarized green light, fluorescent dye.*

Стаття надійшла до редакції 30.11.2017 р.

Н. В. Коновалова, Н. И. Храменко, Л. Н. Величко, А. Я. Новик

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии имени В. П. Филатова НАМН Украины»
– г. Одесса, Украина

УДК 617.723–002–022.6–085–07+577.11

УРОВЕНЬ ИНТЕРФЕРОНОВ α И γ В КРОВИ БОЛЬНЫХ УВЕИТАМИ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛЕЧЕНИЯ ПРЕПАРАТОМ АЛЛОКИН-АЛЬФА

Социальная значимость увеитов определяется высокой частотой встречаемости, преимущественным поражением лиц трудоспособного возраста, высокой частотой инвалидизации по зрению. В последнее время число увеитов вирусной этиологии значительно выросло. На основании изучения роли интерферонов в процессе лечения можно прогнозировать течение заболевания и прогнозировать исход и эффективность лечения.

Цель работы. Определение особенностей динамики интерферонов α и γ в крови больных увеитами вирусной этиологии и изучение их роли в клинической картине заболевания под влиянием лечения препаратом Аллокин-альфа.

Материалы и методы. Под наблюдением находился 61 пациент с острыми и хроническими передними и задними увеитами вирусной этиологии. Больные были обследованы офтальмо-