

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-3-112-117>



Изменение активности альфа-2-макроглобулина и содержания эндотелина в слезной жидкости при моделировании атрофии ретинального пигментного эпителия у кроликов

Н.В. Нероева, Н.Б. Чеснокова , Л.А. Катаргина, Т.А. Павленко, О.В. Безнос, П.А. Илюхин, О.А. Уткина

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

Цель работы — оценить возможность использования определения уровня альфа-2-макроглобулина (α_2 -МГ) и эндотелина-1 (ЭТ-1) в слезной жидкости (СЖ) для характеристики локальных метаболических сдвигов при моделировании атрофии ретинального пигментного эпителия (РПЭ). **Материал и методы.** Для воспроизведения модели атрофии РПЭ использовали 22 кролика породы новозеландский альбинос, которым в один глаз субретинально вводили бевацизумаб или физиологический раствор. Забор СЖ проводили до и через 3 мес после инъекции. Во второй серии эксперимента слезу забирали до и на 3, 14 и 21-е сутки после введения бевацизумаба. В СЖ определяли активность α_2 -МГ ферментативным методом и концентрацию ЭТ-1 методом иммуноферментного анализа. **Результаты.** В СЖ кроликов активность α_2 -МГ через 3 мес после введения бевацизумаба оставалась в пределах нормы, а после введения физиологического раствора была повышена в среднем вдвое. Содержание ЭТ-1 в СЖ кроликов на 3-и сутки после введения бевацизумаба достоверно увеличивалось как в оперированном, так и парном глазу более чем в 1,5 раза. **Заключение.** Субретинальное введение бевацизумаба не оказывает длительного повреждающего воздействия на сетчатку в отличие от введения физиологического раствора, которое ведет к повышению активности 2-МГ в слезе. Кратковременное увеличение содержания ЭТ-1 в слезе после введения бевацизумаба может свидетельствовать о повышении тонуса сосудов глаза в этот период. Исследование активности α_2 -МГ и содержания ЭТ-1 в СЖ может быть использовано для мониторинга локальных метаболических сдвигов при воспроизведении атрофии РПЭ, а также для оценки течения посттрансплантационного процесса и адекватности проводимой терапии.

Ключевые слова: альфа-2-макроглобулин; эндотелин-1; слезная жидкость; атрофия ретинального пигментного эпителия; бевацизумаб

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Для цитирования: Нероева Н.В., Чеснокова Н.Б., Катаргина Л.А., Павленко Т.А., Безнос О.В., Илюхин П.А., Уткина О.А. Изменение активности альфа-2-макроглобулина и содержания эндотелина в слезной жидкости при моделировании атрофии ретинального пигментного эпителия у кроликов. Российский офтальмологический журнал. 2022; 15 (3): 112-7. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-3-112-117>

Changes of alpha-2-macroglobulin activity in tear fluid in experimental retinal pigment epithelium atrophy of rabbits

Natalia V. Neroeva, Natalia B. Chesnokova ✉, Ludmila A. Katargina, Tatiana A. Pavlenko, Olga V. Beznos, Pavel A. Ilyukhin, Olga A. Utkina

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogriazskaya St., Moscow, 105062, Russia
nchesnokova2012@yandex.ru

Purpose. To assess the validity of alpha-2-macroglobulin (α_2 -MG) activity and endothelin-1 (ET-1) concentration for the characterization of local metabolic disorders in experimental retinal pigment epithelium atrophy (RPE). **Material and methods.** To reproduce RPE atrophy, 22 New Zealand Albino rabbits were given a subretinal injection of bevacizumab or saline. Tear fluid was collected before the injection and 3 months after it. In the second series of the experiment, tear fluid was also collected on the 3rd, 7th, 14th, 21st and 28th days after bevacizumab injection. Tear fluid was analyzed for the activity of α_2 -MG using the fermentation method and for ET-1 concentration by the immunoenzymatic method. **Results.** 3 months after bevacizumab injection, α_2 -MG activity in the tear remained normal, while after saline injection it was, on average, twice as high as the initial one. ET-1 concentration showed a significant increase of over 1.5 times on the 3rd day after bevacizumab injection both in the tear of the operated and the contralateral eyes. **Conclusion.** Subretinal bevacizumab injection had no significant lasting damaging effect on the retina, as opposed to saline injection that led to an increase of α_2 -MG activity in the tear. A transitory increase of ET-1 concentration in the tears after bevacizumab injection may indicate vascular tone elevation in the eye during this period. The study of α_2 -MG activity and ET-1 concentration in the tear may be used to monitor local metabolic shifts in experimental RPE atrophy development, as well as to assess the post-transplantation process and therapy adequacy.

Keywords: alpha-2-macroglobulin; endothelin-1; tear fluid; retinal pigment epithelium atrophy; bevacizumab

Conflict of interests: there is no conflict of interests.

Financial disclosure: no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

For citation: Neroeva N.V., Chesnokova N.B., Katargina L.A., Pavlenko T.A., Beznos O.V., Ilyukhin P.A., Utkina O.A. Changes of alpha-2-macroglobulin activity in tear fluid in experimental retinal pigment epithelium atrophy of rabbits. Russian ophthalmological journal. 2022; 15 (3): 112-7 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2022-15-3-112-117>

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) является наиболее распространенной причиной необратимой потери зрения у лиц старше 65 лет в развитых странах. Около 200 млн человек во всем мире страдают этим заболеванием, и на него приходится 9% всех случаев слепоты [1]. Основным фактором, приводящим к необратимой потере зрения при ВМД и других патологиях сетчатки, таких как пигментный ретинит, врожденные дистрофии сетчатки и др., является нарушение функционирования и атрофия клеток ретинального пигментного эпителия (РПЭ). Возможности терапии этих заболеваний крайне ограничены и не всегда приводят к положительным результатам. Большие перспективы открывает разработка методов пересадки РПЭ, и в настоящее время в этом направлении во всем мире проводится много исследований [2–4]. Плюрипотентные стволовые клетки, получаемые путем генетического репрограммирования дифференцированных клеток, можно дифференцировать в клетки пигментного эпителия сетчатки, что открывает возможности для клеточной терапии при атрофии РПЭ [5].

Для разработки метода пересадки РПЭ, помимо создания клеточной культуры, способной заменить пигментный эпителий, требуется воспроизвести адекватную модель атрофии РПЭ, доставить в область атрофии клетки и создать условия для их приживания. В последние годы с целью изучения данной патологии были предложены различные экспериментальные модели [6, 7].

В мировой офтальмологической практике широко применяется анти-VEGF-терапия, однако после нее могут возникать вторичные атрофические изменения РПЭ. В связи с этим представляется актуальным применение анти-VEGF-препаратов для моделирования атрофии РПЭ [2]. При моделировании атрофии РПЭ и пересадке клеток необходимо проводить оценку состояния сетчатки. Современные методы офтальмологического обследования (оптическая когерентная томография (ОКТ), ультразвуковые и электрофизиологические исследования) позволяют прижизненно неинвазивно выявлять тончайшие структурные и функциональные изменения в сетчатке. Однако этим изменениям предшествуют метаболические сдвиги, которые можно выявить с помощью исследования слезной жидкости (СЖ), получаемой неинвазивным путем и позволяющей оценивать динамику локального процесса в глазу на всех этапах. Нервная и гуморальная регуляция продукции СЖ находится в тесной взаимосвязи с регуляцией всех тканевых структур глаза, поэтому изменение метаболических процессов в СЖ отражает изменение метаболизма не только структур, омываемых ею, но и внутриглазных, в том числе сетчатки [8]. Исследование состава СЖ в качестве неинвазивного метода оценки течения послеоперационного процесса при моделировании атрофии РПЭ и прогноза возникновения осложнений после трансплантации клеток представляется перспективным и ранее не проводилось. В качестве биомаркеров для оценки течения указанных процессов нами были выбраны высокомолекулярные белки альфа-2-макроглобулина и эндотелина.

кулярный белок альфа 2-макроглобулин (α_2 -МГ) и пептид эндотелин-1 (ЭТ-1), присутствующие в СЖ.

Белок острой фазы воспаления α_2 -МГ участвует в регуляции множества физиологических процессов в норме и при патологии [9, 10]. Он обладает очень широким спектром действия благодаря способности блокировать активность протеолитических ферментов всех классов и выводить их из организма. Поэтому α_2 -МГ участвует в регуляции практически всех протеолитических каскадов в иммунной системе, системе гемостаза, ренин-ангиотензиновой, калликреин-кининовой системах и др. Этот белок связывает, транспортирует или удаляет множество соединений, включая цитокины, факторы роста, апополипротеины. Обладая шаперонной активностью, α_2 -МГ поддерживает правильную конфигурацию белков, предотвращая их агрегацию, которая происходит при патологических процессах, в том числе нейродегенеративных. Показано участие α_2 -МГ в регуляции метаболических процессов как в центральной нервной системе (ЦНС), так и сетчатке [11]. При нейродегенеративных заболеваниях ЦНС обнаружено увеличение содержания α_2 -МГ в биологических жидкостях: в спинномозговой жидкости при болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона [12, 13] и в СЖ при болезни Паркинсона [14]. Изменение уровня α_2 -МГ в этих биологических жидкостях рассматривается в качестве биомаркера нейродегенеративных заболеваний ЦНС и может быть использовано для контроля эффективности проводимой терапии [13].

ЭТ-1 — это олигопептид, который является самым сильным и продолжительным по действию из всех известных вазоконстрикторов. Помимо регуляции тонуса сосудов ЭТ-1 оказывает влияние на клеточную пролиферацию и миграцию, ангиогенез, апоптоз, на все звенья свертывающей системы крови, синтез коллагена, обеспечение нейроваскулярных взаимодействий и многие другие процессы, а также считается маркером повреждения эндотелия сосудов [15]. В сетчатке присутствуют все компоненты эндотелиновой системы, и изменение их содержания наблюдается практически при любой ретиальной патологии [16]. ЭТ-1 играет важную роль в ауторегуляции ретиальных сосудов и нейроваскулярных взаимодействиях, необходимых для обеспечения этого процесса, участвует в патогенезе дегенеративных процессов в сетчатке [17]. В условиях гипоксии ЭТ-1 ускоряет индуцированную глутаматом гибель нейронов сетчатки [18]. Повышение уровня ЭТ-1, происходящее при многих патологических процессах в сетчатке, является одним из важнейших патогенетических факторов, вызывающих апоптоз ганглиозных клеток. Ранее было показано, что концентрация ЭТ-1 в СЖ повышается при глаукоме и диабетической ретинопатии, при которых происходят нейродегенеративные процессы в сетчатке [19]. Обоснованием выбора ЭТ-1 в качестве биомаркера в настоящей работе послужили также данные о том, что интравитреальное введение антиангиогенных препаратов, нейтрализующих действие VEGF, вызывает увеличение содержания ЭТ-1 в водянистой влаге [20]. Кроме того, показано, что увеличение содержания ЭТ-1 в крови является надежным индикатором наличия васкулопатии аллотрансплантата при пересадке сердца [21].

ЦЕЛЬ работы — оценить возможность использования определения уровня α_2 -МГ и ЭТ-1 в СЖ для характеристики состояния сетчатки экспериментальных животных с различными моделями атрофии РПЭ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 22 кролика (44 глаза) породы новозеландский альбинос (самцы в возрасте 2,5–3 мес

весом около 2,0 кг). Работа проводилась согласно правилам использования экспериментальных животных и в соответствии с международными принципами Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным и принципами гуманности, изложенными в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС).

Атрофию РПЭ моделировали путем субретинального введения в один глаз физиологического раствора (0,9% NaCl) или раствора бевацизумаба, содержащего 0,025 мг препарата, ранее описанным методом [22]. Парный глаз оставался интактным.

В первую серию экспериментов включены кролики, у которых забор СЖ проводили через 3 мес после воспроизведения модели атрофии РПЭ с помощью бевацизумаба (7 животных) или физиологического раствора (7 животных). Для определения нормального уровня активности α_2 -МГ в СЖ у всех животных (14 кроликов, 28 глаз) была взята СЖ до начала эксперимента.

Во вторую серию экспериментов вошли кролики, у которых модель атрофии РПЭ воспроизводили путем субретинального введения бевацизумаба, а забор СЖ проводили до и далее на 3, 14 и 21-е сутки после операции (8 животных).

СЖ забирали из обоих глаз с помощью кружков из фильтровальной бумаги \varnothing 5 мм, которые помещали за нижнее веко на 5 мин, затем компоненты слезы элюировали в течение 20 мин физиологическим раствором в соотношении 50 мкл на один кружок, центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин, и супернатант использовали для исследований. В элюате слезы определяли активность α_2 -МГ ферментативным методом со специфическим субстратом N-бензоил-DL-аргинин-p-нитроанилидом (БАПНА) [23]. Активность α_2 -МГ выражали в нмоль/мин мл слезы. Измерения проводили на фотометре для микропланшет Synergy MX (BioTek, США). Концентрацию ЭТ-1 определяли методом иммуоферментного анализа с помощью диагностического набора ELISA kit for Endothelin-1 (Clone Corp, США).

Статистическая обработка результатов проведена с использованием статистического пакета Microsoft Excel и Statistica 10.0. Для оценки достоверности различий между группами с уровнем значимости не менее 95% был применен непараметрический U-критерий Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Определение активности α_2 -МГ в СЖ кроликов на поздних сроках (3 мес) после воспроизведения модели атрофии РПЭ путем введения физиологического раствора или бевацизумаба выявило различия между этими группами животных. В СЖ кроликов, у которых воспроизводили модель атрофии РПЭ путем введения раствора бевацизумаба, уровень активности α_2 -МГ оставался в пределах нормы. При введении физиологического раствора в опытном глазу активность α_2 -МГ в этот период достоверно повышалась в среднем вдвое. При этом активность α_2 -МГ в СЖ опытного глаза статистически достоверно превышала активность в парном глазу (рис. 1). В парном глазу отклонений активности α_2 -МГ в СЖ от нормы в обеих группах не отмечено.

Поскольку для воспроизведения модели атрофии РПЭ для дальнейшей работы был выбран бевацизумаб, то задачей следующего этапа исследований явилось изучение активности α_2 -МГ и содержания ЭТ-1 в СЖ в ранний период после его введения. Обнаружено, что при данном способе моделирования активность α_2 -МГ в СЖ не изменялась на ранних этапах после операции (таблица). Это свидетельствует о низкой травматичности операции и эффективности ее медикаментозного сопровождения.

Содержание ЭТ-1 в слезе кроликов на 3-и сутки после введения бевацизумаба достоверно увеличивалось как в оперированном, так и парном глазу более чем в 1,5 раза (рис. 2). Увеличение ЭТ-1 в слезе, по-видимому, отражает кратковременную реакцию сосудов глаза на оперативное вмешательство.

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на большое количество экспериментальных работ по воспроизведению модели атрофии РПЭ и его пересадке, исследования состава СЖ в этих работах не проводилось. Нами впервые проведена оценка возможности использования СЖ для характеристики локальных метаболических сдвигов при воспроизведении разных моделей атрофии РПЭ у кроликов с целью выявления в СЖ биологически активных соединений, изменение содержания которых можно было бы использовать для мониторинга посттрансплантационного процесса и раннего прогноза осложнений.

Определение активности α_2 -МГ в СЖ кроликов на поздних сроках (3 мес) после воспроизведения модели атрофии РПЭ путем введения физиологического раствора или бевацизумаба выявило различия между этими группами животных. Введение физиологического раствора вызывало в среднем по группе практически двукратное увеличение активности α_2 -МГ в СЖ оперированного глаза, при этом в парном глазу активность оставалась на уровне нормы. При введении бевацизумаба изменений активности α_2 -МГ в СЖ оперированного и парного глаза не выявлено. При динамическом наблюдении за животными обеих групп по данным ОКТ и исследования аутофлюоресценции стойкая дегенерация РПЭ визуализировалась с 30-го дня после хирургического вмешательства, но в разные сроки наблюдения не было обнаружено существенных различий между группами. В обеих группах в зоне оперативного вмешательства определялось истончение нейроэпителия и хориоидеи, атрофия РПЭ, утрата хориокапилляров. На снимках аутофлюоресценции глазного дна определялась зона гипофлюоресценции с точечными участками гиперфлюоресценции вокруг. Результаты морфологического исследования показали, что физиологический раствор оказывает более выраженный негативный эффект на РПЭ, сетчатку и хориоидею [2].

Повышенный уровень активности α_2 -МГ в СЖ через 3 мес после субретинального введения физиологического раствора свидетельствует о незавершенности активного де-

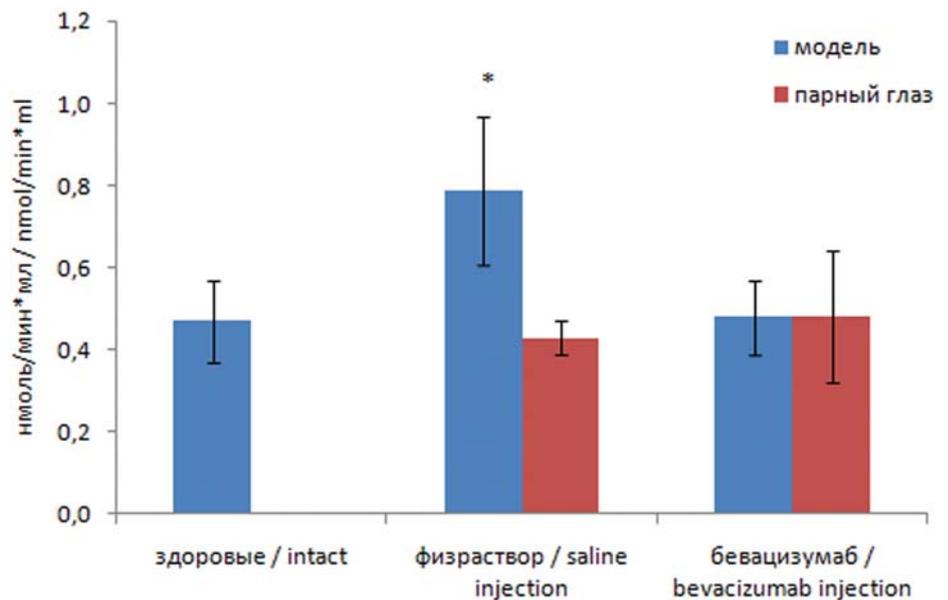


Рис. 1. Активность α_2 -МГ в СЖ кроликов через 3 мес после моделирования атрофии РПЭ. * — $p < 0,01$ по сравнению с парным глазом

Fig. 1. Alpha 2-MG activity in tears of rabbits 3 months after the retinal pigment epithelium atrophy. Blue bars — operated eye, red bars — controlateral eye. * — $p < 0.01$ as compared to the controlateral eye

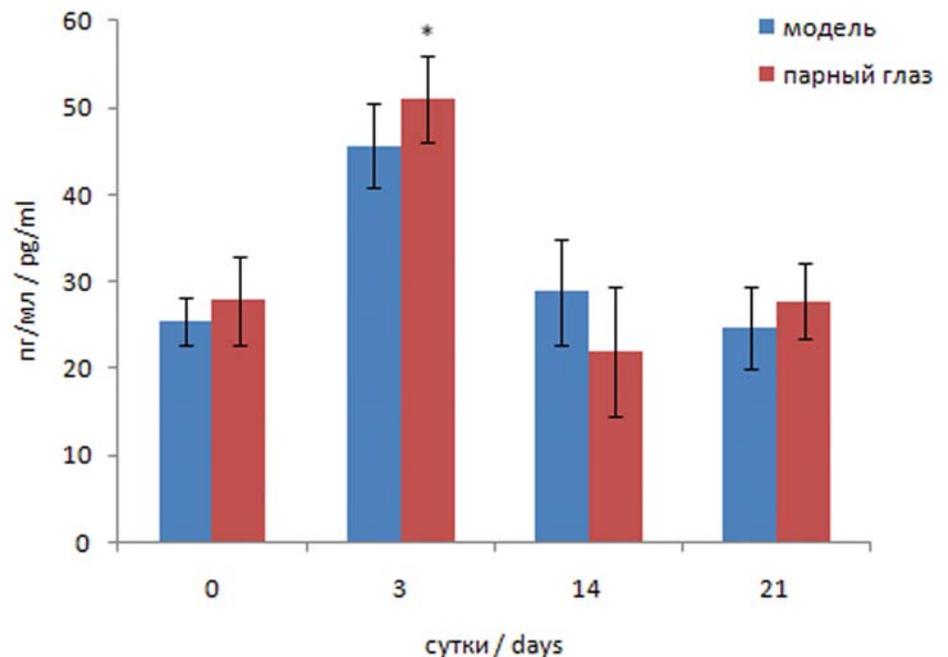


Рис. 2. Содержание ЭТ-1 в СЖ кроликов после моделирования атрофии пигментного эпителия с помощью бевацизумаба. * — $p < 0,01$ по сравнению с исходным уровнем

Fig. 2. ET-1 concentration in tears of rabbits with retinal pigment epithelium modelled via the bevacizumab injection. Blue bars — operated eye, red bars — controlateral eye. * — $p < 0.01$ as compared to the initial level

структивного процесса в сетчатке, тогда как после введения бевацизумаба активность α_2 -МГ в этот период находится на уровне нормы, что означает отсутствие активного посттравматического воспалительного процесса.

Целью второй серии исследований явилось изучение активности α_2 -МГ и содержания ЭТ-1 в СЖ в первые 3 нед после воспроизведения модели атрофии РПЭ с помощью

Таблица. Активность α_2 -МГ в СЖ кроликов после субретинального введения бевацизумаба (нмоль/мин × мл)
Table. Alpha 2-MG activity in tears of rabbits with retinal pigment epithelium atrophy modelled via the bevacizumab subretinal injection (nmol/min × ml)

Глаза Eyes	До операции Before injection	3-и сутки Day 3	14-е сутки Day 14	21-е сутки Day 21
Модель Model eye n = 8	0,57 ± 0,05	0,59 ± 0,02	0,56 ± 0,01	0,58 ± 0,27
Парный глаз Controlateral eye n = 8	0,54 ± 0,05	0,60 ± 0,01	0,48 ± 0,03	0,51 ± 0,41

бевацизумаба. Полученные результаты показали отсутствие изменения активности α_2 -МГ в СЖ в ранние сроки после введения бевацизумаба, по-видимому, потому, что в этот период проводилась адекватная противовоспалительная терапия. Однако на 3-и сутки после введения бевацизумаба происходило существенное увеличение содержания ЭТ-1 в СЖ оперированного и парного глаза. Ввиду сильного вазоконстрикторного действия ЭТ-1 это может свидетельствовать о повышении тонуса сосудов глаза в этот период не только в оперированном, но и парном глазу. Однако уже на 14-е сутки содержание ЭТ-1 в СЖ нормализовалось.

Таким образом, при различных способах воспроизведения модели атрофии РПЭ, которая затрагивает очень небольшую по площади область сетчатки, по активности α_2 -МГ и содержанию ЭТ-1 в СЖ можно судить о характере течения посттравматического процесса и адекватности проводимой терапии. Исследование СЖ при глазной патологии можно отнести к развиваемому в настоящее время направлению в клинической диагностике и особенно в трансплантологии — жидкостной биопсии, когда для оценки патологического процесса во внутренних органах, чтобы дополнительно не травмировать ткани, используют биологические жидкости, метаболизм которых связан с обменными процессами в этом органе. Так, определение уровня ЭТ-1 и α_2 -МГ в биологических жидкостях используется для оценки состояния трансплантатов внутренних органов [21, 24]. Результаты данной работы свидетельствуют о том, что исследование метаболических процессов в СЖ, в частности уровня ЭТ-1 и α_2 -МГ, может быть использовано для мониторинга посттрансплантационного процесса и адекватности проводимой терапии при пересадке РПЭ.

ВЫВОДЫ

1. Определение концентрации α_2 -МГ в СЖ через 3 мес после воспроизведения модели атрофии РПЭ у кроликов показало, что при моделировании с помощью физиологического раствора наблюдается реакция со стороны СЖ, отражающая его продолжительное повреждающее воздействие. При моделировании атрофии РПЭ путем введения бевацизумаба такой реакции не отмечено, что свидетельствует о менее агрессивном характере повреждения по сравнению с таковым при введении физиологического раствора.

2. Существенное увеличение содержания ЭТ-1 в СЖ оперированного и парного глаза на 3-е сутки после введения бевацизумаба свидетельствует о возможном повышении тонуса сосудов обоих глаз в этот период. Эта реакция носит временный характер и на 14-е сутки уже не выявляется.

3. На основании полученных результатов можно предположить, что определение активности α_2 -МГ и концентрации ЭТ-1 в СЖ может быть использовано в качестве неинвазивного метода для мониторинга характера течения посттрансплантационного процесса при пересадке РПЭ,

оценки эффективности медикаментозной терапии и раннего прогноза осложнений.

Литература/References

1. Wong W.L., Su X., Li X., et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health.* 2014; 2 (2): e106–e116. doi: 10.1016/S2214-109X(13)70145-16
2. Нероева Н.В., Нероев В.В., Илюхин П.А. и др. Моделирование атрофии ретинального пигментного эпителия. *Российский офтальмологический журнал.* 2020; 13 (4): 58–63. [Neroeva N.V., Neroev V.V., Ilyukhin P.A., et al. Modeling the atrophy of retinal pigment epithelium. *Russian ophthalmological journal.* 2020; 13 (4): 58–63 (in Russian)]. doi: 10.21516/2072-0076-2020-13-4-58-63
3. M'Barek B.K., Habeler W., Monville C. Stem cell-based RPE therapy for retinal diseases: engineering 3D tissues amenable for regenerative medicine. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018; 1074: 625–662. doi:10.1007/978-3-319-75402-4
4. Zarbin M., Sugino I.E. Concise Review: Update on retinal pigment epithelium transplantation for age-related macular degeneration. *Stem Cells Transl. Med.* 2019; 8 (5): 466–77. doi: 10.1002/sctm.18-0282
5. Харитонов А.Е., Сурдина А.В., Лебедева О.С., Богомазова А.Н., Лагаркова М.А. Возможности использования плюрипотентных стволовых клеток для восстановления поврежденного пигментного эпителия сетчатки глаза. *Acta Naturae* 2018; 10 (3): 30–9. [Kharitonov A.E., Surdina A.V., Lebedeva O.S., Bogomazova A.N., Lagarkova M.A. Possibilities for using pluripotent stem cells for restoring damaged eye retinal pigment epithelium. *Acta Naturae.* 2018; 10 (3): 30–9 (in Russian)].
6. Seah I., Liu Z., Soo Lin Wong D., et al. Retinal pigment epithelium transplantation in a non-human primate model for degenerative retinal diseases. *J. Vis. Exp.* 2021; 172. doi: 10.3791/62638
7. Нероев В.В., Нероева Н.В., Зуева М.В. и др. Электроретинографические признаки ремоделирования сетчатки после индукции атрофии пигментного эпителия сетчатки в эксперименте. *Вестник офтальмологии.* 2021; 137 (4): 24–30. [Neroev V.V., Neroeva N.V., Zueva M.V., et al. Electroretinographic signs of retinal remodeling after experimental induction of retinal pigment epithelium atrophy. *Vestnik oftal'mologii.* 2021; 137 (4): 24–30 (in Russian)]. doi: 10.17116/oftalma202113704124
8. Безнос О.В., Чеснокова Н.Б. Методические подходы и интерпретация биохимических исследований слезной жидкости в офтальмологии. *Российский офтальмологический журнал* 2012; 5 (2): 101–6. [Beznos O.V., Chesnokova N.B. Methodic approaches and interpretation of biochemical analyses of tear fluid in ophthalmology. *Russian ophthalmological journal.* 2012; 5 (2): 101–6 (in Russian)].
9. Rehman A.A., Ahsan H., Khan F.H. α -2-Macroglobulin: a physiological guardian. *J. Cell. Physiol.* 2013; 228 (8): 1665–1675. doi: 10.1002/jcp.24266
10. Cater J.H., Wilson M.R., Wyatt A.R. Alpha-2-Macroglobulin, a hypochlorite-regulated chaperone and immune system. *Modulator Oxid. Med. Cell Longev.* 2019; 2019: 5410657. doi: 10.1155/2019/5410657
11. Barcelona P.F., Luna J.D., Chiabrande G.A., et al. Immunohistochemical localization of low density lipoprotein receptor-related protein 1 and alpha(2)-Macroglobulin in retinal and choroideal tissue of proliferative retinopathies. *Exp. Eye Res.* 2010; 91 (2): 264–72. doi: 10.1016/j.exer.2010.05.017
12. Varma V.R., Varma S., An Y., et al. Alpha-2 macroglobulin in Alzheimer's Disease: a marker of neuronal injury through the RCAN1 pathway. *Mol. Psychiatry.* 2017; 22 (1): 13–23. doi: 10.1038/mp.2016.206
13. Gupta A.K., Pokhriyal R., Khan M.I., et al. Cerebrospinal fluid proteomics for identification of α_2 -macroglobulin as a potential biomarker to monitor pharmacological therapeutic efficacy in dopamine dictated disease states of Parkinson's disease and schizophrenia. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2019; 15:2853–67. doi: 10.2147/NDT.S214217
14. Bogdanov V., Kim A., Nodel M., et al. A pilot study of changes in the level of catecholamines and the activity of alpha-2-macroglobulin in the tear fluid of

- patients with Parkinson's disease and parkinsonian mice. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22 (9): 4736. doi: 10.3390/ijms22094736
15. *Чеснокова Н.Б., Павленко Т.А., Безнос О.В., Григорьев А.В.* Роль эндотелиновой системы в патогенезе глазных болезней. *Вестник офтальмологии.* 2020; 136 (1): 117–23. [*Chesnokova N.B., Pavlenko T.A., Beznos O.V., Grigoriev A.V.* The role of the endothelin system in the pathogenesis of eye diseases. *Vestnik ophthalmologii.* 2020; 136 (1): 117–23 (in Russian)]. doi: 10.17116/oftalma202013601117
 16. *Torbidoni V., Iribarne M., Ogawa L., et al.* Endothelin-1 and endothelin receptors in light-induced retinal degeneration. *Exp. Eye Res.* 2005; 81 (3): 265–75. doi:10.1016/j.exer.2004.12.024
 17. *Flammer J., Konieczka K.* Retinal venous pressure: the role of endothelin. *EPMA J.* 2015; 6: 21. doi:10.1186/s13167-015-0043-1
 18. *Kobayashi T., Oku H., Fukuhara M., et al.* Endothelin-1 enhances glutamate-induced retinal cell death, possibly through ETA receptors. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005; 46 (12): 4684–90. doi:10.1167/iovs.05-0785
 19. *Павленко Т.А., Чеснокова Н.Б., Давыдова Н.Г. и др.* Содержание эндотелина и плазминогена в слезной жидкости больных глаукомой и пролиферативной диабетической ретинопатией. *Вестник офтальмологии.* 2013; 129 (4): 20–3. [*Pavlenko T.A., Chesnokova N.B., Davydova N.G., et al.* Level of tear endothelin-1 and plasminogen in patients with glaucoma and proliferative diabetic retinopathy. *Vestnik oftalmologii.* 2013; 129 (4): 20–3 (in Russian)].
 20. *Cabral T., Lima L.H., Mello L.G.M., et al.* Bevacizumab injection in patients with neovascular age-related macular degeneration increases angiogenic biomarkers. *Ophthalmol. Retina.* 2018; 2 (1): 31–7. doi:10.1016/j.oret.2017.04.004
 21. *Parikh R.V., Khush K., Pargaonkar V.S., et al.* Association of endothelin-1 with accelerated cardiac allograft vasculopathy and late mortality following heart transplantation. *J. Card. Fail.* 2019; 25 (2): 97–104. doi:10.1016/j.cardfail.2018.12.001
 22. *Нероева Н.В., Нероев В.В., Катаргина Л.А. и др.* Способ моделирования атрофии ретинального пигментного эпителия. Патент РФ № 2709247; 2019. [*Neroeva N.V., Neroev V.V., Katargina L.A., et al.* The way of modeling of the retinal pigment epithelium atrophy. RU Patent № 2709247; 2019 (in Russian)].
 23. *Chuang W.H., Liu P.C., Hung C.Y., Lee K.K.* Purification, characterization and molecular cloning of alpha-2-macroglobulin in cobia, *Rachycentron canadum*. *Fish Shellfish Immunol.* 2014; 41 (2): 346–55. doi: 10.1016/j.fsi.2014.09.016
 24. *Janciauskiene S., Royer P.J., Fuge J., et al.* Plasma acute phase proteins as predictors of chronic lung allograft dysfunction in lung transplant recipients. *J. Inflamm. Res.* 2020; 13:1021-8. doi: 10.2147/JIR.S272662

Вклад авторов в работу: Н.В. Нероева — научное редактирование; Н.Б. Чеснокова — концепция и дизайн исследования, написание текста, научное редактирование; Л.А. Катаргина — концепция и дизайн исследования; О.В. Безнос — проведение исследований, обработка данных, подготовка иллюстраций; П.А. Илюхин — воспроизведение экспериментальных моделей; Т.А. Павленко, О.А. Уткина — проведение исследований.

Authors' contribution: N.V. Neroeva — scientific editing; N.B. Chesnokova — concept and research design, article writing, scientific editing; L.A. Katargina — concept and research design; O.V. Beznos — data collection and processing, preparation of illustrations; P.A. Ilyukhin — experimental modeling; T.P. Pavlenko; O.A. Utkina — animal clinical examination, data collection and processing.

Поступила: 26.01.2022. Переработана: 01.03.2022. Принята к печати: 01.03.2022
Originally received: 26.01.2022. Final revision: 01.03.2022. Accepted: 01.03.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ/INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

Наталья Владимировна Нероева — канд. мед. наук, врач-офтальмолог отдела патологии сетчатки и зрительного нерва

Наталья Борисовна Чеснокова — д-р биол. наук, профессор, главный специалист отдела патофизиологии и биохимии

Людмила Анатольевна Катаргина — д-р мед. наук, профессор, начальник отдела патологии глаз у детей, заместитель директора по научной работе

Татьяна Аркадьевна Павленко — канд. мед. наук, начальник отдела патофизиологии и биохимии

Ольга Валерьевна Безнос — научный сотрудник отдела патофизиологии и биохимии

Павел Андреевич Илюхин — канд. мед. наук, врач-офтальмолог, научный сотрудник отдела патологии сетчатки и зрительного нерва

Ольга Александровна Уткина — аспирант отдела патологии сетчатки и зрительного нерва

Для контактов: Наталья Борисовна Чеснокова, nchesnokova2012@yandex.ru

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogriazskaya St., Moscow, 105062, Russia

Natalia V. Neroeva — Cand. of Med. Sci., ophthalmologist, department of pathology of the retina and optic nerve

Natalya B. Chesnokova — Dr. of Biol. Sci., professor, chief specialist, department of pathophysiology and biochemistry

Lyudmila A. Katargina — Dr. of Med. Sci., professor, head of the department of children's eye pathology, deputy director

Tatyana A. Pavlenko — Cand. of Med. Sci., head, department of pathophysiology and biochemistry

Olga V. Beznos — Cand. of Med. Sci., senior researcher, glaucoma department

Pavel A. Ilyukhin — Cand. of Med. Sci., ophthalmologist, researcher, department of pathology of the retina and optic nerve

Olga A. Utkina — PhD student, department of pathology of the retina and optic nerve

Contact information: Natalya B. Chesnokova, nchesnokova2012@yandex.ru