

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-4-39-47>



Экспериментальное изучение влияния ресвератрола на нейротрофические и структурные изменения тканей при ретинальной ишемии

Т.Н. Киселева¹, А.В. Чудин², Н.В. Балацкая¹, А.И. Щипанова¹, И.П. Хорошилова-Маслова¹, М.С. Зайцев¹ ✉, А.М. Майбогин¹, К.В. Луговкина¹

¹ ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

² ГБУМЗ Тюменской области «Областная больница № 4», ул. Республики, д. 78, г. Ишим, 627750, Россия

Цель работы — оценить воздействие антиоксиданта ресвератрола на нейротрофические и структурные изменения тканевого комплекса «сетчатка — хориоидея» при ретинальной ишемии-реперфузии (ИР), индуцированной введением эндотелина-1 (ЭТ-1) в эксперименте у крыс. **Материал и методы.** Исследование проведено на 60 крысах-самцах линии Wistar, которые были разделены на 3 группы. У 50 крыс (1-я группа, $n = 20$; 2-я группа, $n = 30$) моделировали одностороннюю ИР сетчатки путем субконъюнктивального введения ЭТ-1 в дозе 0,2 мл 4×10^{-6} моль/л. 10 крыс составили 3-ю группу (контрольную). Животные 1-й группы не подвергались дополнительным манипуляциям, во 2-й группе крысы получали ресвератрол перорально в дозе 20 мг/кг в течение месяца до ИР. После моделирования ИР животные 2-й группы продолжали получать ресвератрол до момента эвтаназии. Лабораторные исследования включали определение факторов митохондриального (VAX/VCL-2) и внешнего пути апоптоза (sFas/FasL), маркера воспаления — моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), нейротрофического фактора мозга (BDNF) и фактора роста нервов (NGF) в тканевом комплексе «сетчатка — хориоидея». Лабораторные и патогистологические исследования проводились через 3 дня (16 глаз), 7 дней (16 глаз) и 30 сут (18 глаз) после ИР. **Результаты.** Через 30 дней во 2-й группе выявлено достоверное снижение по сравнению с 1-й группой факторов апоптоза VAX/VCL-2 ($p < 0,001$) и уровня MCP-1 ($p < 0,05$). Отмечалось уменьшение выраженности признаков ишемического повреждения и интенсивности воспалительной реакции, апоптоза ганглиозных клеток в ранний постишемический период (через 3 дня), сохранение участков с интактными ядерными слоями и слоем фоторецепторов в позднем постишемическом периоде (через 30 дней). **Заключение.** Выявленные нейропротекторные свойства ресвератрола при ретинальной ИР являются основанием для его последующего применения в клинической практике в комплексном лечении заболеваний сетчатки и зрительного нерва.

Ключевые слова: ресвератрол; ишемия-реперфузия; сетчатка; апоптоз; нейропротекторные свойства

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Для цитирования: Киселева Т.Н., Чудин А.В., Балацкая Н.В., Щипанова А.И., Хорошилова-Маслова И.П., Зайцев М.С., Майбогин А.М., Луговкина К.В. Экспериментальное изучение влияния ресвератрола на нейротрофические и структурные изменения тканей при ретинальной ишемии. Российский офтальмологический журнал. 2020; 13 (4): 39-47. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-4-39-47>

An experimental study of resveratrol effect on neurotrophic and structural changes in retinal ischemia

Tatyana N. Kiseleva¹, Anton V. Chudin², Natalya V. Balatskaya¹, Aleksandra I. Shchipanova¹, Inna P. Khoroshilova-Maslova¹, Maksim S. Zaytsev¹ ✉, Artemiy M. Maybogin¹, Kseniya V. Lugovkina¹

¹ Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia

² Regional hospital No 4 of Tyumen region, 78, Respubliki St., Ishim, 627750, Russia
zaicev1549@yandex.ru

Purpose. To investigate the effect of resveratrol antioxidant on neurotrophic and structural changes of retina/choroid tissue complex in experimental ischemia/reperfusion (I/R) injury of retina induced by endothelin-1 (ET-1) injection in rats. **Material and methods.** 60 male Wistar albino rats were divided into 3 groups. 50 rats underwent I/R (Group 1 [n = 20]; Group 2 [n = 30]) while 10 animals served as controls. Retinal I/R was induced in Group 1 and Group 2 by subconjunctival injection of 0.2 mL 4×10^{-6} M ET-1. The animals in Group 1 received no resveratrol; those in Group 2 received 20 mg/kg resveratrol per os during 1 month before I/R and continued to receive it after I/R up to the moment they were euthanized. Factors regulating mitochondrial apoptosis (BAX/BCL-2) and external pathways of apoptosis (sFas/FasL), inflammatory marker — monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and neurotrophic factors — brain-derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor (NGF) were quantified in retinal/choroidal tissue homogenates. In each group, laboratory assessment of retina/choroid complex samples and morphological investigations were performed 3 days (16 eyes), 7 days (16 eyes), 30 days (18 eyes) after ischemia. **Results.** After 30 days, a statistically significant decrease of apoptotic factors BAX/BCL-2 ($p < 0.001$) and reduced level of MCP-1 in animals of Group 2 ($p < 0.05$) as compared to those in Group 1 were noted. The histological examination of the retina on day 3 showed reduced retinal ischemic lesions and signs of inflammation, decrease of the apoptosis of ganglion cells and zones of preserved retina with intact nuclear layers and a layer of photoreceptors in late post-ischemic period (after 30 days). **Conclusions.** The experimental results demonstrate that resveratrol has neuroprotective properties after retinal I/R injury. This suggests that resveratrol has therapeutic potential in the treatment of diseases of the retina and optic nerve.

Keywords: resveratrol; ischemia/reperfusion; retina; apoptosis; neuroprotective properties

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: Kiseleva T.N., Chudin A.V., Balatskaya N.V., Shchipanova A.I., Khoroshilova-Maslova I.P., Zaytsev M.S., Maybogin A.M., Lugovkina K.V. An experimental study of resveratrol effect on neurotrophic and structural changes in retinal ischemia. Russian ophthalmological journal. 2020; 13 (4): 39-47 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-4-39-47>

Известно, что в результате нарушения кровоснабжения оболочек глаза происходит развитие местной ишемии и гипоксии. Ишемия — это снижение или прекращение кровоснабжения, приводящее к ухудшению обеспечения кислородом тканей, к нарушению их функции и гибели. Последствием гипоксии является ухудшение тканевого дыхания и дефицит в клетках аденозинтрифосфата, который служит источником энергии для всех метаболических процессов [1]. Особенно чувствительны к гипоксии ткани с высоким уровнем энергетического метаболизма. В глазу к таким тканям относятся сетчатка, зрительный нерв и в меньшей степени — сосудистая оболочка.

Ретинальная ишемия — частая причина снижения и потери зрения, развивающаяся на фоне большинства сосудистых заболеваний глаза (оптические нейропатии, окклюзии ретинальных сосудов, диабетическая ретинопатия, глаукома и т. д.) [2]. В связи с этим экспериментальное изучение ишемического поражения сетчатки для детального понимания этиологии, патогенеза и выбора методов лечения данной патологии является актуальной задачей. Во многом успешность решения существующей проблемы зависит от полноты представлений об изменениях гемодинамики, метаболических нарушениях при ретинальной ишемии-реперфузии

(ИР) и от понимания процесса необратимого повреждения нейронов сетчатки [3, 4].

Транзиторные нарушения кровообращения глаза включают два периода: отсутствие кровотока (ишемия) и его восстановление (реперфузия), которые являются частью одного патологического процесса — ишемии-реперфузии. В период реперфузии образуются активные формы кислорода, высвобождаются воспалительные интерлейкины, что ведет к повреждению мембран клеток, миграции лейкоцитов в очаг воспаления с усилением повреждения тканей [5].

Для создания экспериментальной модели транзиторной ишемии сетчатки наиболее часто используют окклюзию церебральных артерий, лигирование сонных артерий, фотокоагуляцию ретинальных сосудов и введение эндотелина-1 [6–9]. В ряде исследований моделирование ишемического поражения осуществлялось благодаря повышению внутриглазного давления (ВГД) выше уровня системного артериального давления [10, 11]. Ранее нами были предложены две экспериментальные модели ретинальной ишемии, отвечающие требованиям одновременно высокой экономичности, воспроизводимости и эффективности, которые позволили исследовать гемодинамические и структурные изменения в сетчатке в раннем и позднем постишемическом периоде [12].

В последние годы продолжается поиск и разработка методов коррекции гемодинамических и структурных изменений тканей глаза при ИР. Ряд публикаций посвящен влиянию ресвератрола (3,5,4-тригидростилбен) — полифенольного фитоалексина растительного происхождения на изменения в сетчатке после транзиторной ишемии [13–17].

С. Li и соавт. [13] отмечали у мышей с моделью ретинальной ишемии (при повышении ВГД) уменьшение поражения ретинальных сосудов на фоне приема ресвератрола в суточной дозе 25 мг/кг. Другие авторы на фоне введения крысам ресвератрола в дозе от 20 до 30 мг/кг установили снижение степени выраженности ишемического повреждения в виде сохранения структур сетчатки, уменьшения числа апоптотических клеток, отсутствие снижения амплитуды а- и b-волн на скотопической электроретинограмме (ЭРГ) [14–17]. Y. Kim и соавт. [17] показали в эксперименте, что пероральный прием ресвератрола в дозе 20 мг/кг в течение одного месяца уменьшает нейрональный апоптоз и уровень Ca^{2+} /кальмодулинзависимой протеинкиназы-II в сетчатке крыс со стрептозотоциновым диабетом.

С помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуногистохимического анализа у крыс с ретинальной ишемией на фоне интравитреального введения 5μL ресвератрола выявлено снижение в тканях сетчатки уровня матриксной металлопротеиназы-9 (основного фермента, участвующего в деградации внеклеточного матрикса) и синтазы оксида азота, а также повышение концентрации гемоксигеназы-1 (фермента, предупреждающего повреждение митохондрий) [15].

Ретинопротекторные свойства ресвератрола доказаны в ряде экспериментальных исследований на основании определения факторов каспазозависимого и митохондриального путей апоптоза и оценки гибели ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) в раннем постишемическом периоде (от 3 до 14 дней) [18–21]. Имеются сведения о выраженном нейропротекторном эффекте ресвератрола при ретинальной ИР у мышей в эксперименте, что проявлялось подавлением ВАХ-каспаза-3-зависимого пути апоптоза ГКС и снижением концентрации маркеров окислительного стресса в тканях сетчатки [18, 22].

ЦЕЛЬЮ настоящей работы явилась оценка воздействия антиоксиданта ресвератрола на нейротрофические и структурные изменения сетчатки при ретинальной ИР, индуцированной введением эндотелина-1 (ЭТ-1) в эксперименте у крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 60 крысах-самцах линии Wistar со средней массой 200–250 г. Возраст животных составлял от 3 до 5 мес. Данное исследование выполнено в соответствии с руководством по уходу и использованию лабораторных животных [23]. Основные правила содержания и ухода соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Санитарным правилам по содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденным МЗ СССР 06.07.73, приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 и положениям Хельсинкской декларации. Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБУ «МНИИГБ им. Гельмгольца» Минздрава России 26.02.2014, протокол № 23/3.

Животные находились при 12-часовом световом режиме в условиях свободного доступа к воде и пище. Все инвазивные вмешательства проводились при сочетании общей анестезии по стандартной схеме из расчета внутривенного введения дозы вещества по массе тела, принятой в лабора-

торной практике для работы с крысами, и местной анестезии 0,4 % раствором оксибупрокаина (инокаин).

На первом этапе работы все животные были разделены на две группы: в 1-ю группу вошли 30 интактных крыс (30 глаз), во 2-ю группу — 30 крыс (30 глаз), которые ежедневно получали ресвератрол с питьевой водой в течение 30 сут в дозе 20 мг/кг, предложенной ранее в других исследованиях [16, 17]. Ресвератрол в виде порошка для перорального применения растворяли в 20 мл питьевой воды до рабочей концентрации и давали крысам согласно рекомендуемым способам и объемам введения лекарственных средств с учетом анатомических и физиологических особенностей лабораторных животных [24].

На втором этапе исследования животные 1-й группы были разделены на две подгруппы. В основную подгруппу вошли 20 животных (20 глаз), которым проводилось моделирование ретинальной ИР с помощью одностороннего субконъюнктивального введения 0,2 мл раствора эндотелина-1 (ЭТ-1) в концентрации 4×10^{-6} моль/л (М) в фосфатном буфере 0,05 М, pH = 7,4 по предложенному нами методу [12]. Контрольную подгруппу составили 10 интактных крыс (20 глаз).

Животным 2-й группы, получавшим ежедневно ресвератрол в течение месяца до ИР, также осуществляли моделирование односторонней ИР сетчатки путем субконъюнктивального введения ЭТ-1. После моделирования ИР животные этой группы продолжали получать антиоксидант до момента эвтаназии.

Исследование повреждения переднего отрезка глаза проводили с помощью бинокулярной лупы. Выраженность реакции переднего отрезка оценивали по шкале в условных баллах по 5 критериям (табл. 1). Регистрировали общий балл (число признаков поражения роговицы, передней камеры и радужки) и средний балл — как отношение общего балла к числу глаз с ИР в группе.

Критериями исключения из эксперимента явились: отслойка сетчатки, эндофтальмит, гипопион и цилиохориоидальная отслойка, возникшие в постишемическом периоде.

Третий этап включал оценку состояния переднего отрезка глаза, ультразвуковое исследование глаза и орбиты в В-режиме, лабораторные и морфологические исследования биоматериала после эвтаназии животных.

Энуклеацию глазного яблока у крыс для проведения лабораторных и патогистологических исследований осуществляли через 3 дня (16 глаз), 7 дней (16 глаз) и 30 сут (18 глаз) после ИР.

Материалом для лабораторных исследований служили гомогенаты тканей комплекса (ТК) «сетчатка — хориоидея» крыс. Выделенные ТК «сетчатка — хориоидея» промывали в охлажденном фосфатно-солевом буфере (ФСБ) 0,01 моль/л (pH 7,0–7,2). ТК массой 0,1 мг помещали в микропробирку с 900 мкл среды для гомогенизации, содержащей 100 мкл коктейля ингибиторов протеаз (SIGMA-ALDRICH®, США) и 800 мкл ФСБ 0,01 моль/л, pH 7,0–7,2. Использовали гомогенизатор Silent Crusher S (Heidolph, Швейцария) со специальной насадкой Homogenizer tool 3F (Heidolph, Швейцария) для работы с микрообъемами тканевых образцов повторяющимися циклами. Каждый цикл включал два последовательных этапа. На первом этапе ТК гомогенизировали однократно 30 с при 37000 rpm с последующим охлаждением в течение 30 с. На втором этапе ТК гомогенизировали 10 с при 75000 rpm, 30–40 с охлаждали, процесс на этом этапе повторяли 4 раза. Оптимальная длительность обработки пробы повторяющимися циклами составляла 15 мин. Полученный гомогенат центрифугировали в течение 10 мин

Таблица 1. Показатели выраженности повреждения переднего отрезка глаза у крыс после ИР
Table 1. Signs of damage of anterior segment of the eye in rats after ischemia/reperfusion

Признак Signs	Степень выраженности Degree of severity	Баллы Points
Светобоязнь и блефароспазм Photophobia and blepharospasm	Отсутствует Absent	0
	Присутствует Present	1
Отек роговицы Corneal edema	Отсутствует Absent	0
	Слабовыраженный (неравномерный частичный отек, преимущественно эпителиальный) Light (nonuniform local edema, mostly epithelial)	1
	Умеренный (равномерный отек всей роговицы, преимущественно эпителиальный) Moderate (uniform edema of all cornea, mostly epithelial)	2
	Выраженный (диффузный с вовлечением стромы) Sevier (diffuse with stroma involvement)	3
	Резко выраженный («фарфоровое стекло») Pronounced (“porcelain glass”)	4
Отек радужки Iris edema	Отсутствует Absent	0
	Слабовыраженный (сглаженный рельеф, незначительное расширение сосудов) Light (smoothed relief, small vasodilation)	1
	Умеренный (сильно сглажен рельеф, расширение сосудов) Moderate (very smoothed relief, vasodilation)	2
	Выраженный (рельеф практически отсутствует, сосуды значительно расширены) Pronounced (relief almost absent, significant vasodilation)	3
Кровь в передней камере Blood in anterior chamber	Отсутствует Absent	0
	До 1/3 объема Up to 1/3 of the volume	1
	До 2/3 объема Up to 2/3 of the volume	2
	Вся передняя камера All anterior chamber	3
Неоваскуляризация роговицы Corneal neovascularization	Отсутствует Absent	0
	Умеренная (поверхностная или глубокая неоваскуляризация меньше 3/4 площади роговицы) Moderate (superficial or deep neovascularization less then 3/4 of corneal square)	1
	Выраженная (поверхностная и/или глубокая больше 3/4 площади роговицы) Pronounced (superficial and/or deep neovascularization more then 3/4 of corneal square)	2

при 2,9 тыс об/мин, отбирали надосадочную жидкость и аликвотировали в микропробирки Eppendorf, образцы хранили при температуре минус 70 °С до проведения исследования.

Количественное определение нейротрофического фактора мозга (BDNF) и фактора роста нервов (NGF), моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), факторов митохондриального (BAX/BCL-2) и внешнего пути апоптоза (sFas/FasL) в ТК «сетчатка — хориодея» осуществлялось методом твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА) с помощью диагностических тест-систем, разработанных Cloud-Clone Corp. (США), произведенных USCN Life Science Inc. (КНР) и специально предназначенных для исследований биологического материала крысы. Всю процедуру анализа выполняли по протоколу согласно прилагаемым методическим указаниям фирмы-изготовителя USCN Life Science Inc. Учет результатов проводили при помощи спектрофотометра для микропланшета Labsystems Multiskan® PLUS (Финляндия) при длине волны 450 нм.

Содержание NGF в исследуемых образцах, факторов — регуляторов апоптоза (sFas, FasL, BAX, BCL-2) выражали в

пикограммах (пкг) на 1 мл жидкости; концентрацию MCP-1, BDNF выражали в нанogramмах (нг) на 1 мл жидкости.

Для проведения патогистологических исследований энуклеированные глаза фиксировали в растворе Боуэна. После макроскопического исследования вырезали колodку глазного яблока, которую обезжизвали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 0,5–1,5 мкм готовили на микротоме Leica RM 2235 (Германия) и окрашивали гематоксилин-эозином. Препараты исследовали и фотографировали с помощью светового микроскопа на микросистеме Leica (Германия) при увеличении 40, 100, 200, 400.

Статистический анализ выполняли с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, Statistica 6.0 (Stat. Soft. Inc, США). Для оценки статистической значимости применяли t-критерий Стьюдента и тест Манна — Уитни. Разница считалась достоверной при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех животных через несколько секунд после введения ЭТ-1 наблюдалось побледнение конъюнктивы и исчезновение рефлекса с глазного дна (фаза ишемии),

что подтверждалось при внешнем объективном осмотре и офтальмоскопии. Нормальная окраска конъюнктивы восстанавливалась через 1–1,5 часа (фаза реперфузии).

Через 3 сут клиническая картина ишемического повреждения характеризовалась следующими симптомами: слабовыраженный отек роговицы, кератопатия и светобоязнь. У 8 (40 %) из 20 животных в 1-й группе и у 9 (30 %) из 30 животных во 2-й группе отмечалась гифема. Средний показатель выраженности повреждения переднего отдела глаза в 1-й и 2-й группах составил 2,5 и 1,6 балла соответственно (табл. 2).

Через 7 сут в обеих группах наблюдалось уменьшение уровня гифемы и отека роговицы. Светобоязнь исчезла у 10 (71 %) из 14 животных 1-й группы и у 13 (65 %) из 20 животных во 2-й группе. Средний балл повреждения переднего отдела глаза в 1-й и 2-й группах составил 1,8 и 1,6 соответственно.

Через 30 сут в 1-й группе умеренный отек роговицы на фоне почти полного рассасывания гифемы в передней камере наблюдался у 4 (50 %) из 8 крыс, у 3 (38 %) визуализировались единичные новообразованные сосуды роговицы и у одного (12 %) животного — выраженный отек роговицы с вовлечением ее стромы и неоваскуляризацией. Во 2-й группе у 2 (20 %) отмечен умеренный отек роговицы. Остатки крови в передней камере определялись у одного животного. Средний показатель выраженности повреждения переднего отдела глаза в 1-й и 2-й группах составил 1,7 и 0,7 балла соответственно (табл. 2).

Анализ результатов инструментального исследования переднего отдела глаза у крыс показал, что применение ресвератрола в суточной дозе 20 мг/кг способствовало снижению выраженности или исчезновению таких симптомов, как отек роговицы и гифема, в раннем постишемическом периоде (3 сут). В отдаленном постишемическом периоде отмечалось снижение частоты и выраженности неоваскуляризации роговицы у животных, получавших 20 мг/кг ресвератрола, что согласуется с данными J. Hua и соавт. [25], которые подтвердили его антиангиогенные свойства в эксперименте на мышах.

Анализ результатов лабораторного исследования через 3 сут показал статистически достоверное повышение концентрации показателей системы BAX/BCL-2 в ТК (достоверно выраженный рост антиапоптотического белка BCL-2 в среднем на 167 %, $p < 0,05$) с максимальным его увеличением через 30 сут (табл. 3). Со стороны другой системы апоптоза (sFas/APO-1/FasL) статистически достоверные изменения регистрировали через 7 сут, отмечали увеличение по сравнению с контролем sFas в среднем на 141 % ($p < 0,05$), FasL — на 550 % ($p < 0,001$).

Эти данные указывают на то, что при индукции вазоспазма апоптоз в тканях оболочек глаза протекает более активно по внутреннему BAX/BCL-2 пути через регуляцию проницаемости митохондриальных мембран с вовлечением факторов внешнего пути апоптоза (sFas/APO-1/FasL).

Анализ результатов исследования маркера воспаления (MCP-1) выявил статистически достоверное увеличение его в ТК ($p < 0,05$) через 3 сут после ретинальной ИР. Результаты исследования концентрации нейротрофических факторов через 3 сут после ИР выявили статистически достоверное снижение уровня NGF в ТК ($p < 0,001$). Через 7 сут отмечали достоверное увеличение в ТК концентрации нейротрофических факторов NGF и BDNF в 5 и 26 раз соответственно по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Увеличение концентрации маркеров внешнего пути апоптоза sFas/FasL, MCP-1, BDNF и NGF в ТК «сетчатка — хориоидея» через 7 сут после ишемии указывает на усиление процессов апоптоза и воспалительной реакции одновременно с активацией защитных нейропротекторных механизмов в этот период. Через 30 сут значения показателей NGF и BDNF оставались выше нормы (табл. 3).

Таким образом, лабораторные тесты показали наличие выраженного апоптоза, воспалительных и нейротрофических изменений в тканях глаза в раннем и позднем постишемическом периоде при ретинальной ИР у крыс в эксперименте.

У животных 2-й группы применение ресвератрола способствовало снижению уровня BCL-2 через 3 сут ($p < 0,001$) и BAX на 75,6 % ($p < 0,001$) (табл. 3) в тканях глаза

Таблица 2. Оценка повреждения переднего отдела глаза у крыс после моделирования ишемии-реперфузии
Table 2. Assessment of the damage of anterior segment of the eye in rats after ischemia/reperfusion

Признаки Signs	Через 3 сут In 3 days		Через 7 сут In 7 days		Через 30 сут In 30 days	
	1-я группа 1 group n = 20	2-я группа 2 group n = 30	1-я группа 1 group n = 14	2-я группа 2 group n = 20	1-я группа 1 group n = 8	2-я группа 2 group n = 10
Светобоязнь и блефароспазм Photophobia and blepharospasm	16	20	4	7	2	0
Отек роговицы Corneal edema	15	12	8	12	4	2
Отек радужки Iris edema	12	8	4	3	2	1
Кровь в передней камере Blood in anterior chamber	8	9	8	9	2	1
Неоваскуляризация роговицы Corneal neovascularization	0	0	1	1	4	3
Общий балл Total score	51	49	25	32	14	7
Средний балл в группе Average score in the group	2,5	1,6	1,8	1,6	1,7	0,7

Примечание. n — число глаз.
Note. n — number of eyes.

Таблица 3. Динамика концентрации факторов апоптоза, нейротрофических факторов и показателей повреждения нервной ткани в тканевом комплексе «сетчатка — хориоидея» при моделировании ретиальной ишемии-реперфузии глаза у животных
Table 3. Dynamics of concentration of the apoptotic factors and indices of neural tissues damage in complex of retina/choroid after retinal ischemia/reperfusion modeling

Показатель Parameter	Через 3 сут In 3 days		Через 7 сут In 7 days		Через 30 сут In 30 days		Контроль Control
	1-я группа 1 group	2-я группа 2 group	1-я группа 1 group	2-я группа 2 group	1-я группа 1 group	2-я группа 2 group	
sFAS/APO-1	26,52 ± 12,19	23,26 ± 6,43	75,03 ± 33,4 [°]	64,23 ± 16,6	68,45 ± 28,77 [°]	55,65 ± 27,91	31,1 ± 3,9
FasL	12,52 ± 2,33	12,59 ± 2,5	126,39 ± 53,9 [°]	93,23 ± 14,04	80,06 ± 50,34 [°]	86,06 ± 20,22	19,33 ± 1,77
BAX	89,82 ± 7,04	94,65 ± 11,28	616,03 ± 298,67 [°]	312,41 ± 24,32	452,37 ± 295,8 [°]	110,29 ± 22,39*	84,35 ± 2,11
BCL-2	463,29 ± 32,5 [°]	393,74 ± 6,81*	745,95 ± 136,64 [°]	498,1 ± 43,88**	776,61 ± 273,13 [°]	718,98 ± 440,18	276,01 ± 28,06
NGF	166,17 ± 82,12 [°]	225,50 ± 67,97	2540,63 ± 1206,65 [°]	2133,3 ± 806,7	1007,09 ± 459,4 [°]	859,5 ± 525,4	488,83 ± 37,93
BDNF	0,28 ± 0,03	0,29 ± 0,017	7,96 ± 4,16 [°]	3,12 ± 0,97	2,36 ± 1,36 [°]	1,68 ± 1,34	0,30 ± 0,012
MCP-1	0,317 ± 0,005 [°]	0,303 ± 0,004**	1,73 ± 1,05 [°]	0,011 ± 0,004**	0,75 ± 0,43 [°]	0,013 ± 0,005*	0,30 ± 0,002

Примечание. * — достоверно относительно показателей в 1-й группе, $p < 0,001$; ** — достоверно относительно показателей в подгруппе 1Б, $p < 0,05$; [°] — достоверно относительно показателей контроля, $p < 0,001$; ^{°°} — достоверно относительно показателей контроля, $p < 0,05$; ^{°°°} — достоверно относительно показателей контроля, $p < 0,01$.

Note. * — significant as compared to 1 group, $p < 0.001$; ** — significant as compared to 1 B subgroup, $p < 0.05$; [°] — significant as compared to the control, $p < 0.001$; ^{°°} — significant as compared to the control, $p < 0.05$; ^{°°°} — significant as compared to the control, $p < 0.01$.

через 30 сут. В течение всего периода наблюдения отмечали статистически достоверное снижение концентрации маркера воспаления MCP-1 в ТК у животных 2-й группы по сравнению с 1-й группой ($p < 0,05$) (см. табл. 3).

Как видно из таблицы 3, в динамике отмечалось статистически достоверное снижение уровня факторов апоптоза, воспалительных и нейротрофических изменений в комплексе «сетчатка — хориоидея» у животных, получавших ресвератрол ежедневно в течение длительного времени.

Анализ результатов патогистологического исследования оболочек глаза животных, подвергшихся ИР вследствие субконъюнктивального введения ЭТ-1, показал, что через 3 сут размер глазного яблока был в пределах нормы (по данным В-сканирования), у всех животных отмечался отек роговицы, в 66 % случаев наблюдали инфильтрацию роговицы лимфоцитами и протопевание крови в переднюю

камеру. Обращало на себя внимание наличие преретиального кровоизлияния у всех животных, отека сетчатки, преимущественно за счет внутреннего плексиформного слоя и слоя нервных волокон (рис. 1, А), визуализировался спазм стенок центральной артерии сетчатки (ЦАС) с сохранением ее просвета и окклюзия сосудов мелкого калибра (рис. 1, Б).

Через 7 сут после ИР особенности патогистологической картины включали начальные признаки резорбции гемофтальма на поверхности сетчатки, что проявлялось скоплением детрита из разрушенных гемолизированных эритроцитов и множественных гемосидерофагов. Отмечали увеличение числа эндотелиальных клеток (гиперплазию) в сосудистой стенке ЦАС и ориентацию их ядер перпендикулярно просвету сосуда (признаки длительно сохраняющегося спазма) (рис. 2).

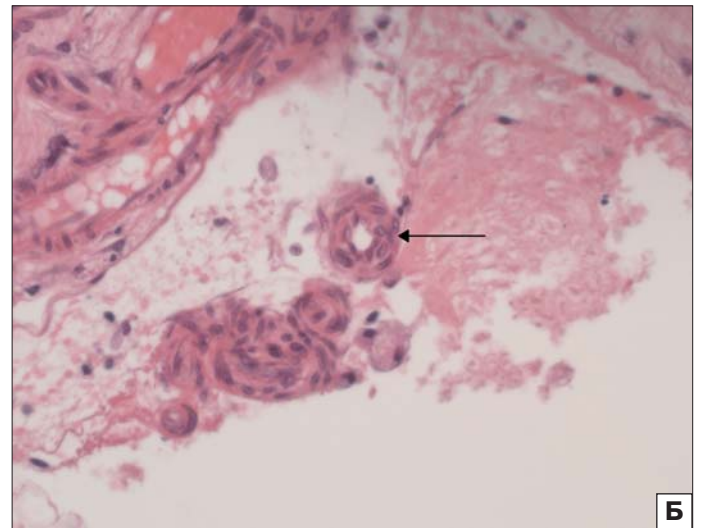
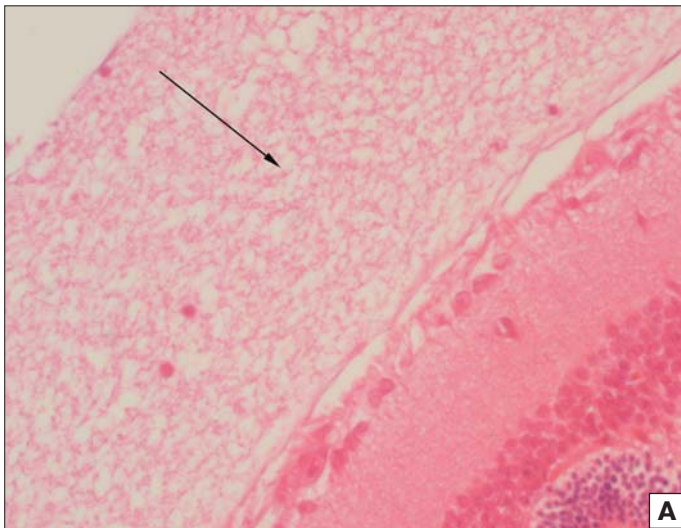


Рис. 1. Патогистологическая картина ткани сетчатки через 3 дня после ретиальной ишемии (1-я группа). А — остатки фибринозно-геморрагического детрита в зоне преретиального кровоизлияния (стрелка), отек сетчатки. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$; Б — спазм центральной артерии сетчатки (ЦАС) с сужением просвета сосуда (стрелка) и полным закрытием просвета сосудов малого калибра. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 1. Histological examination of the retina at day 3 after retinal ischemia (Group 1). А — fibrin and hemorrhagic debris in vitreous hemorrhage zone (arrow), retinal edema. H & E. $\times 200$; Б — spasm of central retinal artery (CRA) with constriction of the lumen (arrow). Occlusion of lumen in the vessels of smaller diameter. H & E. $\times 200$

Через 30 сут у животных 1-й группы наблюдалось утолщение хориоидеи и присутствие в ней большого количества пролиферирующих фибробластов и множества новообразованных сосудов. У 4 (50 %) животных дифференцировать слои сетчатки не представлялось возможным из-за инфильтрации ее лимфоцитами, эритроцитами и замещением сетчатки глиальной тканью с утратой нейрональных структур (рис. 3).

Таким образом, ретиальная ИР при субконъюнктивальном введении ЭТ-1 сопровождается поражением как наружных слоев сетчатки, так и выраженными структурными изменениями внутренних слоев к концу периода наблюдения (через 30 сут), что связано с микроциркуляторными нарушениями в системе ретинальных сосудов.

Особенностями патогистологической картины сетчатки через 3 сут после ишемии у животных 2-й группы, получавших ресвератрол, являлись менее выраженный отек внутреннего плексиформного слоя, наличие участков полностью сохранной сетчатки рядом с участками апоптоза ганглиозного слоя. Через 7 сут после ишемии у животных с гемофтальмом наблюдалась его макрофагальная резорбция. Выраженность отека внутреннего плексиформного слоя уменьшилась. Кроме того, в этот период отсутствовали признаки спазма артерий и гиперплазии эндотелиальных клеток сосудистой стенки. В поврежденных участках сетчатки отмечалось уменьшение числа клеток внутреннего ядерного слоя до 4–7 рядов с сохранным (рис. 4) или частично разрушенным слоем фоторецепторов. Через 30 сут исследование сетчатки показало наличие участков с неизмененными наружным и внутренним ядерными слоями и четко визуализирующимся слоем колбочек и палочек (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании для изучения влияния ресвератрола на нейротрофические и структурные изменения тканей при ретиальной ишемии была использована разработанная нами экспериментальная модель с субконъюнктивальным

введением ЭТ-1. В отличие от ранее представленного метода моделирования ИР сетчатки [26] с использованием субконъюнктивального введения крысам 0,3 мл 4×10^{-5} М ЭТ-1, предложенный нами способ предусматривает уменьшение концентрации ЭТ-1 в 10 раз и объема вводимого препарата на 30 %. Это снижает риск возможного системного влияния ЭТ-1 и делает исследование более экономичным при сохранении эффективности модели ИР [12]. Данная модель сопровождается поражением не только наружных слоев сетчатки (наружный ядерный и плексиформный слои), но и выраженными структурными изменениями внутренних слоев в поздний постишемический период (через 30 сут), что связано с микроциркуляторными нарушениями в системе ретинальных сосудов [1]. В нашем экспериментальном исследовании установлены лабораторные маркеры ишемического повреждения тканей глаза в раннем постишемическом периоде: увеличение факторов апоптоза BAX и BCL-2, повышение концентрации моноцитарного хемоаттрактантного протеина (MCP-1) в комплексе «сетчатка — хориоидея», свидетельствующие о выраженной активации клеточного апоптоза и воспалительной реакции в оболочках глаза. Кроме того, нами впервые определены максимальные уровни факторов апоптоза (BAX/BCL-2, sFas/FasL), маркеров воспаления (MCP-1) в позднем постишемическом периоде при ретиальной ИР в эксперименте. Выявленные изменения свидетельствуют о воспроизводимости представленного метода моделирования регионарной ИР и возможности его применения для изучения механизма поражения ретинальных клеток, а также оценки эффективности способов коррекции постишемических изменений.

Большинство морфологических и иммуногистохимических исследований в эксперименте на животных *in vivo* при моделировании ретиальной ишемии подтверждают антиапоптотический эффект ресвератрола и его влияние на целый ряд метаболических процессов, нейротрофические и структурные изменения в сетчатке [15–18, 24].

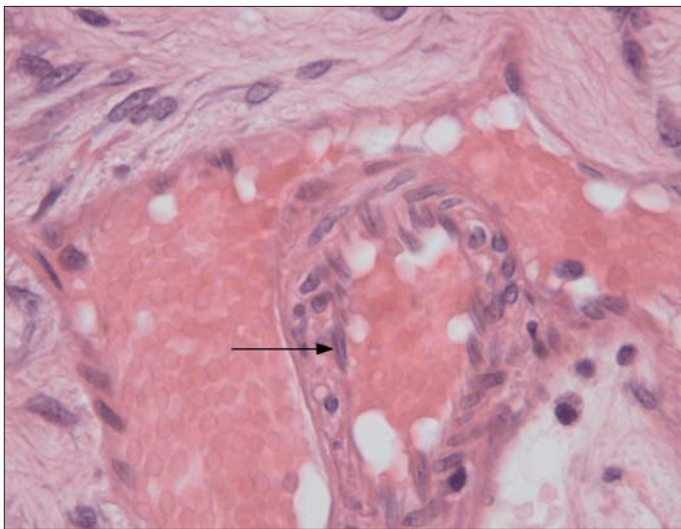


Рис. 2. Патогистологическая картина ткани сетчатки через 7 дней после ишемии (1-я группа). Спазм ЦАС с сохранением просвета, перпендикулярная ориентация ядер эндотелиальных клеток (стрелка), пролиферация клеток сосудистой стенки. Кровоизлияние вокруг ЦАС. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 2. Histological examination of the retina at day 7 after retinal ischemia (Group 1). Spasm of CRA with opened lumen. Endothelial cells are perpendicularly oriented (arrow), endothelial cell hyperplasia. Hemorrhage is visible around CRA. H & E. $\times 400$

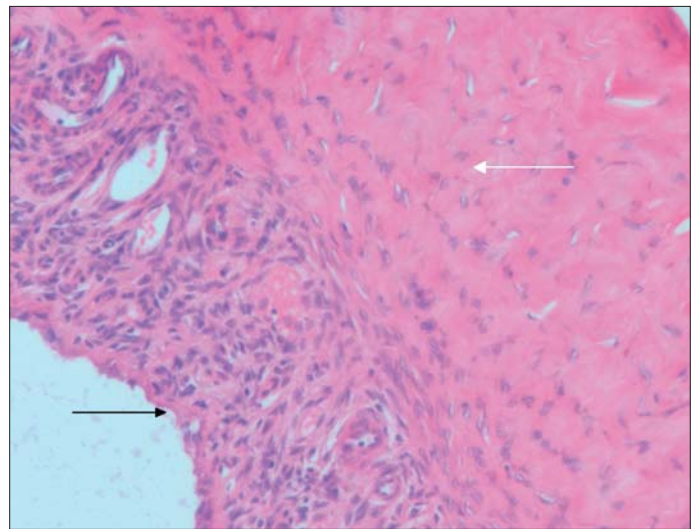


Рис. 3. Патогистологическая картина тканей сетчатки через 30 сут после ишемии (1-я группа). Субатрофия сетчатки (черная стрелка), выраженные фиброзные изменения хориоидеи и пролиферация сосудов (белая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 3. Histological examination of the retina at day 30 after retinal ischemia (Group 1). Subatrophy of retina (black arrow). Choroidal tissue is greatly changed. Fibrous tissue growth and proliferation of vessels (white arrow). H & E. $\times 200$

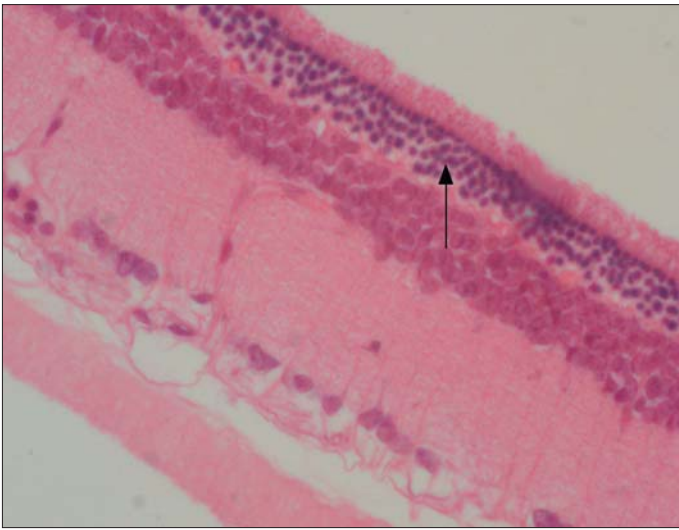


Рис. 4. Патогистологическая картина тканей сетчатки у животных через 7 сут после ретиальной ишемии (2-я группа). Уменьшение числа рядов наружного ядерного слоя (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 4. Histological examination of the retina at day 7 after retinal ischemia (Group 2). Reduced number cells in outer nuclear layer (arrow). H & E. $\times 200$

В недавнем исследовании J. Luo и соавт. [19] показано снижение VAX/VCL-2 и сохранность ГКС у мышей линии C57BL/6J при интравитреальном введении 100 μM ресвератрола за сутки до экспериментальной ИР сетчатки. Кроме того, авторы установили, что под влиянием ресвератрола в ретиальной ткани увеличивается уровень белка сиртуина SIRT1, который играет ведущую роль в регуляции клеточного гомеостаза, контролируя ряд важнейших процессов: транскрипцию генов, клеточную дифференцировку, стресс-ответ, воспаление и апоптоз. По мнению авторов, активация SIRT1 и подавление митохондриального пути апоптоза ГКС под влиянием ресвератрола указывают на его выраженный нейропротекторный эффект. Аналогичные результаты получены H. Seong и соавт. [20], которые в эксперименте на мышцах C57BL/6J продемонстрировали снижение гибели нейрональных клеток сетчатки и уменьшение экспрессии каспазы-3 и каспазы-8 (активаторов молекулярного каскада апоптоза) в раннем постишемическом периоде при интравитреальном введении ресвератрола.

Помимо снижения факторов апоптоза, результаты нашего исследования продемонстрировали достоверное уменьшение воспалительных и нейротрофических изменений в комплексе «сетчатка — хориоидея» у животных 2-й группы, получавших ежедневно ресвератрол в течение длительного времени. Данные патогистологических исследований подтвердили нейропротекторные свойства ресвератрола в суточной дозе 20 мг/кг. Отмечалось уменьшение выраженности признаков ишемического повреждения и интенсивности воспалительной реакции, клеточной лимфоцитарной реакции в хориоиде, апоптоза ганглиозных клеток в ранний постишемический период, сохранение участков с интактными ядерными слоями и слоем палочек и колбочек в позднем постишемическом периоде. У животных, получавших ресвератрол в течение длительного времени (более месяца), при патогистологическом исследовании оболочек глаза установлено наличие интактных участков сетчатки с сохранными ганглиозным и фоторецепторным слоями.

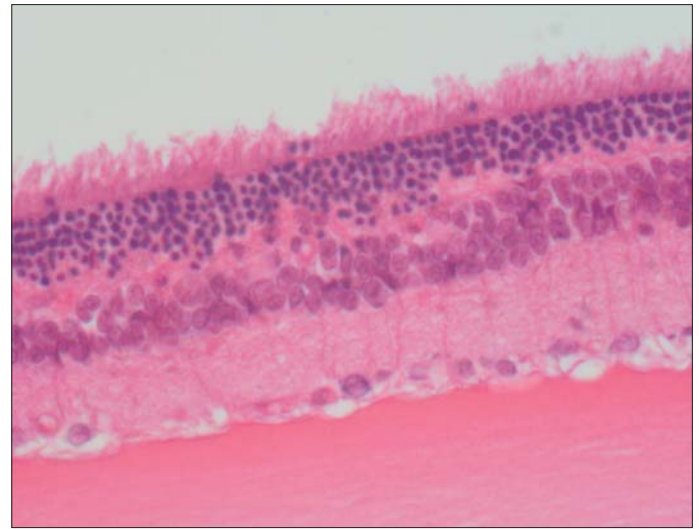


Рис. 5. Патогистологическая картина тканей сетчатки через 30 сут после ретиальной ишемии (2-я группа). Участок сохранной сетчатки. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

Fig. 5. Histological examination of the retina at day 30 after retinal ischemia (Group 2). Zone of normal retina. H & E. $\times 200$

ВЫВОДЫ

1. В эксперименте *in vivo* установлены ретинопротекторные, нейропротекторные и противовоспалительные свойства ресвератрола на основании снижения концентрации факторов внешнего и внутреннего путей апоптоза, маркеров воспаления и увеличения уровня нейротрофических факторов в сетчатке при ретиальной ИР.

2. Выявленное уменьшение апоптоза ганглиозных клеток, атрофии фоторецепторного слоя и сохранение клеток ядерных слоев при морфологическом исследовании сетчатки у крыс *in vivo* на фоне длительного приема ресвератрола (1–2 мес) подтверждает его ретино- и нейропротекторные свойства.

3. Экспериментальное обоснование нейропротекторных свойств ресвератрола является основанием для его последующего применения в клинической практике в комплексном лечении заболеваний сетчатки и зрительного нерва.

Литература/References

1. Киселева Т.Н., Чудин А.В. Экспериментальное моделирование ишемического поражения глаза. Вестник РАМН. 2014; (11–12): 97–103. [Kiseleva T.N., Chudin A.V. Experimental modeling of ischemic injury of the eye. Vestnik RAMN. 2014; (11–12): 97–103 (In Russian)].
2. Janáky M., Grösz A., Tóth E., Benedek K., Benedek G. Hypobaric hypoxia reduces the amplitude of oscillatory potentials in the human. ERG Documenta Ophthalmologica. 2007; 114 (1): 45–51. doi: 10.1007/s10633-006-9038-5
3. Oku H., Fukuhara M., Kurimoto T., et al. Endothelin-1 (ET-1) is increased in rat retina after crushing optic nerve. Current Eye Research. 2008; 33 (7): 611–20. https://doi.org/10.1080/02713680802213614
4. Tinjust D., Kergoat H., Lovasik J. Neuroretinal function during mild systemic hypoxia. Aviation, Space, and Environmental Medicine. 2002; 73 (12): 1189–94. PMID: 12498547
5. Carden D.L., Granger D.N. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. The journal of pathology. 2000 Feb; 90 (3): 255–66. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6.
6. Гундорова Р.А., Швецова Н.Е., Иванов А.Н. и др. Модель ишемии сетчатки: клинико-функциональное и гистологическое исследование. Вестник офтальмологии. 2008; 73 (3): 18–23. [Gundorova R.A., Shvecova N.E., Ivanov A.N., et al. Model of retinal ischemia: clinical-functional and histological examination. Vestnik oftal'mologii. 2008; 73 (3): 18–23 (In Russian)].
7. Каламкаргов Г.Р., Цапенко И.В., Зуева М.В. и др. Экспериментальная модель острой ишемии сетчатки глаза у крыс. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008; (6): 634–8. [Kalamkarov G.R., Tsapen-

- ko I.V., Zueva M.V., et al. An experimental model of acute retinal ischemia in rats. Bjulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny. 2008; 6: 634–8 (In Russian)].
8. Steele E. C., Guo Q., Namura S. Filamentous middle cerebral artery occlusion causes ischemic damage to retina in mice. Stroke. 2008; 39 (7): 2099–104. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.504357>
 9. Ueda K., Makahara T., Hoshino M., Mori A., Sakamoto K. Retinal blood vessels are damaged in rat model of NMDA-induced retinal degeneration. Neuroscience Letters. 2010; 485 (1): 55–9. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.08.061>
 10. Joachim S. C., Wax M. B., Boehm N., et al. Up-regulation of antibody response to heat shock proteins and tissue antigens in an ocular ischemia model. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2011 May; 52 (6): 3468–74. doi:<https://doi.org/10.1167/iovs.10-5763>
 11. Liu Y., Song X., Zhang D., et al. Blueberry anthocyanins: protection against ageing and light-induced damage in retinal pigment epithelial cells. British journal of nutrition. 2012 Jul; 108 (1): 16–27. doi: <https://doi.org/10.1017/S000711451100523X>
 12. Киселева Т.Н., Чудин А.В., Хорошилова-Маслова И.П. и др. Морфологические изменения в тканях сетчатки при регионарной ишемии-реперфузии в эксперименте in vivo. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019; 167 (2): 250–7. [Kiseleva T.N., Chudin A.V., Khoroshilova-Maslova I.P., et al. Morphological changes in retinal tissues during regional ischemia — reperfusion in vivo in an experiment. Bjulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny. 2019; 167 (2): 250–7 (In Russian)].
 13. Li C., Wang L., Huang K., Zheng L. Endoplasmic reticulum stress in retinal vascular degeneration: protective role of resveratrol. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012 May; 53 (6): 3241–9. doi: [10.1167/iovs.11-8406](https://doi.org/10.1167/iovs.11-8406)
 14. Vin A.P., Hu H., Zhai Y., et al. Neuroprotective effect of resveratrol prophylaxis on experimental retinal ischemic injury. Exp Eye Res. 2013 Mar; 108: 72–5. doi: [10.1016/j.exer.2012.11.022](https://doi.org/10.1016/j.exer.2012.11.022)
 15. Liu X.Q., Wu B.J., Pan W.H., et al. Resveratrol mitigates rat retinal ischemic injury: the roles of matrix metalloproteinase-9, inducible nitric oxide, and heme oxygenase-1. J. Ocul. Pharmacol. Ther. 2013 Feb; 29 (1): 33–40. doi:[10.1089/jop.2012.0141](https://doi.org/10.1089/jop.2012.0141)
 16. Huang W., Li G., Qiu J., Gonzalez P., Challa P. Protective effects of resveratrol in experimental retinal detachment. PLoS One. 2013 Sep; 8 (9): 725–35. doi: [10.1371/journal.pone.0075735](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075735)
 17. Kim Y.H., Kim Y.S., Kang S.S., Cho G.J., Choi W.S. Resveratrol inhibits neuronal apoptosis and elevated Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II activity in diabetic mouse retina. Diabetes. 2010 Jul; 59 (7): 1825–35. doi: [10.2337/db09-1431](https://doi.org/10.2337/db09-1431)
 18. Luo H., Zhuang J., Hu P., et al. Resveratrol delays retinal ganglion cell loss and attenuates gliosis-related inflammation from ischemia-reperfusion injury Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2018; 59 (10): 3879–38. <https://doi.org/10.1167/iovs.18-23806>
 19. Luo J., He T., Yang J., et al. SIRT1 is required for the neuroprotection of resveratrol on retinal ganglion cells after retinal ischemia-reperfusion injury in mice. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 2020; 258 (2): 335–44. <https://doi.org/10.1007/s00417-019-04580>
 20. Seong H., Ryu J., Yoo W.S., Seo S.W. Resveratrol ameliorates retinal ischemia/reperfusion injury in C57BL/6J mice via down regulation of Caspase-3. Current Eye Research. 2017; 42 (4): 1–9 <https://doi.org/10.1080/02713683.2017.1344713>
 21. Cao R., Ishida T., Fang Y., et al. Protection of the retinal ganglion cells: intravitreal injection of Resveratrol in mouse model of ocular hypertension Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2020 March; 61:13. <https://doi.org/10.1167/iovs.61.3.13>
 22. Pirhan D., Yuksel N., Emre E., Cengiz A., Kursat Yildiz D. Riluzole- and resveratrol-induced delay of retinal ganglion cell death in an experimental model of glaucoma. Curr. Eye Res. 2016; 41: 59–69. <https://doi.org/10.3109/02713683.2015.1004719>
 23. Statement for the Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research. 2016:10–35 Available at: http://www.arvo.org/About_ARVO/Policies/Statement_for_the_Use_of_Animals_in_Ophthalmic_and_Visual_Research/
 24. Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Кухаренко А.Е., Вичаре А.С., Рюффер Ф.П. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным. Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018; 8 (4): 207–17. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217> [Rybakova A.V., Makarova M.N., Kukharensko A.E., Vichare A.S., Rueffer F.R. Current Requirements for and Approaches to Dosing in Animal Studies. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 2018; 8 (4): 207–17 (In Russian). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217>]
 25. Hua J., Guerin K. I., Chen J., et al. Resveratrol inhibits pathological retinal revascularization in Vldlr(-/-) mice. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2011; 52 (5): 2809–16.
 26. Lau J., Dang M., Hockmann K., Ball A.K. Effects of acute delivery of endothelin-1 on retinal ganglion cell loss in the rat. Exp. Eye Res. 2006; 82 (1): 132–45. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.06.002>

Вклад авторов в работу: Т.Н. Киселева — разработка концепции и дизайна исследования, написание статьи; А.В. Чудин — сбор данных и их интерпретация; Н.В. Балацкая — сбор данных и их интерпретация; А.И. Щипанова — сбор данных и их интерпретация; И.П. Хорошилова-Маслова — сбор данных и их интерпретация; М.С. Зайцев — написание статьи, финальная подготовка статьи к публикации; А.М. Майбогин — сбор данных и их интерпретация; К.В. Луговкина — написание статьи, финальная подготовка статьи к публикации.

Authors' contribution: T.N. Kiseleva — development of research concept and design, writing the article; A.V. Chudin — collection and analysis of the data; N.V. Balatskaya — collection and analysis of the data; A.I. Shchipanova — collection and analysis of the data; I.P. Khoroshilova-Maslova — collection and analysis of the data; M.S. Zaytsev — writing and final preparation for publication; A.M. Maybogin — collection and analysis of the data; K.V. Lugovkina — writing and final preparation for publication.

Поступила: 15.07.2020

Переработана: 25.08.2020

Принята к печати: 26.08.2020

Originally received: 15.07.2020

Final revision: 25.08.2020

Accepted: 26.08.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ/INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Татьяна Николаевна Киселева — д-р мед. наук, профессор, начальник отдела ультразвуковых исследований глаза

Наталья Владимировна Балацкая — канд. мед. наук, начальник отдела иммунологии и вирусологии

Александра Ивановна Щипанова — канд. биол. наук, начальник экспериментального научного центра

Инна Петровна Хорошилова-Маслова — д-р мед. наук, профессор, начальник отдела патологической анатомии и гистологии

Максим Сергеевич Зайцев — младший научный сотрудник отдела ультразвуковых исследований глаза

Артемий Михайлович Майбогин — врач-патологоанатом отдела патологической анатомии и гистологии

Ксения Вадимовна Луговкина — канд. мед. наук, научный сотрудник отдела ультразвуковых исследований глаза

ГБУ МЗ Тюменской области «Областная больница № 4», ул. Республики, д. 78, г. Ишим, 627750, Россия

Антон Вячеславович Чудин — канд. мед. наук, заведующий офтальмологическим отделением

Для контактов: Максим Сергеевич Зайцев, zaicev1549@yandex.ru

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

Tatyana N. Kiseleva — Dr. of Med. Sci., professor, head of ultrasound diagnostic department

Natalya V. Balatskaja — Cand. of Med. Sci., head of the department of immunology and virology

Aleksandra I. Shchipanova — Cand. of Biol. Sci., head of the experimental scientific center

Inna P. Khoroshilova-Maslova — Dr. of Med. Sci., professor, head of the department of pathological anatomy and histology

Maksim S. Zaytsev — junior researcher of ultrasound diagnostic department

Artemiy M. Maybogin — pathologist of department of pathological anatomy and histology

Kseniya V. Lugovkina — Cand. of Med. Sci., researcher of ultrasound diagnostic department

Regional hospital № 4 of Tyumen region, 78, Respubliki St., Ishim, 627750, Russia

Anton V. Chudin — Cand. of Med. Sci., head of ophthalmology department

Contact information: Maksim S. Zaytsev, zaicev1549@yandex.ru