

УДК 617.7-007.681: 617.731

Способы моделирования глаукомной оптической нейропатии в эксперименте на крысах

ПЕТРОВ С.Ю., к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела глаукомы¹;

СУББОТ А.М., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии¹;

ГАБАШВИЛИ А.Н., к.б.н., научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии¹;

ВОЛЖАНИН А.В., ординатор¹;

ВИТКОВ А.А., студент².

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней», 119021, Российская Федерация, Москва, ул. Россолимо, 11А;

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 119048, Российская Федерация, Москва, Малая Трубецкая ул., 8.

Авторы не получали финансирования при проведении исследования и написании статьи.

Конфликт интересов: отсутствует.

Резюме

Использование экспериментальных моделей глаукомы *in vivo* позволяет расширить знания о патогенезе развития глаукомной оптической нейропатии (ГОН). Важным критерием выбора экспериментального животного является возможность экстраполяции экспериментальных данных на человека. В обзоре рассмотрены основные модели экспериментальной глаукомы на грызунах, а также особенности техники выполнения с учетом их анатомии и физиологии.

Использование крыс в моделировании глаукомы обладает такими преимуществами, как доступность и быстрое прогрессирование заболевания. Различают генетические модели, основанные на врожденном нарушении гидродинамики вследствие мутации генов, и индуцированные модели, к которым относятся повышение внутриглазного давления (ВГД) и инициирование нейропатии без влияния на офтальмотонус.

Методы, основанные непосредственно на воздействии на гидродинамику глаза, приводят к повышению офтальмотонуса и последующему развитию ГОН. К ним относят

термическое, механическое и лазерное воздействие на пути оттока. Оптическая нейропатия без повышения ВГД может быть смоделирована с помощью механического повреждения зрительного нерва, ишемии с последующей реперфузией, эксайтотоксического фактора, а также интравитреального введения эндотелина-1 или бенгальского розового с последующей фотостимуляцией.

В генетических моделях используются грызуны с врожденными изменениями в дренажной системе глаза из-за мутаций семейства DBA и $\alpha 1$ -субъединицы коллагена I типа, синтеза измененного миоцилина, экспрессии кальцитонинподобного рецептора, что приводит к развитию стойкой ГОН.

Имеющийся к настоящему моменту широкий спектр методик воспроизведения глаукомного процесса у грызунов является перспективным и важным элементом исследований *in vivo*, посвященных патогенезу и лечению глаукомы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: глаукома, крысы, моделирование глаукомы, экспериментальные животные.

Для контактов:

Волжанин Андрей Вячеславович, e-mail: avolzhanin@mail.ru

ENGLISH

Rat models of glaucomatous optic neuropathy

PETROV S.YU., Ph.D., Leading Research Associate of the Glaucoma Department¹;

SUBBOT A.M., Ph.D., Senior Research Associate, Laboratory of fundamental research in Ophthalmology¹;

GABASHVILI A.N., Ph.D., Research Associate, Laboratory of fundamental research in Ophthalmology¹;

VOLZHANIN A.V., resident¹;

VITKOV A.A., student².

¹The Scientific Research Institute of Eye Diseases, 11A Rossolimo st., Moscow, Russian Federation, 119021;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8 Malaya Trubetskaya st., Moscow, Russian Federation, 119048.

Conflict of interest and source of finding: none declared.

Abstract

Experimental *in vivo* glaucoma models allow expanding the knowledge of the glaucomatous optic neuropathy pathogenesis. An important criterion of choosing an experimental animal model is the ability to extrapolate received data to humans. This review covers main models of experimental glaucoma in rodents and its technology, including rodent anatomy and physiology specifics.

Using rats in glaucoma modeling offers the advantage of fast disease progression and ease of use. Genetic models are based on congenital impairment of intraocular hydrodynamics due to gene mutation; induced models refer to artificial intraocular pressure (IOP) elevation or initiation of neuropathy without affecting the aqueous outflow.

Methods aimed at hydrodynamics alteration lead to IOP increase and thus to glaucomatous optic neuropathy development. These include thermic, mechanical and laser

effects on the aqueous humor outflow. Optic neuropathy without affecting IOP can be caused by mechanical impairment of the optic nerve, ischemia followed by reperfusion, excitotoxicity, or intravitreal injection of endothelin-1 or rose bengal with following photostimulation.

Genetic glaucoma models include rodents with congenital impairment of eye drainage zone due to gene mutations, such as DBA gene family and $\alpha 1$ -subunits of I-type collagen mutation, synthesis of altered myocilin or calcitonin receptor-like receptor expression.

The current range of rodent glaucoma modelling methods is a perspective and important part of *in vivo* studies, related to glaucoma pathogenesis and treatment.

KEYWORDS: glaucoma, rats, glaucoma model, experimental animals.

Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в изучении глаукомы, ее патогенез по-прежнему полностью не изучен, а имеющаяся терапия, хоть и обоснована патогенетически, не влияет на этиологию заболевания. Актуальны фундаментальные исследования, направленные на изучение звеньев патогенеза и исследования новых молекул, потенциально обладающих лекарственным действием. Важной задачей для подобных исследований является наличие подходящей модели заболевания. Имеющиеся модели глаукомы можно разделить на математические (*in silico* — «в кремнии»), *in vitro* и *in vivo*. Модели *in vivo*, в свою очередь, делятся на модели собственно глаукомы, основанные на повышении внутриглазного давления (ВГД), и на модели нейропатии, не зависящие от изменения офтальмотонуса.

Математические модели, как правило, рассматривают глаз как совокупность структур, обладающих определенными физическими и гидродинамическими свойствами [1-3]. Хотя применение математических

систем и было до определенной степени успешным в моделировании патологических процессов, обусловленных глаукомным поражением, они по-прежнему остаются узкоспециализированными и не отражают все множество аспектов живой системы.

In vitro для моделирования глаукомы чаще всего применяется изолированная сетчатка или культуры ее отдельных клеток — ганглиоцитов, астроцитов и клеток микроглии. При изучении молекулярных процессов, в частности, окислительного фосфорилирования, применяют также клетки периферической крови [4]. Глаукомный процесс в таком случае имитируется при помощи повышенного давления в культуральной системе, ограничения трофики и ингибирования синтеза АТФ и оксидазы цитохрома-С, инициацией эксайтотоксического повреждения [5-7].

Модели *in vivo*, однако, не теряют своей актуальности, т. к. позволяют наиболее комплексно и близко к клинической картине воспроизвести течение патологического процесса.

Сложность заключается в определении возможности экстраполировать данные, полученные в эксперименте, на человека (соблюдение принципа подобия). В биомедицине принцип подобия человека и биологической модели определяется как сходство морфофункциональных характеристик органов и систем, сходство их метаболических процессов, сходство времени и качества реакции на исследуемое воздействие и сопоставимость количественно оцениваемых параметров [8-10]. При моделировании глаукомы эта задача решается с помощью использования в эксперименте различных животных — коров, овец, обезьян, птиц, пресноводных рыб, собак, кошек, свиней, морских свинок, мышей, кроликов и крыс.

Особенности крыс как модельных животных для изучения глаукомы

Использование мелких грызунов в качестве экспериментальных животных имеет свои преимущества. Так, маленький размер обуславливает простоту и дешевизну в содержании, а короткий жизненный цикл (около двух лет) обеспечивает быстрое взросление особей, благодаря чему заболевание сравнительно быстро прогрессирует.

К особенностям морфологии глаза у крыс стоит отнести прохождение ретинальных сосудов из полости глаза в глазницу не в толще зрительного нерва, а под ним, что обуславливает важность пространственной ориентации среза диска зрительного нерва (ДЗН) при создании гистологических препаратов [11]. В отличие от высших животных, решетчатая пластинка у крыс (также у мышей и морских свинок) состоит не из коллагена, а преимущественно из астроцитов и капилляров («глиальная ламина»), связанных друг с другом и с аксонами ганглиозных клеток [12-14]. Сразу после мембраны Бруха диаметр зрительного нерва составляет 85 ± 7 мкм, через 100 мкм диаметр увеличивается до 95 ± 13 мкм, а через 350 — до 236 ± 49 мкм из-за появления так называемой «зоны перехода», в которой начинается миелинизация. Зрительный нерв становится полностью миелинизированным приблизительно в 400 мкм позади мембраны Бруха [15]. Около ДЗН располагается крупный перипапиллярный венозный синус, обеспечивающий анастомозирование хориоидальных вен и центральной вены сетчатки. Основным механизмом оттока водянистой влаги у крыс, как и у приматов, происходит через трабекулярную сеть в шлеммов канал, далее в лимбальное сплетение и в эписклеральные вены [16].

У крыс хорошо выражены суточные колебания офтальмотонуса, например, ночью ВГД может повышаться более чем на 10 мм рт.ст. [17-19]. Были выявлены три паттерна реакции на механическое повреждающее воздействие на механизм оттока. ВГД при недостаточном воздействии не изменяется,

при умеренном повреждении — значительно повышается только в ночную фазу, при выраженном повреждении ВГД симметрично повышено как в дневную, так и в ночную фазы [20]. Так как в ходе эксперимента измерение ВГД проводится, как правило, днем, вариабельность паттернов следует учитывать при определении корреляции глубины поражения сетчатки и повышения офтальмотонуса.

Измерение ВГД у крыс представляет определенную сложность. Наиболее точным методом является прямая манометрия [21]. Это исследование является инвазивным, также следует учитывать потенциальный гипотензивный эффект общей анестезии [22-24]. Тем не менее некоторые авторы относят прямую манометрию к «золотому стандарту» [25]. Сравнительно недавно были разработаны новые неинвазивные методы измерения ВГД, основанные на замедлении движущегося зонда и оптической интерферометрии [26]. В исследованиях часто применяются бесконтактные тонометры типа TonoPen и TonoLab [23, 27, 28]. Модификации пневмотонометров и тонометра Гольдмана, как правило, неудобны при измерении ВГД у мелких животных [25].

Модели глаукомы, основанные на повышении ВГД

Оригинальная конструкция механизма для индуцирования глаукомы с помощью **введения гипертонического раствора в эписклеральные вены** описана J.C. Morrison et al. Микроигла для инъекции (3 мм × 50-80 мкм) создается с помощью нагревания и вытягивания 10-микрометровой одноразовой микропипетки из боросиликатного стекла (VWR, Сизтл, США). Один конец получившейся трубки затачивается мелкозернистым буром из оксида алюминия; другой конец вставляется в полиэтиленовую трубку, которая соединяется с иглой 23G (диаметр иглы — 600 мкм — в 10 раз больше требуемого диаметра микроиглы). Игла соединяется со шприцом или инфузوماتом. Авторы рекомендуют герметизировать сочленения с помощью эпоксидного цемента, эпоксидное сочленение между микроиглой и трубкой также является местом удержания всей системы пинцетом при выполнении манипуляции.

Так как эписклеральные вены широко анастомозируют друг с другом через лимбальное сплетение, введенный в одну вену раствор может не достичь трабекулярного аппарата. Чтобы это предотвратить, на экватор глаза крысы надевается пластиковое кольцо диаметром 5,5 мм с разрывом для катетеризируемой вены. На внутренней стороне кольца должна быть продольная бороздка, благодаря которой будет обеспечиваться фиксация кольца на экваторе и компрессия остальных эписклеральных вен.

Независимо от концентрации раствора, его профильтровывают сквозь фильтр 0,22 мкм, чтобы предотвратить засор микроиглы. Ориентировочный объем инфузии составляет 50 мкл в течение 10 секунд. Рекомендована молярность раствора 1,5-2 М [11]. Повышение ВГД может сохраняться более 28 недель [11, 29]. Эта модель применялась для отработки циклодиализа на крысах [30].

Похожей моделью глаукомы является **каутеризация (прижигание) двух и более эписклеральных вен**. К преимуществам метода относится возможность регулировать уровень гипертензии путем определения количества каутеризируемых вен. Так, воздействие на одну вену не приводит к выраженному повышению ВГД, а при воздействии на две или три вены происходит пиковый подъем к 50 мм рт.ст. с последующей стабилизацией на уровне около 20-30 мм рт.ст. Установлено, что в этом случае происходит гибель ганглиозных клеток сетчатки со скоростью примерно 4% в неделю. При каутеризации четырех вен ВГД повышается до уровня 60 мм рт.ст. и сохраняется до двух месяцев [25, 31-33]. Несмотря на техническую сложность манипуляции, в эксперименте на мышах группе исследователей удалось добиться двукратного повышения ВГД, сохранявшегося четыре месяца [34].

Лазерное воздействие на дренажные структуры также может применяться с целью индуцирования глаукомы. Впервые этот метод был опробован на макаках-резус в 1974 г. [35]. Первая попытка применить лазерное воздействие на крысах заключалась в коагуляции эписклеральных вен, в ходе которой было достигнуто повышение ВГД с $13 \pm 1,8$ до $20 \pm 2,8$ мм рт.ст., с пиковым значением в 32 мм рт.ст. [36]. В ходе первого эксперимента по индуцированию глаукомы путем лазерного воздействия на трабекулярную сеть крысам в переднюю камеру через иглу 30G вводили тушь, затем, спустя неделю, когда частицы углерода оседали на трабекулярной сети, проводили воздействие аргоновым лазером через гониолинзу. Авторы сообщали о трехкратном лазерном воздействии с недельным интервалом, в ходе которого развивалось повышение ВГД до 25 мм рт.ст. При прекращении воздействия ВГД постепенно снижалось [37]. Группа других исследований добились значительного повышения ВГД при комбинированном транслимбальном воздействии на трабекулярную сеть и эписклеральные вены с помощью диодного лазера [38]. Также лазерная фотокоагуляция механизма оттока водянистой влаги успешно применялась в различных экспериментах на мышах [36, 39, 40].

К особенностям метода относятся транзиторный характер офтальмогипертензии (тем не менее было показано, что прогрессирующая гибель ганглионарных клеток продолжается и после нормализации ВГД [38]) и зависимость эффективности метода от уровня пигментации структур угла передней камеры.

Существуют прочие варианты индуцирования подъема ВГД, не затрагивающие прямое повреждающее воздействие на механизм оттока. Описаны модели, основанные на введении гиалуроновой кислоты или латексных микросфер диаметром 10 мкм в переднюю камеру [41, 42]. Системное введение S-антигена применяется для индуцирования увеальной глаукомы [43]. Одним из самых простых методов индуцирования глаукомы у крыс является субконъюнктивальное введение дексаметазона на протяжении двух недель, однако эта модель инициирует воспалительную реакцию и необратимый пролиферативный процесс [44]. Описан способ индуцирования волнообразных суточных флюктуаций ВГД, основанный на внешнем воздействии силиконовой петлей на зону лимба ежедневно в течение часа [45].

Модели глаукомы, не связанные с повышением ВГД

Одним из способов индуцировать оптическую нейропатию без повышения ВГД является **механическое повреждение** аксонов, которое инициирует ретроградный дегенеративный процесс в теле нейрона. Этот процесс называется Валлеровой дегенерацией. Процедура является сравнительно несложной и может быть выполнена у крыс и мышей. Выполняют височную кантотомию, с помощью тупой диссекции окружающих тканей обнажают зрительный нерв. Сосуды орбиты во время всей манипуляции должны оставаться интактными. Зрительный нерв пережимают пинцетом либо частично или полностью пересекают алмазным лезвием. Целесообразно после выполнения манипуляции провести офтальмоскопию, чтобы убедиться в сохранности кровотока.

Было показано, что через неделю после манипуляции количество ганглиозных клеток уменьшается до 47%, через две недели — до 27% [46]. Полная аксонотомия приводит к гибели практически всех ганглиозных клеток сетчатки в течение нескольких недель. Тем не менее в отдельных публикациях отмечалось сохранение до 90% ганглиозных клеток сетчатки в течение двух недель после повреждающего воздействия на зрительный нерв [47, 48].

Для инициирования оптической нейропатии также может применяться **индуцирование эксайтотоксичности**. При одновременном интравитреальном введении большого объема (20-200 наномоль) глутамата, N-метил-D-аспартата (NMDA) или каиновой кислоты выраженный апоптоз ганглиозных клеток происходит в течение первого часа после инъекции [25, 49]. Применение малых доз глутамата в течение длительного времени (2,5 наномоль каждые 5 дней) в эксперименте инициировало гибель 42% ганглиозных клеток в течение 3 месяцев [50]. В силу функциональной незрелости гематоэнцефалического барьера у новорожденных грызунов

системное применение глутамата также приводит к появлению эксайтотоксичности и развитию оптиконеуропатии [25].

Ишемия с последующей реперфузией вызывает распространенное поражение клеток сетчатки, за счет чего эта модель относится скорее к дегенерации сетчатки. Период ишемии длится 30-120 минут, после чего проводится реперфузия [51, 52]. Ишемия может быть вызвана различными способами. Так, кровоток через сосуды глаза останавливается, если ВГД превышает перфузионное давление. Этого можно добиться, если поднять ВГД до уровня 110 мм рт.ст. и выше. Несмотря на столь высокую офтальмогипертензию, считается, что в этом случае гибель ганглиозных клеток наступает в первую очередь из-за ишемии [25]. Описан метод наложения лигатуры на зрительный нерв, предполагается возможность выделения центральной артерии сетчатки из зрительного нерва для ее независимого лигирования [25, 53]. Сравнительно менее инвазивным методом является интравитреальное введение бенгальского розового, который затем стимулируется лазерным излучением, вызывая тромбоз ретинальных сосудов. Позже тромбоз может быть элиминирован с помощью системной тромболитической терапии [54]. Показано, что ретробульбарное или субконъюнктивальное введение эндотелина-1 вызывает преходящую ишемию, в частности, ретробульбарное его введение приводит к снижению кровотока в сосудах зрительного нерва на 68% [55-57].

Генетические модели глаукомы у грызунов

Существует ряд трансгенных животных, изначально страдающих глаукомой. К основным видам грызунов с генетически индуцированной глаукомой относят мышей с мутациями семейства DBA. Наиболее распространенным вариантом этой мутации является DBA/2J, обусловленная мутациями в генах *Tgfr1* и *Gripmb*, кодирующими белок, связывающий тирозиназу и гликозилированный трансмембранный белок. Мутация сопровождается пигментной дисперсией, атрофией и трансиллюминацией радужки и развитием передних синехий. Офтальмогипертензия, сопровождающаяся развитием оптиконеуропатии, появляется у животных на 9 месяце жизни [58, 59]. Другим генетическим вариантом является мутация DBA/2NNia, также сопровождающаяся развитием глаукомы, однако клинические проявления развиваются у животных гораздо позже [60].

Вышеуказанные мутации были обнаружены у мышей ретроспективно. В ходе целенаправленной работы были выведены животные, у которых в трабекулярной области синтезируется измененный мышинный (*Tgfr423His*) или человеческий (*Tgfr437His*) миоцилин. У мышей с этой патологией развивается

умеренная офтальмогипертензия с подъемом ВГД на 2-4 мм рт.ст., тем не менее у них отмечается прогрессирующая оптиконеуропатия [61, 62]. Как правило, подобная мутация у людей приводит к гораздо более выраженному глаукомному поражению [63].

К прочим моделям глаукомы относят мышей с мутацией $\alpha 1$ -субъединицы коллагена I типа. У животных с этой мутацией ВГД повышено в среднем на 5 мм рт.ст. при отсутствии изменений в дренажной системе [64]. Недавно была обнаружена возможность индуцировать глаукому с помощью сверхэкспрессии внутриклеточного сигнального пути Wnt [65]. Также существует генетическая модель нормотензивной глаукомы, при которой поражение ганглиозных клеток сетчатки развивается в условиях нормотонии. Патогенетический механизм основан на недостаточности переносчиков глутамата GLAST или EAAC1. Было показано, что при недостаточности GLAST снижен уровень глутатиона, причем назначение антагонистов глутаматных рецепторов оказывает нейропротекторный эффект, а при недостаточности EAAC1 ганглиозные клетки более восприимчивы к оксидативному стрессу [66].

Также существует генетическая модель закрытоугольной глаукомы, основанная на экспрессии кальцитонинподобного рецептора (calcitonin receptor-like receptor). В ходе индуцирования релаксации зрачкового сфинктера у крыс происходит резкое повышение ВГД до 50 мм рт.ст. приблизительно между первым и вторым месяцем жизни [67]. Некоторые авторы полагают, что скрещивание животных с разными видами мутаций может привести к более выраженной патологии, в частности, этот эффект наблюдался при скрещивании особей с измененным миоцилином с особями, подверженными экспрессии других белков, задействованных в развитии глаукомы [25].

Таким образом, к настоящему моменту описан ряд методик, позволяющих воспроизвести глаукомный процесс у грызунов. Моделирование глаукомы основывается на физическом вмешательстве в механизм гидродинамики и последующей офтальмогипертензии, либо же на индуцировании оптиконеуропатии. Существуют генетические модели грызунов, у которых заболевание развивается без внешнего воздействия. Имеющиеся модели позволяют реализовывать исследования *in vivo*, посвященные изучению патогенеза глаукомы и разработке новых лекарственных средств.

Литература/References

1. Бауэр С.М., Товстик П.Е., Качанов А.Б. К вопросу о построении математической модели развития глаукомы. *Российский журнал биомеханики* 1999; 3(2):9-10. [Bauer S.M., Tovstik P.E., Kachanov A.B. On the question of creating a mathematical model of glaucoma development. *Rossiyskiy zhurnal biomekhaniki* 1999; 3(2):9-10. (In Russ.)].

2. Морщина А.А., Морщина Д.А. О математическом моделировании глаукомы. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 1. Математика. Механика. Астрономия* 2014; 1(1):144-151. [Morschinina A.A., Morschinina D.A. About mathematical modelling of glaucoma. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 1. Matematika. Mekhanika. Astronomiya* 2014; 1(1):144-151. (In Russ.)].
3. Павлюченко К.П., Сердюк В.Н., Могилевский С.Ю. Многофакторная математическая модель эффективности лечения первичной открытоугольной глаукомы. *Офтальмология Восточная Европа* 2014; 4(23):267-271. [Pavluchenko K.P., Serdyuk V.N., Mogilevskiy S.Yu. Multifactor mathematical model of efficiency of treatment of primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology Eastern Europe* 2014; 4(23):267-271. (In Russ.)].
4. Izzotti A., Sacca S.C., Longobardi M., Cartiglia C. Mitochondrial damage in the trabecular meshwork of patients with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2010; 128(6):724-730. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.87.
5. Алябьева Ж.Ю., Романова Т.Б., Липатова В.А., Ботчей В.М. Экспериментальные модели глаукомы в свете исследований новых нейропротекторов. *РМЖ Клиническая офтальмология* 2015; 15(3):145-149. [Alyabyeva Zh.Yu., Romanova T.B., Lipatova V.A., Botchei V.M. Experimental models of glaucoma in the research of a new neuroprotection treatment. *RMJ Clinical Ophthalmology* 2015; 15(3):145-149. (In Russ.)].
6. Levin L.A. Animal and culture models of glaucoma for studying neuroprotection. *Eur J Ophthalmol* 2001; 11 Suppl 2: S23-29.
7. Palmero M., Bellot J.L., Castillo M., Garcia-Cabanes C., Miquel J., Orts A. An in vitro model of ischemic-like stress in retinal pigmented epithelium cells: protective effects of antioxidants. *Mech Ageing Dev* 2000; 114(3):185-190.
8. Даренская Н.Г., Ушаков И.Б., Иванов И.В., Насонова Т.А., Есауленко И.Э., Попов В.И. Экстраполяция экспериментальных данных на человека в физиологии и радиологии. Воронеж: Истоки, 2004; 232 с. [Darenskaya N.G., Ushakov I.B., Ivanov I.V., Nasonova T.A., Esaulenko I.E., Popov V.I. Ekstrapolyatsiya eksperimental'nykh dannykh na cheloveka v fiziologii i radiologii [Extrapolation of the experimental data on a human in physiology and radiology]. Voronezh, Istoki Publ., 2004. 232 p. (In Russ.)].
9. Красовский Г.Н., Егорова Н.А., Антонова М.Г. Проблема экстраполяции результатов биотестирования на человека. *Токсикологический вестник* 2000; (6):13-19. [Krasovskiy G.N., Egorova N.A., Anonova M.G. Problem of biotesting results extrapolation on a human. *Toksikologicheskij vestnik* 2000; (6):13-19. (In Russ.)].
10. Каркищенко Н.Н. Экстраполяция экспериментальных данных на методику испытания лекарственных средств в клинике. *Фармакология и токсикология* 1982; (3):22. [Karkischenko N.N. Experimental data extrapolation on the methodologies of drug clinical study. *Farmakologiya i toksikologiya* 1982; (3):22. (In Russ.)].
11. Morrison J.C., Cepurna W.O., Johnson E.C. Modeling glaucoma in rats by sclerosing aqueous outflow pathways to elevate intraocular pressure. *Exp Eye Res* 2015; 141:23-32. doi: 10.1016/j.exer.2015.05.012
12. Morrison J., Farrell S., Johnson E., Deppmeier L., Moore C.G., Grossmann E. Structure and composition of the rodent lamina cribrosa. *Exp Eye Res* 1995; 60(2):127-135.
13. Sun D., Lye-Barthel M., Masland R.H., Jakobs T.C. The morphology and spatial arrangement of astrocytes in the optic nerve head of the mouse. *J Comp Neurol* 2009; 516(1):1-19. doi: 10.1002/cne.22058.
14. Tehrani S., Johnson E.C., Cepurna W.O., Morrison J.C. Astrocyte processes label for filamentous actin and reorient early within the optic nerve head in a rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55(10):6945-6952. doi: 10.1167/iovs.14.14969.
15. Nguyen J.V., Soto I., Kim K.Y., Bushong E.A. et al. Myelination transition zone astrocytes are constitutively phagocytic and have synuclein dependent reactivity in glaucoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(3):1176-1181. doi: 10.1073/pnas.1013965108
16. Morrison J.C., Fraunfelder F.W., Milne S.T., Moore C.G. Limbal microvasculature of the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36(3):751-756.
17. Kwong J.M., Vo N., Quan A., Nam M. et al. The dark phase intraocular pressure elevation and retinal ganglion cell degeneration in a rat model of experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 2013; 112:21-28. doi: 10.1016/j.exer.2013.04.008.
18. Lozano D.C., Hartwick A.T., Twa M.D. Circadian rhythm of intraocular pressure in the adult rat. *Chronobiol Int* 2015; 32(4): 513-523. doi: 10.3109/07420528.2015.1008135.
19. Moore C.G., Johnson E.C., Morrison J.C. Circadian rhythm of intraocular pressure in the rat. *Curr Eye Res* 1996; 15(2):185-191.
20. Jia L., Cepurna W.O., Johnson E.C., Morrison J.C. Patterns of intraocular pressure elevation after aqueous humor outflow obstruction in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(6): 1380-1385.
21. John S.W., Hagaman J.R., MacTaggart T.E., Peng L., Smithes O. Intraocular pressure in inbred mouse strains. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38(1):249-253.
22. Jia L., Cepurna W.O., Johnson E.C., Morrison J.C. Effect of general anesthetics on IOP in rats with experimental aqueous outflow obstruction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(11):3415-3419.
23. Johnson T.V., Fan S., Toris C.B. Rebound tonometry in conscious, conditioned mice avoids the acute and profound effects of anesthesia on intraocular pressure. *J Ocul Pharmacol Ther* 2008; 24(2):175-185. doi: 10.1089/jop.2007.0114.
24. Savinova O.V., Sugiyama F., Martin J.E., Tomarev S.I. et al. Intraocular pressure in genetically distinct mice: an update and strain survey. *BMC Genet* 2001; 2:12.
25. Johnson T.V., Tomarev S.I. Rodent models of glaucoma. *Brain Res Bull* 2010; 81(2-3):349-358. doi: 10.1016/j.brainresbull.2009.04.004.
26. Filippopoulos T., Matsubara A., Danias J., Huang W. et al. Predictability and limitations of non-invasive murine tonometry: comparison of two devices. *Exp Eye Res* 2006; 83(1):194-201. doi: 10.1016/j.exer.2005.12.005.
27. Saeki T., Aihara M., Ohashi M., Araie M. The efficacy of TonoLab in detecting physiological and pharmacological changes of mouse intraocular pressure comparison with TonoPen and microneedle manometry. *Curr Eye Res* 2008; 33(3):247-252. doi: 10.1080/02713680801919716.
28. Pease M.E., Hammond J.C., Quigley H.A. Manometric calibration and comparison of TonoLab and TonoPen tonometers in rats with experimental glaucoma and in normal mice. *J Glaucoma* 2006; 15(6):512-519. doi: 10.1097/01.jgg.0000212276.57853.19.
29. Morrison J.C., Moore C.G., Deppmeier L.M., Gold B.G., Meshul C.K., Johnson E.C. A rat model of chronic pressure-induced optic nerve damage. *Exp Eye Res* 1997; 64(1): 85-96. doi: 10.1006/exer.1996.0184.
30. Johnson E.C., Cepurna W.O., Jia L., Morrison J.C. The use of cyclo-dialysis to limit exposure to elevated intraocular pressure in rat glaucoma models. *Exp Eye Res* 2006; 83(1):51-60. doi: 10.1016/j.exer.2005.10.032.
31. Shareef S.R., Garcia-Valenzuela E., Salierno A., Walsh J., Sharma S.C. Chronic ocular hypertension following episcleral venous occlusion in rats. *Exp Eye Res* 1995; 61(3):379-382.
32. Laquis S., Chaudhary P., Sharma S.C. The patterns of retinal ganglion cell death in hypertensive eyes. *Brain Res* 1998; 784(1-2): 100-104.
33. Roubeix C., Godefroy D., Mias C., Sapienza A. et al. Intraocular pressure reduction and neuroprotection conferred by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an animal model of glaucoma. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6:177. doi: 10.1186/s13287-015-0168-0.
34. Ruiz-Ederra J., Verkman A.S. Mouse model of sustained elevation in intraocular pressure produced by episcleral vein occlusion. *Exp Eye Res* 2006; 82(5):879-884. doi: 10.1016/j.exer.2005.10.019
35. Gaasterland D., Kupfer C. Experimental glaucoma in the rhesus monkey. *Invest Ophthalmol* 1974; 13(6):455-457.
36. Gross R.L., Ji J., Chang P., Pennesi M.E. et al. A mouse model of elevated intraocular pressure: retina and optic nerve findings. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2003; 101:163-169; discussion 169-171.
37. Ueda J., Sawaguchi S., Hanyu T., Yaoeda K. et al. Experimental glaucoma model in the rat induced by laser trabecular photocoagulation after an intracameral injection of India ink. *Jpn J Ophthalmol* 1998; 42(5):337-344.

38. Levkovitch-Verbin H., Quigley H.A., Martin K.R., Valenta D., Baumrind L.A., Pease M.E. Translimbal laser photocoagulation to the trabecular meshwork as a model of glaucoma in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43(2):402-410.
39. Grozdanic S.D., Betts D.M., Sakaguchi D.S., Allbaugh R.A., Kwon Y.H., Kardon R.H. Laser-induced mouse model of chronic ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44(10):4337-4346.
40. Ji J., Chang P., Pennesi M.E., Yang Z. et al. Effects of elevated intraocular pressure on mouse retinal ganglion cells. *Vision Res* 2005; 45(2):169-179. doi: 10.1016/j.visres.2004.08.008.
41. Moreno M.C., Marcos H.J., Oscar Croxatto J., Sande P.H. et al. A new experimental model of glaucoma in rats through intracameral injections of hyaluronic acid. *Exp Eye Res* 2005; 81(1): 71-80. doi: 10.1016/j.exer.2005.01.008.
42. Urcola J.H., Hernandez M., Vecino E. Three experimental glaucoma models in rats: comparison of the effects of intraocular pressure elevation on retinal ganglion cell size and death. *Exp Eye Res* 2006; 83(2):429-437. doi: 10.1016/j.exer.2006.01.025.
43. Mermoud A., Baerveldt G., Mickler D.S., Wu G.S., Rao N.A. Animal model for uveitic glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994; 32(9):553-560.
44. Газизова И.Р., Алексеев В.Н., Никитин Д.Н. Экспериментальное воспроизведение глаукомного процесса. *Офтальмологические ведомости* 2013; 4(3):43-50. [Gazizova I.R., Alekseev V.N., Nikitin D.N. Experimental reproduction of the glaucomatous process. *Ophthalmologic vedomosti* 2013; 4(3):43-50. (In Russ.)].
45. Gramlich O.W., Teister J., Neumann M., Tao X. et al. Immune response after intermittent minimally invasive intraocular pressure elevations in an experimental animal model of glaucoma. *J Neuroinflammation* 2016; 13(1):82. doi: 10.1186/s12974-016-0542-6.
46. Levkovitch-Verbin H., Harris-Cerruti C., Groner Y., Wheeler L.A., Schwartz M., Yoles E. RGC death in mice after optic nerve crush injury: oxidative stress and neuroprotection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(13):4169-4174.
47. Berkelaar M., Clarke D.B., Wang Y.C., Bray G.M., Aguayo A.J. Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats. *J Neurosci* 1994; 14(7):4368-4374.
48. Blair M., Pease M.E., Hammond J., Valenta D. et al. Effect of glaucoma acetate on primary and secondary degeneration of retinal ganglion cells in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(3): 884-890. doi: 10.1167/iovs.04-0731.
49. Li Y., Schlamp C.L., Poulsen G.L., Jackson M.W., Griep A.E., Nickells R.W. p53 regulates apoptotic retinal ganglion cell death induced by N-methyl-D-aspartate. *Mol Vis* 2002; 8:341-350.
50. Vorwerk C.K., Lipton S.A., Zurakowski D., Hyman B.T., Sabel B.A., Dreyer E.B. Chronic low-dose glutamate is toxic to retinal ganglion cells. Toxicity blocked by memantine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37(8):1618-1624.
51. Buchi E.R. Cell death in rat retina after pressure-induced ischaemia-reperfusion insult: electron microscopic study. II. Outer nuclear layer. *Jpn J Ophthalmol* 1992; 36(1):62-68.
52. Buchi E.R., Suvaizdis I., Fu J. Pressure-induced retinal ischemia in rats: an experimental model for quantitative study. *Ophthalmologica* 1991; 203(3):138-147.
53. Stefansson E., Wilson C.A., Schoen T., Kuwabara T. Experimental ischemia induces cell mitosis in the adult rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29(7):1050-1055.
54. Mosinger J.L., Olney J.W. Photothrombosis-induced ischemic neuronal degeneration in the rat retina. *Exp Neurol* 1989; 105(1): 110-113.
55. Chauhan B.C., LeVatte T.L., Jollimore C.A., Yu P.K. et al. Model of endothelin-1-induced chronic optic neuropathy in rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(1):144-152.
56. Chauhan B.C., LeVatte T.L., Garnier K.L., Tremblay F. et al. Semi-quantitative optic nerve grading scheme for determining axonal loss in experimental optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47(2):634-640. doi: 10.1167/iovs.05-1206.
57. 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 model of ocular ischemic diseases. *Vestnik Rossijskoi Akademii Meditsinskikh Nauk* 2014; 11-12:97-103. (In Russ.)].
58. Libby R.T., Anderson M.G., Pang I.H., Robinson Z.H. et al. Inherited glaucoma in DBA/2J mice: pertinent disease features for studying the neurodegeneration. *Vis Neurosci* 2005; 22(5): 637-648. doi: 10.1017/S0952523805225130.
59. Anderson M.G., Smith R.S., Hawes N.L., Zabaleta A. et al. Mutations in genes encoding melanosomal proteins cause pigmentary glaucoma in DBA/2J mice. *Nat Genet* 2002; 30(1):81-85. doi: 10.1038/ng794.
60. Bayer A.U., Neuhardt T., May A.C., Martus P. et al. Retinal morphology and ERG response in the DBA/2Nnia mouse model of angle-closure glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(6): 1258-1265.
61. Zhou Y., Grinchuk O., Tomarev S.I. Transgenic mice expressing the Tyr437His mutant of human myocilin protein develop glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(5):1932-1939. doi: 10.1167/iovs.07-1339.
62. Senatorov V., Malyukova I., Fariss R., Wawrousek E.F. et al. Expression of mutated mouse myocilin induces open-angle glaucoma in transgenic mice. *J Neurosci* 2006; 26(46):11903-11914. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3020-06.2006.
63. Alward W.L., Fingert J.H., Coote M.A., Johnson A.T. et al. Clinical features associated with mutations in the chromosome 1 open-angle glaucoma gene (GLC1A). *N Engl J Med* 1998; 338(15): 1022-1027. doi: 10.1056/NEJM199804093381503.
64. Mabuchi F., Lindsey J.D., Aihara M., Mackey M.R., Weinreb R.N. Optic nerve damage in mice with a targeted type I collagen mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(6):1841-1845.
65. Wang W.H., McNatt L.G., Pang I.H., Millar J.C. et al. Increased expression of the WNT antagonist sFRP-1 in glaucoma elevates intraocular pressure. *J Clin Invest* 2008; 118(3):1056-1064. doi: 10.1172/JCI33871.
66. Harada T., Harada C., Nakamura K., Quah H.M. et al. The potential role of glutamate transporters in the pathogenesis of normal tension glaucoma. *J Clin Invest* 2007; 117(7):1763-1770. doi: 10.1172/JCI30178.
67. Ittner L.M., Schwedtfeger K., Kunz T.H., Muff R. et al. Transgenic mice with ocular overexpression of an adrenomedullin receptor reflect human acute angle-closure glaucoma. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114(1):49-58. doi: 10.1042/CS20070163.

Поступила 01.02.2017