

Вплив поляризованого світла на життєздатність гангліонарних клітин сітківки при глаукомі низького тиску у щурів

К.С. Агашков¹, М.Є. Краснякова¹, Н.С. Ніколайчук², О.А. Рибачук¹, Є.Ю. Забенько¹, А.В. Дромарецький¹, І.В. Шаргородська², С.О. Риков², Н.В. Войтенко¹

¹Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ, e-mail: nana@biph.kiev.ua

²Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Київ.

В роботі експериментальну глаукому низького тиску у щурів індукували пошкодженням зорових нервів. Гангліонарні клітини сітківки (ГКС) ідентифікували за допомогою введення флуоресцентного барвника Fluorogold у структури, де закінчуються аксони цих клітин, а саме superior colliculi середнього мозку. Було показано, що у щурів з експериментальною глаукомою суттєво зменшується кількість ГКС порівняно із контрольними щурами. Середня кількість клітин у сітківках, отриманих від щурів з глаукомою низького тиску, була $235,2 \pm 29,9$, а у контролі $567,0 \pm 42,2$. Аналіз дії поляризованого світла на ГКС в моделі експериментальної глаукоми у щурів не виявив істотних відмінностей від результатів у вибірці без впливу.

Ключові слова: глаукома низького тиску; гангліонарні клітини сітківки; поляризоване світло.

ВСТУП

Глаукома – велика група очних захворювань, що характеризується зниженням гостроти зору, атрофією зорового нерва та пошкодженням гангліонарних клітин сітківки (ГКС). Це тяжке, прогресуюче захворювання, що є першопричиною незворотної сліпоти у світі [1]. Воно проходить безсимптомно і часто діагностується вже при значній втраті поля зору. Історично склалося, що глаукома вважається хворобою високого внутрішньоочного тиску. Однак у низці праць показано, що близько половини всіх пацієнтів з діагнозом первинної відкритокутової глаукоми у досліджуваній популяції має внутрішньоочний тиск нижче ніж 21 мм рт. ст. [2]. Сам термін «глаукома низького тиску» з'явився в науковій медичній літературі в XX столітті і продовжує застосовуватися в сучасній медицині. Статистично глаукома низького тиску становить від 30 до 40 % усіх пацієнтів з характерними для неї дефектами полів зору. Глаукома низького тиску

(нормотензивна глаукома) – це прогресуюча нейропатія зорового нерва без підвищення внутрішньоочного тиску, що характеризується звуженням полів, зниженням гостроти зору чи розвитком повної сліпоти.

Еволюційно зорова система виникла завдяки існуванню електромагнітних хвиль оптичного діапазону, одним з біотропних параметрів якого є поляризоване світло. Світло називається поляризованим, якщо взаємно перпендикулярні вектори напруги електричного та магнітного полів коливаються зі сталою в часі різницею фаз. Воно виникає при розсіюванні сонячного світла в межах атмосфери та гідросфери, а також при відбитті світла від водних поверхонь, ґрунту, гірських порід, рослинності. В свою чергу пайлер-світло – це лінійне поляризоване некогерентне поліхроматичне світло з довжиною хвилі 400-2000 нм (видимий і легкий інфрачервоний спектр світла за винятком ультрафіолетового опромінювання). Ступінь поляризації пайлер-світла близько

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

95 %. Світло некогерентне, тому потік випромінювання впливає з постійною інтенсивністю. Пайлер-терапія – застосування поляризованого поліхроматичного некогерентного з низькою інтенсивністю випромінювання світла видимого та інфрачервоного спектра в лікувальних цілях. Заснував світлотерапію датський лікар Нільс Ріберг Фінзен більше ніж 100 років тому. У 1903 р. він був нагороджений Нобелівською премією (медицина) за досягнення в лікуванні світлом. Фінзен створив перший апарат, який генерував світло, подібне сонячному, та отримав значні позитивні результати у лікуванні пацієнтів, які страждали на шкірний туберкульоз (вовчак). За даними Bueno і Artal [3] рецептори сітківки реагують на поляризоване світло, а в зоровій корі при цьому виникають викликані потенціали у відповідь на стимуляцію сітківки ока поляризованим світлом. Однак досі є невивченим вплив поляризованого світла при глаукомі низького тиску.

Дослідження та пошук нових методів лікування глаукоми низького тиску – важливе питання, оскільки несвоєчасне та неефективне лікування може мати значні негативні наслідки для індивідуального та громадського здоров'я.

Мета нашого дослідження – вивчити вплив поляризованого світла на життєздатність гангліонарних клітин сітківки при глаукомі низького тиску у щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на дорослих щурах-самцях лінії Вістар масою 250300 г. Всі експериментальні процедури проводили згідно з нормами Комітету з біоетики тварин Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України та відповідали директивам європейської комісії (86/609/ЕЕС). Були докладені зусилля для зменшення страждань тварин та мінімізації їх кількості. При проведенні маніпуляцій дотримувалися умов антисептики та асептики.

Ретроградне маркування гангліонарних клітин сітківки. Один із основних методів для візуалізації ГКС є проведення стереотаксичних ін'єкцій 2%-го розчину барвника Fluorogold (FG, "Termofisher scientific", США) [4,5] з подальшою їх ідентифікацією за допомогою флуоресцентної мікроскопії [6-8]. Ін'єкції здійснювали з використанням такого обладнання: стандартна рамка для стереотаксису, тримач для голови щура, індивідуально виконаний тримач для шприца, пінцет, мікроножиці, голкотримач та шприц Гамільтона (Hamilton). Під час операції щурів анестезували інтраперитонеально сумішшю кетаміну (60 мг/кг, «Фармак», Україна) та ксилазіну (10мг/кг, «Біовет-Пулаві», Польща) і перевіряли на наявність арефлексії до больового стимулу. Шкіру в тім'яній ділянці очищали від шерсті, тварину закріплювали в рамку стереотаксу. Захисні очні краплі капали в кожне око для запобігання пересиханню очей протягом операції. Потиличну ділянку оброблювали 70%-м розчином спирту і розчином повідон-йоду. Шкіру розтинали поздовжньо в проекції сагітального шва, що дало змогу візуалізувати такі структури черепа та відповідні орієнтири, як сагітальний шов, брегма, лямбдоподібний і потиличний шви. Рану оброблювали 3%-м розчином перекису водню. Після ідентифікації брегми, *superior colliculus* (SC) – верхній або зоровий горбок чотиригорбикового тіла – визначали згідно з атласом [9] за координатами: -6,5 мм AP; 1,2 мм ML; 3,5 мм DV (рис. 1) з кожного боку півкуль. Трепанційні отвори черепа робили з обох боків відповідно до цих координат. За допомогою мікрогвинта та шприца Гамільтона виконували ін'єкцію FG (200 нл) у *superior colliculus* кожної півкулі. Голку утримували 3 хв для запобігання витікання барвника. Далі накладали шви на рану та обробляли шкіру розчином повідон-йоду. Після операції тварин переміщували в суху, підігріту клітку та спостерігали за ними до відновлення їх функцій, після чого транспортували у віварій. Барвник FG актив-

но захоплюється терміналами відповідних аксонів, які мають синаптичні перемикання у *superior colliculus*, та транспортується до соми клітин за допомогою міковезикул, де і акумулюється. На 3-тю добу більшість ГКС стає FG-позитивними та можуть бути використані для подальшого дослідження.

Індукція експериментальної глаукоми низького тиску. Як модель глаукоми низького (нормального) тиску використовували пошкодження зорового нерва [10], що відтворює основну картину розвитку патологічного процесу, характерного для цього захворювання при збереженні нормальних показників внутрішньоочного тиску [11,12]. Операцію на обох очах проводили на 3-тю добу після ін'єкції FG. Захисні очні краплі капали в кожне око для запобігання пересиханню очей протягом операції. Тварин фіксували під бінокулярним мікроскопом та проводили латеральну кантотомію для доступу до заднього полюса очного яблука. Бульбарну кон'юнктиву в верхній темпоральній ділянці обережно фіксували мікропінцетом та під кутом 90°C розсікали мікроножицями. М'які тканини розводили для запобігання травмуванню судин та м'язів. Зоровий нерв

виділяли на відстані приблизно 1 мм від заднього полюса очного яблука, після чого на нього накладали самозатискаючий пінцет Dumont No. 5 на 3 с (див. рис. 1). На кон'юнктиву та на латеральний кут ока накладали шви. Після операції тварин переміщували в суху підігріту клітку та спостерігали за ними до відновлення їх функцій, після чого транспортували у віварій.

Застосування поляризованого світла. На 1-шу добу після пошкодження зорового нерва та протягом наступних 10 діб щоденно в один і той самий час використовували поляризоване світло з зеленим фільтром апарата «Біоптрон» для вивчення його дії за таких умов. Тварин фіксували спеціальними затискачами, ліве око екранували та з відстані 30 см протягом 3 хв проводили терапію світлом правого ока. Досліди проводили в затемненій кімнаті при відсутності дії прямого природного та штучного освітлення. Після чого тварин повертали до віварію.

Морфологічні дослідження. Через добу після останнього сеансу в 10-денному курсі тварини були виключені з експерименту за допомогою етаназії діетиловим ефіром та дислокації шийного відділу спинного мозку. Очі енуковали та переміщали в камеру з розчином Рінгера (ммоль/л): NaCl-115, KCl-3, CaCl₂-2, MgCl₂-1, NaH₂PO₄-1, NaHCO₃-25, глюкоза-11, насиченим сумішшю (95% O₂ та 5% CO₂). У цьому розчині сітківки з кожного ока відпрепарували та робили декompresійні розрізи, після чого відразу фіксували охолодженим розчином 4%-го параформальдегіду протягом 1 год. Надалі тканину сітківки відмивали охолодженим розчином 0,1 М фосфатного буфера та фіксували покривним склом у спеціальному середовищі для флуоресцентних препаратів («Sigma», США). Оптичні дослідження проводили за допомогою конфокального мікроскопа FluoView™ FV1000 («Olympus Inc.», Японія) з цифровою фотокамерою, поєднаною з

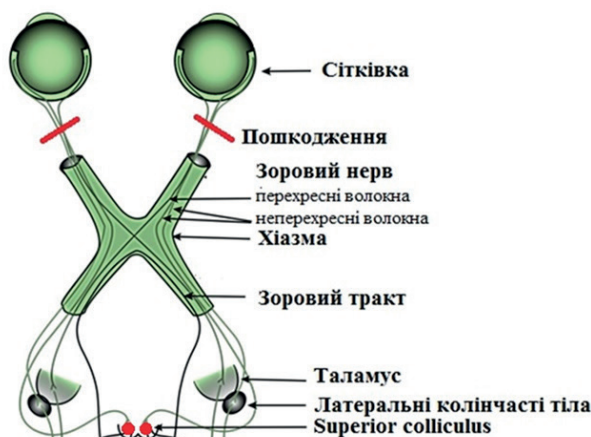


Рис. 1. Схематичне зображення основних структур зорового аналізатора. Червоними лініями позначені місця пошкодження зорового нерва в ділянці заднього полюса очного яблука, червоними точками – місця проведення стереотаксичних ін'єкцій барвника Fluoro-gold

комп'ютером. Кількість FG-позитивних клітин у тканині сітківки в нормі та після моделювання глаукоми підраховували в межах прямокутної зони фіксованого розміру – 0,4 мм² за конфокальними знімками за допомогою програми для підрахунку клітин, яку попередньо написали на мові Python з використанням програмних бібліотек Scikit-Image, Numpy, OpenCV2, Matplotlib.

Після енукеації проводили трепанацію черепа та вилучення головного мозку щура, який відразу занурювали у 4%-й розчин параформальдегіду та залишали для фіксації на ніч при 4°C. Потім тканину головного мозку відмивали охолодженим розчином 0,1 М фосфатного буфера. Надалі готували вібротомні коронарні зрізи головного мозку товщиною 200 мкм та проводили якісну оцінку раніше виконаних стереотаксичних ін'єкцій. *Статистичний аналіз результатів.* Усі результати представлено у вигляді середнього значення \pm SEM з n, що стосується

кількості досліджуваних тварин або кількості клітин. Обробку результатів проводили в програмі Windows Microsoft Excel 2010 за методами варіаційної статистики та критерієм t Стюдента. Значення $P < 0,05$ вважали статистично значущим.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ретроградне мічення гангліонарних клітин сітківки. При проведенні аналізу конфокальних знімків коронарних зрізів головного мозку щурів був встановлений добре візуалізований флуоресцентний сигнал, який відповідав ділянці наявності флуоресцентного барвника FG (рис. 2), що дає підставу на подальшу ідентифікацію ГКС. Кількісну оцінку FG-позитивних ГКС проводили за допомогою програми для підрахунку клітин на конфокальних зображеннях (рис. 3), кожне з яких оброблювали за наступним алгоритмом: просторові низько-

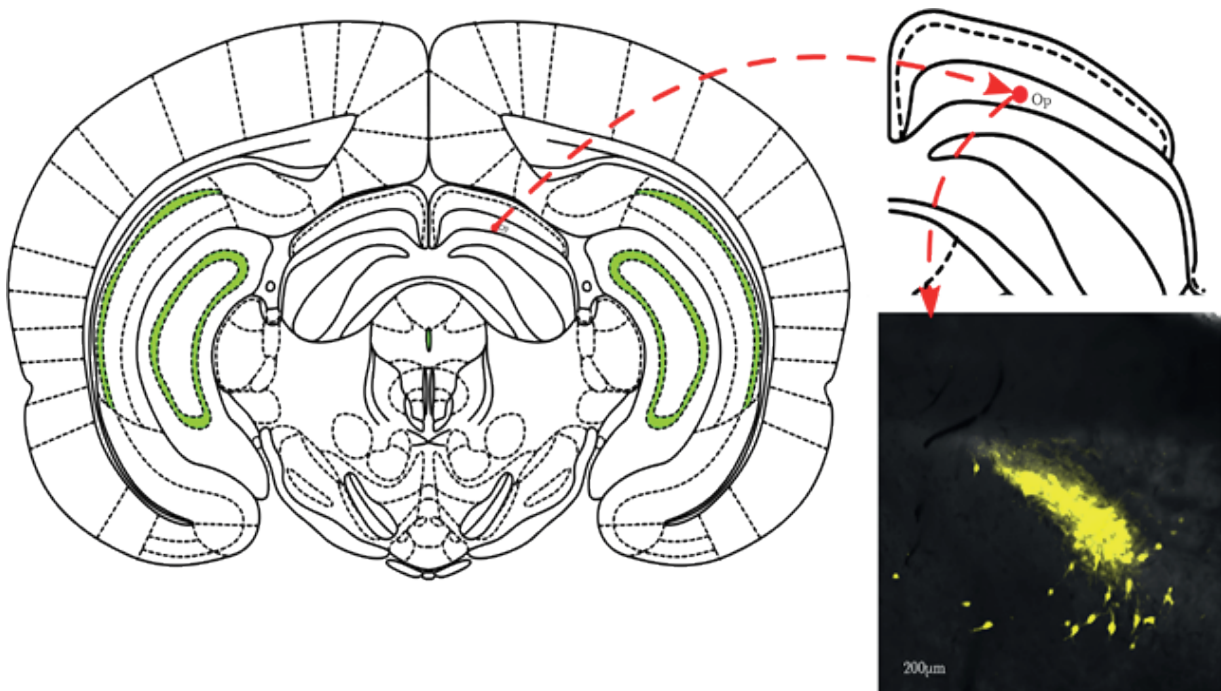


Рис. 2. Схематичне зображення (відповідно до атласу Paxinos, G. [14]) головного мозку щура (зліва) та ділянки superior colliculus (зверху справа). Червоною точкою позначено місце ін'єкції. Op – шар зорового нерва у superior colliculus. Знизу справа – зображення FG-позитивних клітин у superior colliculus

та високочастотна фільтрації для усунення низькочастотних градієнтів та просторових шумів відповідно; переведення зображення до чорно-білого представлення; видалення замалих та завеликих плям; сегментація зображення та підрахунок клітин (рис. 4).

Вивчення життєздатності ГКС, які пошкоджуються при глаукомі, є можливим тільки після їх специфічної ідентифікації. Один із основних методів для візуалізації більшості ГКС є їх відстеження за допомогою введен-

ня барвників у структури, де закінчуються аксони цих клітин, а саме superior colliculi середнього мозку [4,5]. Для цього ми виконували стереотаксичні ін'єкції з використанням специфічного ретроградного барвника FG. Він активно захоплюється терміналами відповідних аксонів та транспортується до соматичних клітин, де і акумулюється. Після чого за допомогою флуоресцентної мікроскопії, можна чітко визначити популяцію ГКС. Як вказують автори, така ідентифікація є високоспецифічною [6-8].

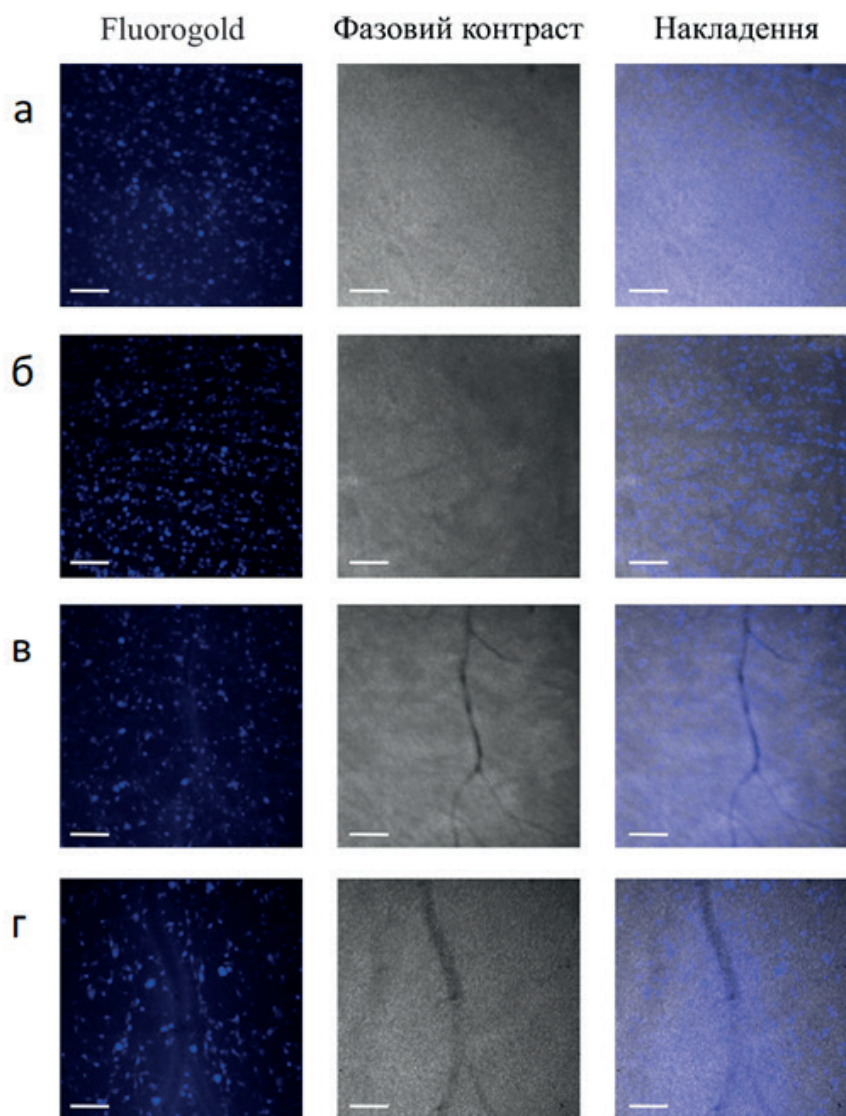


Рис. 3. Приклади конфокальних зображень FG-позитивних клітин; шкала 100 мкм; а – контроль, б – контроль і дія світла, в – глаукома, г – глаукома і дія світла

Розвиток глаукоми низького тиску та вплив на ГКС щурів. На 3-тю добу після проведення ретроградного мічення гангліонарних клітин сітківки на групі щурів ($n=7$) було виконано травматичне пошкодження зорового нерва на 1 мм від очного яблука на обох очах. Кількісним аналізом FG-позитивних ГКС

показано суттєве достовірне зменшення числа гангліонарних клітин при експериментальній глаукомі порівняно з контролем. Середня кількість клітин у сітківках, отриманих від щурів з глаукомою низького тиску, була $235,2 \pm 29,9$, а у контролі – $567,0 \pm 42,2$ ($P \leq 0,0003$, рис. 5).

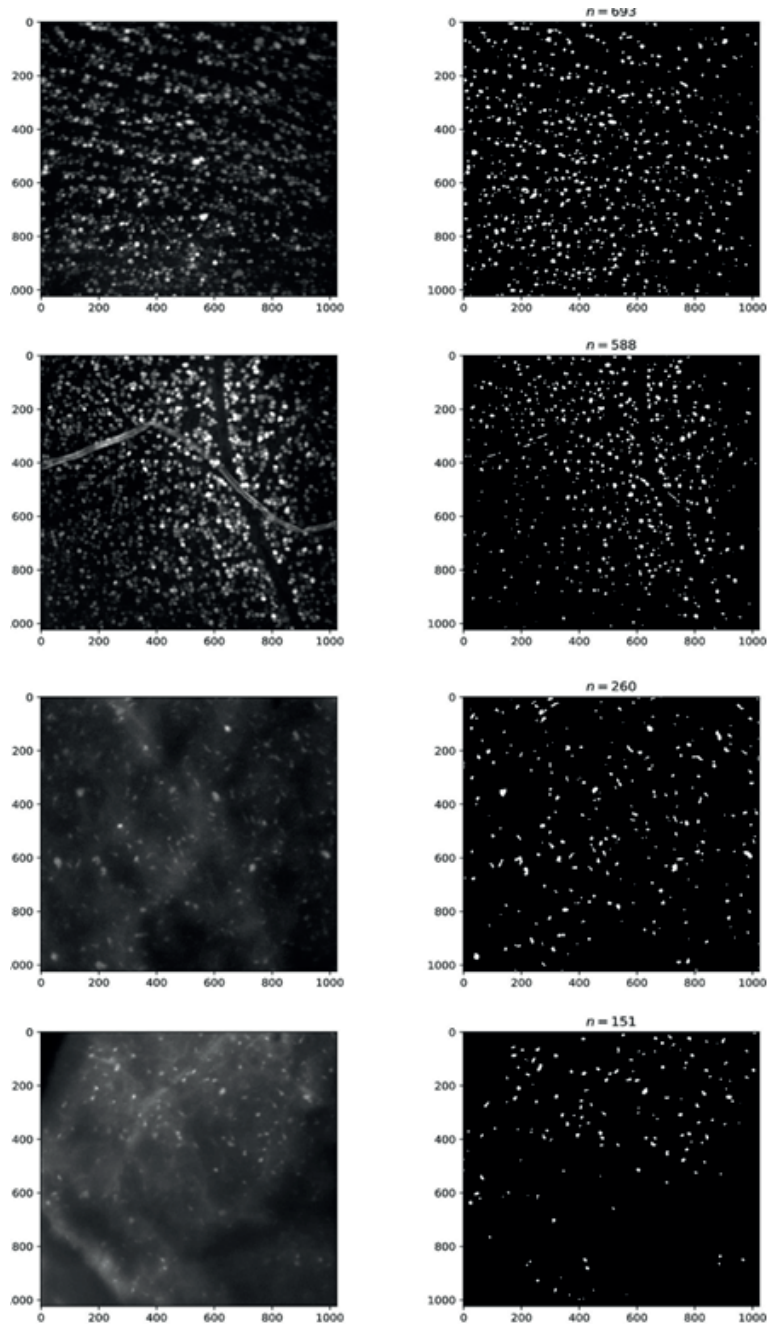


Рис. 4. Приклади візуалізації FG-позитивних клітин

Пошкодження оптичного нерва – одна з класичних методик вивчення механізмів розвитку глаукоми, а саме загибелі гангліонарних клітин сітківки та втрати зору [13]. У розвитку цього стану можуть бути задіяні різні механізми. Враховуючи той факт, що очі це імунокомпетентний орган, захищений від дії периферичних імунних клітин,

можна припустити, що внаслідок травми активуються мікроглія сітківки, астроцити та клітини Мюллера, які синтезують різні прозапальні медіатори (глутамат-d-серин, нітрит азоту, фактор некрозу пухлин α і β) і призводять до пошкодження гангліонарних клітин [14,15]. Також у разі розвитку глаукоми описана дисфункція мітохондрій [16], за якої порушується окисне фосфорилювання та обмін енергії в клітині з накопиченням реактивних форм кисню, активність цитохрому С, та проапоптотичних медіаторів і врешті-решт запускаються механізми апоптозу клітин сітківки. Існують праці з вивчення нейпротективного впливу при експериментальній глаукомі у шурів [17,19].

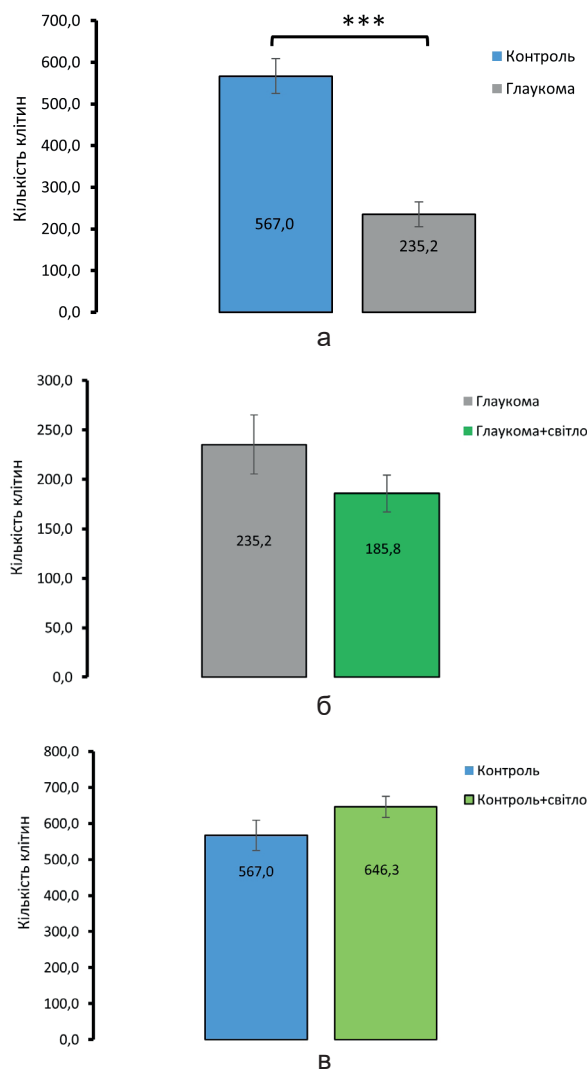


Рис. 5. Вплив глаукоми низького тиску та поляризованого світла на гангліонарні клітини сітківки (ГКС) шурів; а – зменшення кількості ГКС при експериментальній глаукомі, б – відсутність токсичного впливу поляризованого світла на кількість FG-позитивних ГКС, в – відсутність токсичного впливу поляризованого світла на кількість FG-позитивних ГКС при глаукомі

Вплив поляризованого світла на ГКС. Для оцінки впливу поляризованого світла на ГКС використали групу шурів ($n = 6$), яким було проведено ретроградне мічення при введенні FG у *superior colliculi* кожної півкулі. На 3-тю добу кожна тварина отримувала терапію поляризованим світлом з зеленим фільтром за допомогою апарату «БІОПТРОН». Її ліве око екранували, а на праве проводили експозицію світла протягом 3 хв з відстані 30 см. Після 10 сеансів терапії тварин виводили з експерименту та проводили кількісну оцінку FG-позитивних клітин.

При порівнянні кількості ГКС лівого та правого ока не виявили достовірної різниці між цими двома групами, хоча була помітна позитивна тенденція до збереження більшої кількості ГСК у тканині сітківки при терапії поляризованим зеленим світлом (див. рис. 5). Середня кількість клітин у сітківках ока контрольних тварин становила $567,0 \pm 42,2$, тоді як у сітківках, на які впливали поляризованим зеленим світлом – $646,3 \pm 29,3$ ($P=0,269$). Результати цього експерименту демонструють, що обрані протоколи впливу поляризованого зеленого світла на здорове око не є токсичними або певною мірою шкідливими та можуть бути використані

при подальшому дослідженні у встановленні лікувальних впливів на експериментальній моделі глаукоми щурів.

Вплив поляризованого світла на ГКС при глаукомі. Аналіз дії поляризованого світла на ГКС в моделі глаукоми низького тиску у щурів не показав суттєвих відмінностей, хоча спостерігалася тенденція до зменшення ГКС за впливу терапії поляризованим зеленим світлом. Середня кількість клітин у сітківках, отриманих від щурів з глаукомою низького тиску, становила $235,2 \pm 29,9$, а у щурів з глаукомою, що підлягали впливу поляризованого світла – $185,8 \pm 18,5$ ($P = 0,096$, рис. 5).

За Калесникас і співавт. [20] після пошкодження оптичного нерва відбуваються значні зміни в морфології гангліонарних клітин сітківки, а саме зниження флуоресцентного сигналу від ГКС, що залишилися, зменшення довжини дендритів та рівня їх розгалуження порівняно з контролем. На 9-ту добу після пошкодження оптичного нерва майже всі аксони були відсутні або мали дегенеративні зміни, та залишалося приблизно 36 % гангліонарних клітин порівняно з контролем. Відповідно до цих даних, ми отримали подібні результати – 34 % зменшення кількості ГКС при експериментальній глаукомі порівняно з контролем.

Кару та співав. [21] висловили гіпотезу, що цитохромоксидаза – фермент, що каталізує перенесення електронів з цитохрому С на молекули кисню на фінальному етапі роботи дихального ланцюга всередині мітохондрій – відіграє роль первинного фоторецептора. Надалі її інтенсивно досліджували і неодноразово підтверджували [22,23]. Групою вчених з Медичного коледжу Висконсина [24] у дослідженнях було продемонстровано, що світлодіодна фотостимуляція ока індукує каскад сигнальних подій, ініційованих початковим поглинанням світла цитохромоксидазою. Вони можуть включати активацію найближчих ранніх генів, факторів

транскрипції, експресії гена субдиниці цитохромоксидази та багатьох інших ферментів та шляхів, пов'язаних з підвищеним окисним метаболізмом [25-27] generation of singlet oxygen, localized transient heating of absorbing chromophores, and increased superoxide anion production with subsequent increase in concentration of the product of its dismutation, H_2O_2 . A cascade of reactions connected with alteration in cellular homeostasis parameters (pH_i , $[Ca_i]$, cAMP, Eh, [ATP] and some others. Окрім збільшення окисного метаболізму, як відомо, стимуляція мітохондріального електронного перенесення сприяє збільшенню утворення активних форм кисню [25] generation of singlet oxygen, localized transient heating of absorbing chromophores, and increased superoxide anion production with subsequent increase in concentration of the product of its dismutation, H_2O_2 . A cascade of reactions connected with alteration in cellular homeostasis parameters (pH_i , $[Ca_i]$, cAMP, Eh, [ATP] and some others. Ці мітохондріально утворені реактивні форми кисню можуть функціонувати як сигнальні молекули для забезпечення зв'язку між мітохондріями та цитозолем і ядром і, таким чином, відіграють важливу сигнальну роль у активації ретинопротекторних процесів після світової обробки, що підтверджувалося покращенням зору [27]. Стимуляція цитохромоксидази за допомогою світла ймовірно призводить до підвищення енергетичного обміну у мітохондріях, підвищення рівня метаболізму в клітинах, активувати їх проліферацію та міграцію [28]. Тому в нашому дослідженні позитивна тенденція до збереження більшості гангліонарних клітин у сітківці здорового ока за дії поляризованого світла може бути наслідком стимуляції саме ферменту цитохромоксидази.

Відсутність бажаного позитивного впливу зеленого поляризованого світла на життєздатність ГКС при експериментальній глаукомі низького тиску у щурів можна поясню-

вати невідосконалим протоколом терапії або неправильно підбраною довжиною хвилі світла. В свою чергу інші дослідники вказують, наприклад, на позитивний вплив червоного та інфрачервоного світла на шляхи відновлення клітин сітківки після травми зорового нерва [24]. Доцільним є подальше вивчення і удосконалення методики експерименту, а також протоколу терапії.

Загалом оцінюючи отримані результати та дані літератури можна стверджувати про наявність тенденції на позитивний вплив поляризованого світла на гангліонарні клітини сітківки. Біологічна дія енергії світла реалізується фотохімічною трансформацією у мітохондріях через взаємодію з цитохром-оксидазою та впливає на енергетичні процеси в клітині, знешкодження реактивних форм кисню, проліферацію та міграцію клітин. В цілому, отримані результати вказують на перспективу у вивченні впливу світла на біологічні процеси в клітинах, та розглядати можливий позитивний вплив поляризуючого світла як актуальний напрямок у розвитку альтернативної терапії захворювань сітківки.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

К.С. Агашков, М.Е. Краснякова, Н.С. Николайчук, О.А. Рыбачук, Е.Ю. Забенько, А. В. Дромарецкий, И.В. Шаргородская, С.А. Риков, Н.В. Войтенко

ВЛИЯНИЕ ПОЛЯРИЗОВАННОГО СВЕТА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ГЛАУКОМЕ НИЗКОГО ДАВЛЕНИЯ У КРЫС

В данной работе глаукоме низкого давления у крыс индуцировали путем повреждения зрительных нервов. Ганглионарные клетки сетчатки (ГКС) идентифицировали посредством введения флуоресцентного красителя

Fluorogold в структуры, где заканчиваются аксоны этих клеток, а именно *superior colliculi* среднего мозга. Было показано, что у крыс с экспериментальной глаукомой существенно уменьшается количество ГКС по сравнению с контрольными крысами. Анализ действия поляризованного света на выживаемость ГКС в модели экспериментальной нормотензивной глаукомы у крыс не выявил существенных отличий от контроля.

Ключевые слова: глаукома низкого давления, ганглионарные клетки сетчатки, поляризованный свет

K.S. Agashkov¹, M.Y. Krasniakova¹, N.S. Nikolaychuk², O.A. Rybachuk¹, E. Y. Zabenko¹, A.V. Dromaretsky¹, I.V. Shargorodskaya², S.A. Rikov², N. V. Voitenko¹

INFLUENCE OF POLARIZED LIGHT ON VITALITY OF RETINAL GANGLION CELLS IN RATS WITH LOW-TENSION GLAUCOMA

In this study, low-tension glaucoma in rats was induced by damage to the optic nerves. Retinal ganglion cells were identified by the injection of the fluorescent dye Fluorogold into the superior colliculi of the midbrain - the structure where axons of these cells terminate. It was shown that in rats with experimental glaucoma the amount of retinal ganglion cells significantly decreased in comparison with control rats. The mean value of the number of cells in the retina obtained from rats with low-tension glaucoma was 235.2 ± 29.9 , while the mean value of the number of cells in the control retinas was 567.0 ± 42.2 . An analysis of the effect of polarized light on vitality of retinal ganglion cells in the retinas from control rats did not reveal any significant differences from the untreated ones. When comparing the amount of left and right eye retinal ganglion cells, there was no significant difference between two groups, although there was a positive tendency to maintain a greater amount of cells in retinal tissue when treated with polarized green light. The mean value of the number of cells in the control retinas, without the effect of polarized green light, was 567.0 ± 42.2 , whereas the average value of the number of cells in the retina affected by polarized light was 646.3 ± 29.3 . The results of this experiment show that the protocols of influence of polarized green light on the healthy eye are not toxic or harmful and can be used for further investigation in the establishment of therapeutic effects in the experimental model of glaucoma of rats. An analysis of the effect of polarized light on vitality of retinal ganglion cells in the model of experimental low-tension glaucoma in rats did not reveal any significant differences from the control.

Key words: low-tension glaucoma; retinal ganglion cells; polarized light.

¹*O.O.Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;*

²*National Medical Academy of Postgraduate Education. P.L. Shupika, Kyiv*

REFERENCES

1. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(3):262-7.
2. Tielsch JM, Katz J, Singh K, Quigley HA, Gottsch JD, Javitt J, et al. A population-based evaluation of glaucoma screening: the Baltimore Eye Survey. *Am J Epidemiol*. 1991;134(10):1102-10.
3. Bueno JM, Artal P. Polarization and retinal image quality estimates in the human eye. *J Opt Soc Am A*. 2001;18(3):489.
4. Salinas-Navarro M, Mayor-Torroglosa S, Jiménez-López M, Avilés-Trigueros M, Holmes TM, Lund RD, et al. A computerized analysis of the entire retinal ganglion cell population and its spatial distribution in adult rats. *Vision Res*. 2009;49(1):115-26.
5. Nadal-Nicolás FM, Salinas-Navarro M, Jiménez-López M, Sobrado-Calvo P, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M, et al. Displaced retinal ganglion cells in albino and pigmented rats. *Front Neuroanat*. 2014;8.
6. Association for Research in Vision and Ophthalmology. E, Zalish M, Lavie V, Duvdevani R, Ben-Bassat S, Schwartz M. Investigative ophthalmology & visual science. [Internet]. Vol. 33, Investigative Ophthalmology & Visual Science. C.V. 1977;3586-91.
7. Li Y, Zhang F, Nagai N, Tang Z, Zhang S, Scotney P, et al. VEGF-B inhibits apoptosis via VEGFR-1-mediated suppression of the expression of BH3-only protein genes in mice and rats. *J Clin Invest*. 2008;118(3):913-23.
8. Tang Z, Arjunan P, Lee C, Li Y, Kumar A, Hou X, et al. Survival effect of PDGF-CC rescues neurons from apoptosis in both brain and retina by regulating GSK3 β phosphorylation. *J Exp Med*. 2010;207(4):867-80.
9. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier; 2007.
10. Tang Z, Zhang S, Lee C, Kumar A, Arjunan P, Li Y, et al. An optic nerve crush injury murine model to study retinal ganglion cell survival. *J Vis Exp*. 2011;(50).
11. Bouhenni R, Dunmire J, Sewell A, and Edward D. Animal Models of Glaucoma. *J Biomed and Biotechnol*. 2012; 2012(692609).
12. Levin LA. Animal and culture models of glaucoma for studying neuroprotection. *Eur J Ophthalmol*. 2001;11(2):S23-S29.
13. Carmignoto G, Maffei L, Candeo P, Canella R, Cornelli C. Effect of NGF on the Survival of Rat Retinal Ganglion Cells Following Optic Nerve Section. *J Neurosci*. 1989;4(4):1263-72.
14. Nair CE Mac, Schlamp CL, Montgomery AD, Shestopalov VI, Nickells RW. Retinal glial responses to optic nerve crush are attenuated in Bax-deficient mice and modulated by purinergic signaling pathways. *Journal of Neuroinflammation*. (2016) 13:93
15. Qu L, Gao L, Xu H, Duan P, Zeng Y, Liu Y, et al. Combined transplantation of human mesenchymal stem cells and human retinal progenitor cells into the subretinal space of RCS rats. *Sci Rep*. 2017;7(1):199.
16. Sadun AA, Carelli V. The role of mitochondria in health, ageing, and diseases affecting vision. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(7):809-10.
17. Mikheyeva IN, Kashintseva LT, Artemov AV, Khramenko NI. Study of corvutin efficiency in primary glaucoma. *Fiziol Zh*. 2012;58(6), 81-8.
18. Mikheyeva IN. Protective action of melatonin in experimental glaucoma in rats. *Fiziol Zh*. 2013;59(1):78-83.
19. Mikheyeva IN, Siroshtanenko TI. Effect of hydrogen sulphide donor on intraocular pressure in rats. *Fiziol Zh*. 2016;62(5):57-61.
20. Kalesnykas G, Oglesby EN, Zack DJ, Cone FE, Steinhart MR, Tian J, et al. Retinal ganglion cell morphology after optic nerve crush and experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(7):3847-57.
21. Karu TI, Pyatibrat L V., Kolyakov SF, Afanasyeva NI. Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: Reduction of cytochrome c oxidase under near IR radiation. *J Photochem Photobiol B Biol*. 2005;81(2):98-106.
22. Wong-Riley MTT, Liang HL, Eells JT, Chance B, Henry MM, Buchmann E, et al. Photobiomodulation Directly Benefits Primary Neurons Functionally Inactivated by Toxins. *J Biol Chem*. 2005;280(6):4761-71.
23. Eells JT, Henry MM, Summerfelt P, Wong-Riley MTT, Buchmann E V., Kane M, et al. Therapeutic photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity. *Proc Natl Acad Sci*. 2003;100(6):3439-44.
24. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B Biol*. 1999;49(1):1-17.
25. Lim J, Gattone VH, Sindors R, Miller CA, Liang Y, Harris P, et al. Acceleration of the meckel syndrome by near-infrared light therapy. *Nephron Extra*. 2011;1(1):224-34.
26. Wong-Riley MTT. Bigenomic regulation of cytochrome c oxidase in neurons and the tight coupling between neuronal activity and energy metabolism. *Adv Exp Med Biol*. 2012;748:283-304.
27. Surendranath P, Arjankumar R. Low Level Laser Therapy –A Review. *IOSR J Dent Med Sci*. 1989;12(5):2279-861.

*Матеріал надійшов
до редакції 30.03.2018*