

<https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-1-39-49>

УДК: 617.7-007.681:303.447.3



Фармакологическая активность агониста mGLUR4 на модели первичной открытоугольной глаукомы: доклиническое экспериментальное исследование

А.С. Победа[✉]

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. В мире насчитывается более 67 млн человек, страдающих глаукомой. В России это число превышает 1,08 млн человек. Число впервые выявляемых пациентов увеличивается на 3–4% в год. Ввиду высокого роста числа больных глаукомой особое внимание на сегодня уделяется поиску нейропротекторов, которые могут уменьшить потерю ганглионарных клеток сетчатки, что способно остановить и предотвратить прогрессирование заболевания. **Цель исследования** — определение фармакологической активности агониста mGLUR4, субстанции ZC64-0001, на модели первичной открытоугольной глаукомы. **Методы.** Проведенное доклиническое экспериментальное исследование реализовано на 60 половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 180–220 г. Период наблюдения за животными составил 73 дня. Животные были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой группе: I группа — интактные животные (без каких-либо манипуляций); II группа — животные отрицательного контроля, которым в переднюю камеру глаза вводили воду для инъекций ($n = 10$); животным с III по VI группу моделировали первичную открытоугольную глаукому путем введения с 1-го по 62-й день исследования один раз в семь дней в переднюю камеру глаза 1% раствор гиалуроновой кислоты. Животные IV группы в качестве терапии получали внутривенно Н-[4-хлорфенил]метил]-1,6-дигидро-4-метокси-1-(2-метилфенил)-6-оксо-3-пиридазинкарбоксамида под лабораторным шифром ZC64-0001 в дозе 10 мг/кг ($n = 10$); V группа в качестве терапии получала внутримышечно препарат сравнения Мексидол в дозе 25,7 мг/кг ($n = 10$); VI группа — животные, которым проводили инстилляцию препарата Тимолол в дозе 0,009 мл/кг ($n = 10$). Исследуемые соединения вводили с 63-го дня исследования 1 раз в день на протяжении 10 дней ежедневно. Итоговыми показателями исследования являлись оценка уровня микроциркуляции в сетчатке, амплитуды волны-а и волны-б электроретинограммы и число ядер ганглионарного слоя сетчатки на фоне коррекции патологии. Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США). Различия были определены при уровне значимости $p < 0,05$. **Результаты.** Введение соединения ZC64-0001 повышало уровень микроциркуляции относительно группы с моделью на 11,5%, при этом показатель в группе статистически значимо отличался как от группы с моделью, так и от интактной ($p < 0,05$). В группе животных, получавших ZC64-0001, амплитуда волны-а возрастала относительно группы первичной открытоугольной глаукомы на 17,7%, при этом данный показатель имел статистически значимое отличие от группы интактных животных и отрицательного контроля ($p < 0,05$). Амплитуда волны-б увеличивалась на 34,4% относительно группы с моделью и статистически значимо отличалась от интактной группы, группы отрицательного контроля, группы с моделью патологии и от групп с препаратами сравнения ($p < 0,05$). Введение соединения ZC64-0001 приводило к увеличению числа ядер ганглионарных клеток сетчатки относительно группы с моделью патологии на 41,0%, что имеет статистически значимое отличие от всех исследуемых групп ($p < 0,05$). **Заключение.** На основании улучшения уровня микроциркуляции сетчатки, увеличения амплитуды волн по результатам электрофизиологического исследования и увеличения количества ядер ганглионарных клеток по результатам морфометрического анализа в сетчатке животных на фоне коррекции соединением ZC64-0001 сделано заключение о его высоких нейропротективных свойствах на модели первичной открытоугольной глаукомы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нейродегенерация, сетчатка, микроциркуляция, электроретинография, морфометрия, крысы

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Победа А.С. Фармакологическая активность агониста mGLUR4 на модели первичной открытоугольной глаукомы: доклиническое экспериментальное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2024;31(1): 39–49. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-1-39-49>

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ: автор заявляет об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ДЕКЛАРАЦИЯ О НАЛИЧИИ ДАННЫХ: данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у автора по обоснованному запросу. Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала — сертифицированным специалистом по биостатистике.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ: проведение экспериментального исследования одобрено на заседании локального этического комитета федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», протокол № 10/19 от 20.05.2019 г. Условия содержания животных и работы с ними проводили с соблюдением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123).

БЛАГОДАРНОСТИ: автор выражает глубокую признательность за помощь в проведении морфологических исследований Должинову Александру Анатольевичу, доктору медицинских наук, профессору, профессору кафедры анатомии и гистологии человека федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия) и Нестеровой Наталье

© Победа А.С., 2024

Игоревне, врачу судебно-медицинскому эксперту 2-й категории областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Белгородское бюро судебно-медицинской экспертизы» (ул. Волчанская, д. 159, г. Белгород, 308017, Россия).

ВКЛАД АВТОРА: А. С. Победа — разработка концепции и дизайна исследования; анализ и интерпретация результатов; обзор литературы, проведение статистического анализа; составление рукописи и формирование окончательного варианта статьи перед публикацией. Автор выразил согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

✉ **КОРРЕСПОНДИРУЮЩИЙ АВТОР:** Победа Анна Сергеевна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». Адрес: ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия. E-mail: pobeda@bsu.edu.ru

Получена: 11.05.2023 / Получена после доработки: 04.12.2023 / Принята к публикации: 12.01.2024

Pharmacologic activity of mGLUR4 agonist in a model of primary open-angle glaucoma: A preclinical experimental study

Anna S. Pobeda ✉

Belgorod National Research University, Pobeda str., 85, Belgorod, 308015, Russia

ABSTRACT

Background. Worldwide, more than 67 million people suffer from glaucoma. In Russia, this number exceeds 1.08 million people. Annually, the number of primary cases increases by 3–4%. The increasing prevalence of glaucoma intensifies the search for neuroprotectants that can reduce the loss of retinal ganglion cells, thereby impeding the progression of the disease. **Objective.** To study of the pharmacological activity of mGLUR4 agonist, ZC64-0001 substance, on a model of primary open-angle glaucoma. **Methods.** The conducted preclinical study involved 60 sexually mature male Wistar rats, weighing 180–220 g. The observation period was 73 days. The animals were divided into 6 groups with 10 animals in each. Group 1 included intact animals (without any manipulations); Group 2 included negative control animals with the water injected in the anterior chamber of the eye; in Group 3–6, primary open-angle glaucoma was modelled by injecting 1% hyaluronic acid solution into the anterior chamber of the eye once every 7 days from day 1 to day 62 of the study. Animals in Group 4 were treated intragastrically with H-[(4-chlorophenyl)methyl]-1,6-dihydro-4-methoxy-1-(2-methylphenyl)-6-oxo-3-pyridazinecarboxamide under the laboratory code of ZC64-0001 at a dose of 10 mg/kg. Animals in Group 5 received Mexidol as a comparison drug intramuscularly at a dose of 25.7 mg/kg. Animals in Group 6 were treated with a Timolol instillation at a dose of 0.009 ml/kg. The studied compounds were administered from day 63 of the study once a day for 10 days. The evaluated indicators included the level of microcirculation in the retina, the amplitude of a-wave and b-wave of the electroretinogram, and the number of retinal ganglionic layer nuclei in the setting of the conducted treatment. Statistical processing of the data was performed using the Statistica 10.0 software (StatSoft, USA). Differences were determined at the significance level of $p < 0.05$. **Results.** ZC64-0001 increased the level of microcirculation relative to the group with modelled glaucoma by 11.5%, with this indicator being statistically significantly different from that both in the group with modelled glaucoma and the intact group ($p < 0.05$). In the group of animals receiving ZC64-0001, the amplitude of a-wave increased relative to the primary glaucoma group by 17.7%, with this index being statistically different from the groups of intact animals and negative control ($p < 0.05$). The b-wave amplitude increased by 34.4% relative to the group with modelled glaucoma, being statistically different from the intact group, negative control group, pathology modelled group, and comparison drug groups ($p < 0.05$). Administration of ZC64-0001 increased the number of retinal ganglion cell nuclei relative to the group with modelled glaucoma by 41.0%, which had a statistically significant difference from all the studied groups ($p < 0.05$). **Conclusion.** The ZC64-0001 compound demonstrated high neuroprotective properties in a model of primary open-angle glaucoma, leading to an improvement in retinal microcirculation, an increase in the wave amplitude according to the conducted electrophysiological study, and an increase in the number of ganglion cell nuclei.

KEYWORDS: neurodegeneration, retina, microcirculation, electroretinography, morphometry, rats

FOR CITATION: Pobeda AS. Pharmacologic activity of mGLUR4 agonist in a model of primary open-angle glaucoma: A preclinical experimental study, *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2024;31(1): 39–49 (In Russ.). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-1-39-49>

FUNDING: No funding support was obtained for the research.

CONFLICT OF INTEREST: The author declares no conflict of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT: Data supporting the conclusions made in this study can be obtained from the author on a reasonable request. The data and statistical methods presented in the article were statistically reviewed by the editor of the journal, a certified biostatistician.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS: The study was approved at the meeting of the Ethics Committee of Belgorod National Research University, Minutes 10/19 as of May 20, 2019. The conditions of animal housing and their treatment were conducted in compliance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or Other Scientific Purposes (ETS N 123).

ACKNOWLEDGEMENTS: The author expresses her sincere gratitude for assistance in conducting morphological studies to Alexander A. Dolzhikov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Human Anatomy and Histology of Belgorod National Research University and Natalia I. Nesterova, Doctor of Forensic Medicine, 2nd category, Belgorod Bureau of Forensic Medical Examination.

AUTHOR CONTRIBUTION STATEMENT: Anna S. Pobeda — development of the study design; results analysis and interpretation; literature review; statistical analysis; manuscript draft and its revision. The author assumes responsibility for all aspects of the work, which implies proper investigation and resolution of issues related to the accuracy and integrity of any part of the work.

✉CORRESPONDING AUTHOR: Anna Sergeevna Pobeda, Cand. Sci. (Biology), Assoc. Prof., Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod National Research University, Pobeda str., 85, Belgorod, 308015, Russia. E-mail: pobeda@bsu.edu.ru.

Received: 11.05.2023/ Revised: 04.12.2023/ Accepted: 12.01.2024

ВВЕДЕНИЕ

В мире насчитывается более 67 млн человек, страдающих глаукомой [1]. В России это число превышает 1,08 млн человек. Число впервые выявляемых пациентов увеличивается на 3–4% в год. По данным Министерства здравоохранения РФ за 5 лет (2013–2018 гг.) в России увеличилось количество случаев заболевания глаукомой на 10,5%: с 823,8 до 909,9 на 100 тыс. населения [2]. Глаукома является второй ведущей причиной необратимой слепоты. Заболевание характеризуется дегенерацией ганглионарных клеток сетчатки (ГКС) и их аксонов, из которых состоит зрительный нерв. Гибель ГКС приводит к потере зрения, а при отсутствии лечения к слепоте. Текущая терапия глаукомы основана на препаратах, снижающих внутриглазное давление (ВГД). Тем не менее плохая приверженность к лечению, позднее выявление заболевания и не всегда эффективная терапия приводят к росту необратимой слепоты [3].

Альтернативный подход к лечению может заключаться в использовании нейропротекторов, предназначенных для повышения выживаемости ГКС независимо от ВГД. Хотя снижение ВГД может поддерживать и контролировать глаукому у большинства пациентов, есть пациенты, у которых наблюдается прогрессирующая потеря поля зрения даже при адекватном снижении ВГД [4]. Для этих пациентов желательны альтернативные или дополнительные подходы к сохранению жизнеспособности и функциональной активности клеток.

Как уже отмечалось, современные терапевтические стратегии направлены на снижение внутриглазного давления, однако значительное количество пациентов с глаукомой продолжают терять зрение несмотря на то, что уровень ВГД достигает целевых значений. Кроме того, во многих случаях первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) наблюдается нормальное ВГД, которое сопровождается прогрессирующей потерей ГКС и повреждением зрительного нерва. Это указывает на существование факторов риска, определяющих развитие глаукомы, и механизмов заболевания, приводящих к дегенерации ГКС, которые остаются неизученными. На сегодня не существует достаточного количества исследований, объясняющих нейродегенеративную природу и молекулярную основу гибели ГКС при глаукоме [5].

Особенности метаболической организации сетчатки делают ее особенно уязвимой в условиях измененного метаболического и энергетического состояния. Повышенное внутриглазное давление приводит к снижению метаболической функции сетчатки, что делает аксоны ГКС уязвимыми и в итоге приводит к апоптозу [6]. В экспериментальных моделях глаукомы показаны изменения функции митохондрий. Такая дисфункция часто связана с повышенным производством активных форм кислорода (АФК), которые взаимодействуют с органеллами, такими

как митохондриальная ДНК и клеточные белки, вызывая повреждение. Со временем происходит развитие окислительного стресса, который завершается апоптозом [7].

В свою очередь, хроническое воздействие окислительного стресса приводит к активации патологической воспалительной реакции [8]. Локальное паравоспаление, первоначально существовавшее в сетчатке в гомеостатической роли, становится нерегулируемым при глаукоме и связано по одной из версий с ухудшением дисфункции трабекулярной сети. Аномальная воспалительная передача сигналов может также приводить к активации астроцитов и ремоделированию внеклеточного матрикса [9].

Продолжительная активация астроцитов при поддержании воспалительных процессов приводит к нарушению их функций. В том числе это приводит к запуску эксайтотоксичности. Исследования показали, что после активации астроцитов в глаукоматозных глазах транспортеры и рецепторы глутамата, ответственные за очистку синаптического пространства, подавляются. В частности, накопление нейротрансмиттера происходит на дендритах ганглионарных клеток сетчатки, которые обычно получают его от биполярных клеток. Длительное воздействие глутамата в итоге вызывает апоптоз ГКС [10].

Многие исследователи выдвигают гипотезу, согласно которой глаукома имеет сходные механизмы и патофизиологические особенности с другими заболеваниями центральной нервной системы (ЦНС), связанными с нейродегенерацией, и поэтому терапевтические стратегии использования нейропротекторов при этих заболеваниях следует рассматривать как возможные пути замедления или обращения вспять последствий глаукоматозной нейродегенерации [5].

Все вышеперечисленное указывает на сложную природу глаукомы и самого процесса нейродегенерации сетчатки. В свою очередь, альтернативой в замедлении прогрессирования заболевания в качестве дополнения к сопутствующей терапии может стать нейропротекция.

Потеря ганглионарных клеток сетчатки в первую очередь происходит в результате связывания глутамата с рецепторами N-метил-D-аспартата (NMDAR), что вызывает эксайтотоксичность [11]. Помимо этих рецепторов, в сетчатке распространены каинатные рецепторы (KAR) и рецепторы α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA), представляющие собой один из трех подтипов ионотропных глутаматных рецепторов (iGluR). Помимо ионотропных рецепторов глутамата в сетчатке локализуются метаботропные рецепторы. Известно восемь метаботропных рецепторов глутамата (mGluR), которые экспрессируются в сетчатке. Активация mGluR может влиять на активность нейронов и приводить к изменению гомеостаза внутриклеточного Ca^{2+} . Помимо этого, mGluR взаимодействуют с iGluR, другими ионными каналами и мембранными ферментами и могут

модулировать процессы нейродегенерации [12]. Среди групп этих рецепторов исследование соединений, воздействующих на mGLUR4, является наиболее предпочтительным, локализация mGLUR4 в аксонах амакриновых и ганглионарных клеток сетчатки позволяет регулировать уровень глутамата и запускать процессы, препятствующие эксайтотоксичности [13]. Ввиду чего изучение путей фармакологической коррекции нейродегенеративных повреждений сетчатки при глаукоме и поиск средств, препятствующих гибели ГКС при глаукоме, являются весьма актуальной темой.

Цель исследования — определение фармакологической активности агониста mGLUR4, субстанции ZC64-0001, на модели первичной открытоугольной глаукомы.

МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Экспериментальное исследование проводилось на 60 половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 180–220 г. Животные были получены из вивария Научно-исследовательского института фармакологии живых систем федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИИ фармакологии живых систем) в весенне-летний период. Предварительно все животные проходили 14-дневный период карантина и адаптации.

Размещение и содержание

Животных содержали в условиях вивария НИИ фармакологии живых систем в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.1.3218-14 по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) и ГОСТ 33044-2014. Проведение экспериментов осуществлялось с соблюдением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123) и в соответствии с руководством ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments), на стандартном водном и пищевом рационе со свободным доступом к пище и воде.

Дизайн исследования

Рандомизированное исследование выполнено на самцах крыс в условиях вивария. Экспериментальные исследования проведены в НИИ фармакологии живых систем. Блок-схема дизайна исследования представлена на рисунке 1.

Объем выборки

Животные были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой группе: I группа — интактные животные (без каких-либо манипуляций); II группа — животные отрицательного контроля (ОК), которым в переднюю камеру глаза вводили воду для инъекций ($n = 10$); животным с III по VI группу моделировали первичную открытоугольную глаукому (ПОУГ). Животные IV группы в качестве терапии получали внутримышечно ZC64-0001 в дозе 10 мг/кг

($n = 10$); V группы в качестве терапии получали внутримышечно препарат сравнения Мексидол в дозе 25,7 мг/кг ($n = 10$); VI группа — животные, которым проводили инстилляцию (инст.) препарата Тимолол в дозе 0,009 мл/кг ($n = 10$).

Период наблюдения за животными составил 73 дня. Все животные, вошедшие в эксперимент, были сопоставимы по породе, полу, массе тела и возрасту (табл. 1). Подтверждением однородности исследуемых групп служил критерий Краскела — Уоллиса, уровень значимости которого составил $p = 0,713$ для массы тела животных и $p = 0,749$ для возраста.

Критерии соответствия

Критерии включения

В исследование включались половозрелые самцы крыс линии Wistar без внешних признаков заболеваний и травм.

Критерии невключения

В эксперимент не включались животные, вес которых был меньше 180 и больше 220 г, с определяемыми визуально признаками заболеваний или дефектами органа зрения, самки.

Критерии исключения

Гибель животного, осложнения после проведения манипуляций.

Рандомизация

Распределение животных на группы осуществлялась случайным образом («методом конвертов»). Каждому животному был присвоен один из шести номеров группы, извлекаемых из непрозрачного конверта с 60 листками с номером группы. В соответствии с чем все 60 животных были разделены на 6 групп по 10 в каждой.

Обеспечение анонимности данных

Распределение животных на группы, оценка результатов и анализ полученных данных проводились автором без введения дополнительных лиц.

Итоговые показатели (исходы исследования)

Итоговыми показателями исследования являлись оценка уровня микроциркуляции в сетчатке, амплитуды волны-a и волны-b электроретинограммы (ЭРГ) и число ядер ганглионарного слоя сетчатки (ГКС) на фоне медикаментозной коррекции патологии.

Экспериментальные процедуры

I этап — моделирование первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ)

В группах с III по VI с 1-го по 62-й день исследования один раз в семь дней осуществляли введение в переднюю камеру глаза 1 % раствора гиалуроновой кислоты согласно методике, описанной Benozzi J et al.¹

Общее анестезирование животных проводили хлоралгидратом («Sigma-Aldrich», США) внутривенно в дозе 300 мг/кг. Местную анестезию проводили препаратом Алкаин (МНН: проксиметакаин), капли глазные 0,5 % (ALCON-COUVREUR N. V., S. A., Бельгия). Для мидриа-

¹ Benozzi J, Nahum LP, Campanelli JL, Rosenstein RE. Effect of hyaluronic acid on intraocular pressure in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(7):2196–2200.

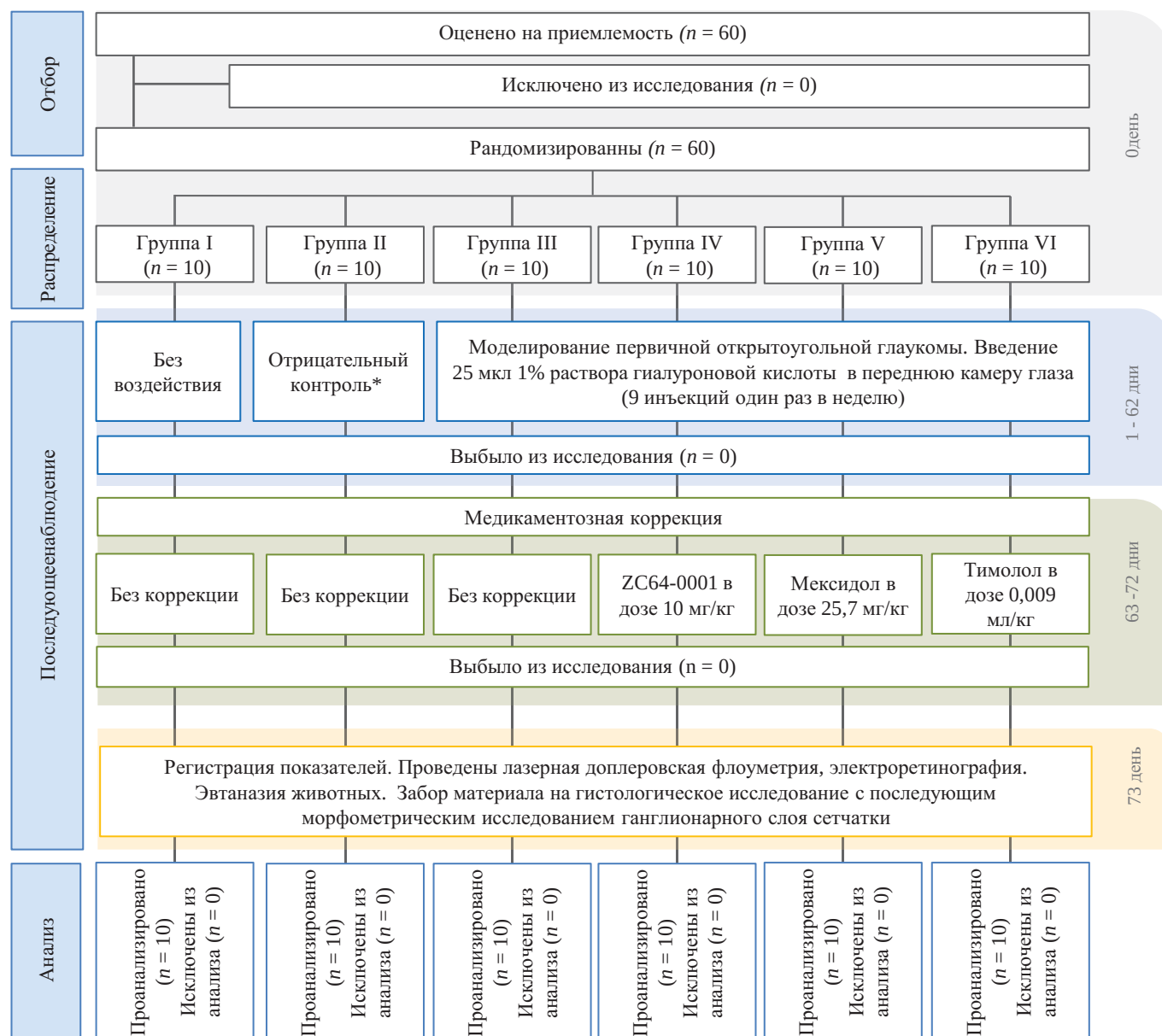


Рис. 1. Блок-схема дизайна исследования

Примечания: блок-схема составлена автором (согласно рекомендациям ARRIVE); * — введение 25 мкл воды для инъекций в переднюю камеру глаза (9 инъекций 1 раз в неделю).

Fig. 1. Block diagram of the study design

Notes: the block diagram was created by the author (as per ARRIVE recommendations). *Injection of 25 μ l of water for injection into the anterior chamber of the eye (9 injections once a week).

Таблица 1. Значения медианы и квартилей в группах до эксперимента (Me (Q_1 ; Q_3))Table 1. Median and quartile values in groups before the experiment (Me (Q_1 ; Q_3))

Группы	Масса, г	Возраст, мес.
I группа, $n = 10$	199 (189; 206)	4 (3; 4)
II группа, $n = 10$	198,5 (188; 206)	4 (3; 4)
III группа, $n = 10$	202 (198; 212)	4 (3; 4)
IV группа, $n = 10$	202,5 (194; 209)	4 (4; 4)
V группа, $n = 10$	207 (202; 216)	4 (4; 4)
VI группа, $n = 10$	200 (194; 216)	4 (3; 4)
p-критерий Краскела — Уоллиса	$p = 0,713$	$p = 0,749$

Примечание: таблица составлена автором.

Note: compiled by the author.

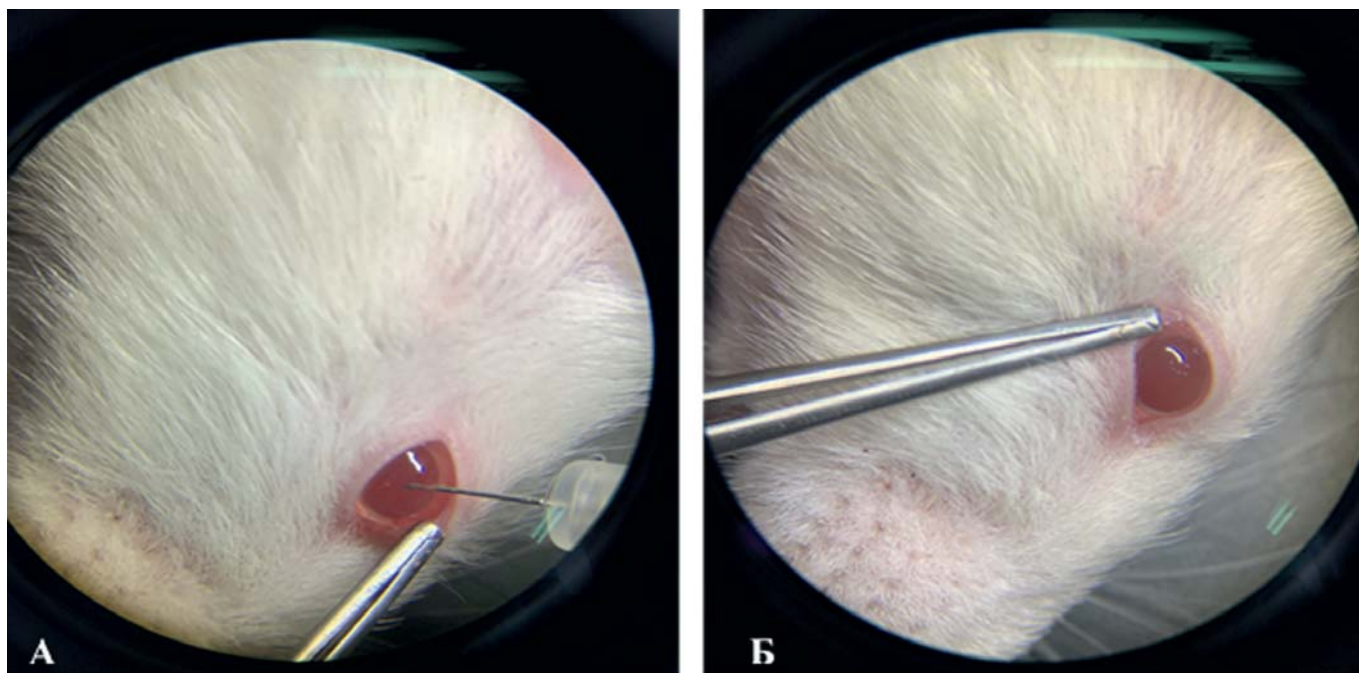


Рис. 2. Процедура моделирования первичной открытоугольной глаукомы: А — введение раствора гиалуроновой кислоты (игла в передней камере глаза); Б — глаз животного сразу после инъекции

Примечание: фотографии выполнены автором.

Fig. 2. Procedure of modeling primary open-angle glaucoma: A — injection of hyaluronic acid solution (needle in the anterior chamber of the eye). B — the animal's eye immediately after injection

Note: the photos were made by the author.

за использовали препарат Мидримакс (МНН: Тропикамид + Фенилэфрин), капли глазные (SENTISS PHARMA, Pvt. Ltd., Индия). Моделирование патологии осуществляли путем введения в переднюю камеру глаза 1% раствора гиалуроновой кислоты («Sigma-Aldrich», США). Процедуру осуществляли за препаровальным микроскопом Leica (Германия). Игла продвигалась через корнеосклеральный лимб в переднюю камеру срезом вниз. Когда кончик ско-са иглы достигал передней камеры, вводили жидкость, что обеспечивало постепенное увеличение глубины передней камеры глаза, отделяя иглу от радужной оболочки и избегая контакта иглы с хрусталиком. Введение 25 мкл раствора производили медленно, но с усилием, достаточным для опорожнения содержимого шприца (рис. 2).

Во II группе проводили аналогичные процедуры, отличие заключалось в том, что в переднюю камеру животных вводили 25 мкл воды для инъекций.

II этап — коррекция патологии фармакологическими агентами

Исследуемое соединение Н-[(4-хлорфенил)метил]-1,6-дигидро-4-метокси-1-(2-метилфенил)-6-оксо-3-пиридазинкарбоксамид под лабораторным шифром ZC64-0001 было синтезировано ЦБТ «ХимРар». Субстанцию ZC64-0001 вводили внутривенно (в/в) в дозе 10 мг/кг.

В качестве препарата сравнения использовали Мексидол, раствор для инъекций, 50 мг/мл (ООО НПК «Фармасофт», Россия), вводили внутримышечно (в/м) в дозе 25,7 мг/кг. Дополнительно как основной препарат из группы стандартной терапии использовали Тимолол, капли глазные 0,5% (АО ФПК «Обновление», Россия). Расчет дозы проводили согласно пересчету доз с животного на человека, что составило 0,009 мл/кг или 0,002 мл, инстилляцию (инст.) осуществляли микропипеткой. Исследуемые соединения вводили с 63 дня исследования 1 раз в день на протяжении 10 дней ежедневно.

III этап — регистрация показателей

На 73-й день проводили выведение животных из эксперимента. Предварительно определяли уровень микроциркуляции в сетчатке (п. е.)² с использованием полиграфа Биопас MP-150 (BIOPAC Systems, Inc., США) с блоком для лазерной доплеровской флоуметрии LDF-100С и датчиком TSD-144, результаты представлялись числовым показателем (средним числовым значением) с помощью программы AcqKnowledge 4.2.³; определяли величину амплитуды волны-а и волны-в в μV при регистрации электроретинограммы (ЭРГ) (Biopac-systems MP-150, США) и осуществляли забор глаз для последующего морфометрического исследования ганглионарного слоя сетчатки,

² Бархатов И.В. Оценка системы микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии. *Клиническая медицина*. 2013;91 (11):21–27.

³ Manuals Brands BIOPAC Systems, Inc. Manuals Transducer MP150 Hardware manual BIOPAC Systems, Inc. MP150 Hardware Manual. *Principles of Laser Doppler Flowmetry*. Available: <https://www.manualslib.com/manual/1665982/Biopac-Systems-Inc-Mp150.html?page=181#manual>

в котором подсчитывали количество ядер (шт.). Подтверждение развития ВГД при моделировании данной модели патологии представлено ранее [13].

Фиксацию энуклеированных глаз осуществляли в 10% растворе формалина с последующей гистологической стандартной проводкой и заливкой в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином [14]. Визуальную оценку гистологических препаратов осуществляли в световом микроскопе МИКМЕД-6 (АО «ЛОМО», Россия). Для подсчета количества ядер в 100 мкм длины ганглионарного слоя сетчатки использовали формулу (1) [15].

$$\text{Количество ядер ГКС} = \frac{\text{Количество ядер ГКС}}{\text{Длина слоя ГКС в поле зрения}} \times 100. \quad (1)$$

Подсчет количества ядер проводили с помощью камеры МС-5 (АО «ЛОМО», Россия) и программы MCview (АО «ЛОМО», Россия).

Уход за животными и мониторинг

После процедуры внутрикамерной инъекции глаза для предотвращения присоединения патогенной микрофлоры применяли Ципролет, капли глазные 0,3% (SENTISS PHARMA, Pvt. Ltd., Индия). Для исключения возможного влияния активных соединений и вспомогательных веществ используемых препаратов их применение было одинаковым для всех групп животных за исключением интактной группы. Во время проведения исследований животным предоставлялся свободный доступ к пище и воде. Проводились ежедневная смена подстилки, кормление комбикормом, смена питьевой воды. Нежелательные явления отмечены не были.

Эвтаназию животных осуществляли путем помещения в CO₂-камеру с постепенным увеличением концентрации диоксида углерода.

Статистические процедуры

Принципы расчета размера выборки

Предварительный расчет выборки не производился.

Статистические методы

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США). Для оценки однородности групп по критериям массы тела и возраста применяли критерий Краскела — Уоллиса. Данные проверяли на нормальность распределения по критерию Шапиро — Уилка. Среднее (M) и стандартную ошибку среднего (m) рассчитывали для групп в случае нормального распределения. Медиану (Me) и первый и третий квартили ($Q1$; $Q3$) рассчитывали в случае ненормального распределения. В зависимости от типа распределения межгрупповые различия анализировались с использованием t -критерия Стьюдента или U -критерия Манна — Уитни. Различия были определены при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На 73 день исследования определяли уровень микроциркуляции в сетчатке. Результаты ЛДФ представлены в таблице 2.

На фоне моделирования глаукомного процесса у животных из группы с моделью наблюдалось снижение уровня

Таблица 2. Уровень микроциркуляции в сетчатке на модели первичной открытоугольной глаукомы ($M \pm m$)
Table 2. Retinal microcirculation levels in the primary open-angle glaucoma model ($M \pm m$)

Экспериментальные группы	Уровень микроциркуляции в сетчатке, п. е.
I группа, $n = 10$	$743,8 \pm 15,8$
II группа, $n = 10$	$739,1 \pm 19,6^{\#}$
III группа, $n = 10$	$602,1 \pm 18,0^{*y}$
IV группа, $n = 10$	$671,6 \pm 10,5^{*y}$
V группа, $n = 10$	$700,9 \pm 10,9^{*z}$
VI группа, $n = 10$	$657,7 \pm 14,5^{*y}$

Примечания: таблица составлена автором; * — $p < 0,05$ в сравнении с интактными; # — $p < 0,05$ в сравнении с первичной открытоугольной глаукомой; y — $p < 0,05$ в сравнении с отрицательным контролем; x — $p < 0,05$ в сравнении с мексидолом; z — $p < 0,05$ в сравнении с тимололом.

Notes: compiled by the author; * — $p < 0.05$ compared with the intact group; # — $p < 0.05$ compared with the open-angle glaucoma group; y — $p < 0.05$ compared with the negative control group; x — $p < 0.05$ compared with the Mexidol group; z — $p < 0.05$ compared with the Timolol group.

микроциркуляции на 19,0% относительно группы интактных животных, что имеет статистически значимое отличие от группы интактных животных и группы отрицательного контроля ($p < 0,05$). В группе животных отрицательного контроля показатель статистически значимо не отличается от группы интактных животных и статистически значимо отличается от группы с моделью патологии, что указывает на отсутствие влияния инъекции в переднюю камеру на состояние микроциркуляторного русла сетчатки. Введение соединения ZC64-0001 повышало уровень микроциркуляции относительно группы с моделью на 11,5%, при этом показатель в группе статистически значимо отличался от группы с моделью, интактной, отрицательного контроля ($p < 0,05$) и статистически значимо не отличался от групп препаратов сравнения ($p > 0,05$). В группе с введением мексидола показатель составил $700,9 \pm 10,9$ п. е., что выше показателя в группе с моделью на 16,4% и имеет статистически значимое отличие от группы интактных животных и группы с моделью патологии ($p < 0,05$), статистически значимо не отличаясь от группы отрицательного контроля. В группе с введением тимолола показатель составил $657,7 \pm 14,5$ п. е., что имеет статистически значимо отличие не только от группы интактных животных и отрицательного контроля, но и от группы с моделью патологии ($p < 0,05$).

Результаты исследования электрофизиологического состояния сетчатки при ее коррекции на фоне моделирования ПОУГ представлены в таблице 3. На 73-й день исследования в группе животных с моделью патологии наблюдалось снижение амплитуды а- и b-волны ЭРГ.

На 73-й день исследования амплитуда волны-а в группе с моделью снизилась на 29,9% в сравнении с интактной группой, данный показатель имел статистически значимое отличие ($p < 0,05$). Амплитуда волны-б снижалась на 35,8% ($p < 0,05$).

Таблица 3. Электрофизиологическое состояние сетчатки на фоне модели первичной открытоугольной глаукомы ($M \pm m$; $n = 10$)Table 3. Electrophysiologic state of the retina against in the modelled primary open-angle glaucoma ($M \pm m$; $n = 10$)

Экспериментальные группы	Амплитуда а-волны, μV	Амплитуда b-волны, μV
I группа, $n = 10$	$116,0 \pm 6,7$	$205,4 \pm 8,8$
II группа, $n = 10$	$110,8 \pm 6,0^{\#}$	$199,4 \pm 7,3^{\#}$
III группа, $n = 10$	$81,3 \pm 6,4^{*y}$	$131,8 \pm 9,6^{*y}$
IV группа, $n = 10$	$95,7 \pm 2,8^{*y}$	$177,1 \pm 5,1^{*y,x,z}$
V группа, $n = 10$	$93,3 \pm 3,1^{*y}$	$161,3 \pm 4,9^{*y}$
VI группа, $n = 10$	$86,7 \pm 5,3^{*y}$	$154,4 \pm 5,0^{*y}$

Примечания: таблица составлена автором; * — $p < 0,05$ в сравнении с интактными; # — $p < 0,05$ в сравнении с первичной открытоугольной глаукомой; y — $p < 0,05$ в сравнении с ОК; x — $p < 0,05$ в сравнении с мексидолом; z — $p < 0,05$ в сравнении с тимололом.
Notes: compiled by the author; * — $p < 0.05$ compared with the intact group; # — $p < 0.05$ compared with the open-angle glaucoma group; y — $p < 0.05$ compared with the negative control group; x — $p < 0.05$ compared with the Mexidol group; z — $p < 0.05$ compared with the Timolol group.

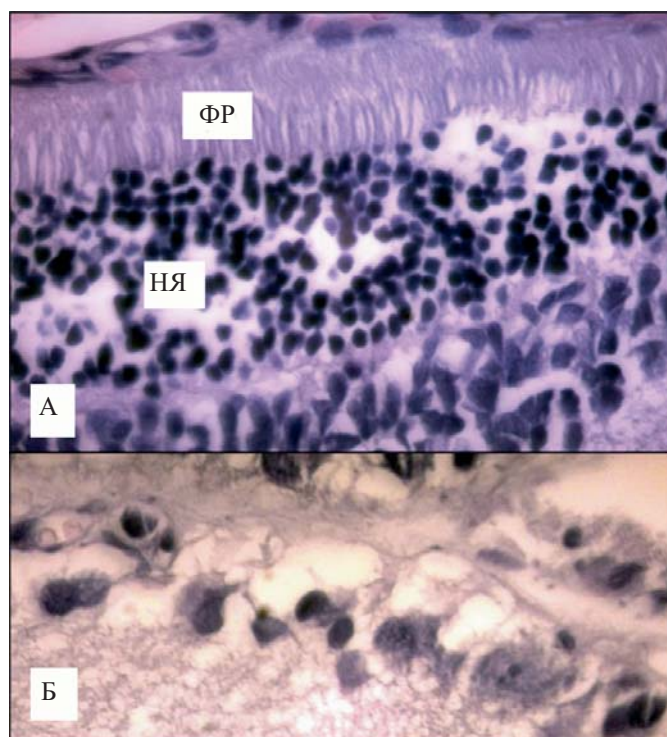


Рис. 3. Микрофотография сетчатки животного из группы с моделью первичной открытоугольной глаукомы без медикаментозной коррекции. Окраска гематоксилином и эозином; А — очаги разрыхления структуры фоторецепторного (ФР) и наружного ядерного (НЯ) слоев. Увеличение $\times 400$; Б — выраженный перинейрональный отек, хроматолиз, пикноз ядер ганглионарных нейронов. Увеличение $\times 1000$

Примечание: микрофотографии выполнены Должиковым А. А.

Fig. 3. Microphotograph of the retina of an animal from the group of modelled primary open-angle glaucoma without drug correction. Hematoxylin and eosin staining; A — foci of loosening of the structure of photoreceptor (FR) and outer nuclear (ON) layers. Magn. $\times 400$; B — pronounced perineuronal edema, chromatolysis, pyknosis of ganglion neuron nuclei. Magn. $\times 1000$

Note: microphotographs were made by A. A. Dolzhikov.

Введение соединения ZC64-0001 обеспечивало рост амплитуды волны-b на 34,4% относительно группы с моделью и статистически значимо отличалось от интактной группы, группы отрицательного контроля, группы с моделью патологии и от групп с препаратами сравнения ($p < 0,05$). Введение мексидола обеспечивало рост амплитуды волны-b на 22,4% относительно группы с моделью, что статистически значимо отличалось как от интактной группы и группы отрицательного контроля, так и от группы с моделью патологии ($p < 0,05$). В группе с введением тимолола амплитуда волны-b возрастала на 17,1% относительно группы с моделью ПОУГ, данный показатель имел статистически значимое отличие от группы интактных животных и группы отрицательного контроля ($p < 0,05$), статистически значимо не отличаясь от группы с моделью ПОУГ ($p > 0,05$).

Снижение амплитуд b- и а-волны ЭРГ на фоне длительно повышенного ВГД можно объяснить развитием нейродегенеративных процессов, связанных с механическим действием внутриглазного давления и ухудшением уровня микроциркуляции в сетчатке. Использование агониста рецепторов mGLUR4 обеспечивает сохранность амплитуды b-волны, что указывает на его нейропротекторные свойства.

После регистрации ЭРГ осуществляли выведение животных и забор глаз для последующего гистологического исследования. Морфологическое описание сетчатки, характерное для интактных животных, описано нами ранее [16].

В структурах глаз у животных с моделью глаукомы, в структурах фиброзной, сосудистой оболочек, стекловидном теле значимых изменений не выявлено. Общая структура сетчатки и большинства ее слоев, также относительно сохранены, представлены на рисунке.

Значимые и специфичные для глаукомы изменения выявлены в ганглионарном слое. Главными из них являлись проявления нейрональной гибели в виде хроматолиза, отека нейтроплазмы, выраженного пикноза, а в отдельных клетках — фрагментации ядер, что соответствовало морфологическому проявлению апоптоза. Распространены очаги нейронального опустошения.

Для определения выраженности нейропротективных эффектов изучаемых соединений определяли количество ядер в ганглионарном слое. Оценку количества ядер ГКС

производили в трех полях зрения, из которых рассчитывали среднее, которое вносили в протокол [15].

Результаты определения количества ядер ГКС представлены в таблице 4. На фоне моделирования ПОУГ наблюдалось снижение количества ядер в ганглионарном слое на 40,9% относительно интактной группы животных, что носит статистически значимый характер ($p < 0,05$). В группе отрицательного контроля показатель не отличался от группы интактных животных, что указывает на отсутствие влияния процедуры инъекции в переднюю камеру глаза на количество ядер ГКС.

Введение соединения ZC64-0001 приводило к увеличению числа ядер ГКС относительно группы с моделью патологии на 41,0%, что имеет статистически значимое отличие от всех исследуемых групп ($p < 0,05$). Введение мексидола обеспечивало увеличение числа ядер ГКС относительно группы с моделью на 25,6%, что имеет статистически значимое отличие от интактных животных, отрицательного контроля и группы с моделью патологии ($p < 0,05$). Введение тимолола оказывало наименее выраженный эффект, показатель был выше, чем в группе с моделью, на 7,7% и статистически значимо отличался только от интактной группы и группы отрицательного контроля ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Интерпретация/научная значимость

В группе животных с моделью патологии устойчивое и длительное повышение ВГД обеспечивало ряд изменений, сопровождающихся характерной для глаукомы динамикой. Это выражалось снижением уровня микроциркуляции, угнетением электрофизиологической функции сетчатки и рядом специфических морфологических изменений, на основании чего можно сделать вывод о том, что модель воспроизводит характерные для первичной открытоугольной глаукомы изменения в сетчатке.

На данный момент все большее число исследований указывает на изменение микроциркуляторного русла сетчатки у больных с ПОУГ. Помимо количественных изменений, хорошо изучены изменения качества ауторегуляции микроциркуляторного русла сетчатки. Сообщалось об истощении резерва ауторегуляции микрососудистых сосудов сетчатки у пациентов с глаукомой. Несмотря на многочисленные исследования эндотелия сосудов, лишь немногие опубликованные отчеты посвящены микроциркуляторному руслу сетчатки. Недавние исследования показали вовлечение эндотелия сетчатки в развитие глаукомы, поскольку при глаукоме реакции эндотелия сетчатки на эндотелийзависимые вазодилаторы ослабляются [17].

У животных с моделью патологии наблюдалось значительное снижение амплитуды а- и b-волны скотопической ЭРГ. Аналогичные результаты ЭРГ сообщались на различных моделях глаукомы у крыс [18, 19]. Подобные изменения в а- и b-волнах ЭРГ были описаны у мышей DBA/2 с закрытоугольной глаукомой⁴.

Таблица 4. Результаты подсчета количества ядер в ганглионарном слое сетчатки на модели первичной открытоугольной глаукомы на 100 мкм ($M \pm m$)

Table 4. Nuclei counts in the retinal ganglion cell layer, in a 100 μ m model of primary open-angle glaucoma ($M \pm m$)

Экспериментальные группы	Количество ядер ГКС, шт.
I группа, $n = 10$	$6,6 \pm 0,4$
II группа, $n = 10$	$6,5 \pm 0,3^{\#}$
III группа, $n = 10$	$3,9 \pm 0,4^{*y}$
IV группа, $n = 10$	$5,5 \pm 0,2^{*yxxz}$
V группа, $n = 10$	$4,9 \pm 0,2^{*yzz}$
VI группа, $n = 10$	$4,2 \pm 0,2^{*y}$

Примечания: таблица составлена автором; * — $p < 0,05$ в сравнении с интактными; # — $p < 0,05$ в сравнении с первичной открытоугольной глаукомой; y — $p < 0,05$ в сравнении с ОК; x — $p < 0,05$ в сравнении с мексидолом; z — $p < 0,05$ в сравнении с тимололом. Сокращение: ГКС — ганглионарные клетки сетчатки.

Notes: compiled by the author; * — $p < 0.05$ compared with the intact group; # — $p < 0.05$ compared with the open-angle glaucoma group; y — $p < 0.05$ compared with the negative control group; x — $p < 0.05$ compared with the Mexidol group; z — $p < 0.05$ compared with the Timolol group. GKC — ganglion retinal cells.

Результаты гистологического исследования подтверждали характерные для глаукомы морфологические изменения, что сопровождалось снижением числа ядер ГКС. Эти данные согласуются с результатами, полученными другими исследователями, использующими различные методики индуцирования экспериментальной глаукомы у мышей и крыс [19–21].

Введение соединения ZC64-0001 обеспечивало повышение уровня микроциркуляции в сетчатке на 11,5% относительно группы с моделью ($p < 0,05$), приводило к выраженному улучшению электрофизиологических свойств сетчатки на фоне применения ZC64-0001, что указывает на его нейропротективные свойства и сохранность электрофизиологической функции клеток в условиях экспериментальной глаукомы. Дальнейшим подтверждением нейропротективных свойств соединения служило увеличение количества ядер ганглионарных клеток. На фоне применения ZC64-0001 количество ядер ГКС возрастало на 41,0% относительно показателя группы с моделью патологии ($p < 0,05$).

Полученные данные указывают на высокую фармакологическую активность агониста рецепторов mGLUR4, соединения под лабораторным шифром ZC64-0001, реализация нейропротективного действия которого осуществляется за счет регуляции внутриклеточных сигнальных каскадов в клетках, экспрессирующих данный подтип метаболитных рецепторов глутамата.

Нейропротективное действие агониста mGluR4, видимо, реализуется через различные механизмы. Предположительно, некоторые из них могут заключаться в следующем: рецепторы mGluR4 положительно

⁴ Bayer AU, Neuhardt T, May AC, Martus P, Maag KP, Brodie S, Lütjen-Drecoll E, Podos SM, Mittag T. Retinal morphology and ERG response in the DBA/2Nnia mouse model of angle-closure glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2001;42(6):1258–1265.

связаны с калиевыми каналами внутреннего выпрямления, что играет важную роль в регуляции возбудимости мембран и притока Ca^{2+} в нейроны [22]. Благодаря этому механизму активация mGluR4 может влиять на чувствительность нейронов к эксайтотоксическому повреждению, которое возникает на фоне длительного повышения ВГД. Также известно, что рецепторы mGluR приводят к модуляции различных путей вторичных мессенджеров, включая митоген-активируемую протеинкиназу (МАРК) и фосфатидилинозитол-3 киназу (PI3) [23].

Все известные рецепторы mGluR подразделяются на три группы на основе фармакологических свойств и связей со вторичным мессенджером. I группа mGluR (mGluR1 и mGluR5) представляет собой G_{aq} -связанные GPCR (рецепторы, сопряженные с G-белком), которые активируют фосфолипазу C (PLC) для образования диацилглицерина и инозитол-1,4,5-трифосфата (IP3). Эти рецепторы экспрессируются преимущественно в постсинаптических участках. II группа mGluRs (mGluR2 и mGluR3) представляет собой $G_{ai/o}$ -связанные GPCR, которые ингибируют образование цАМФ и локализуются как в пре-, так и в постсинаптических сайтах. III группа mGluR (mGluR4, mGluR6, mGluR7 и mGluR8) также связывается с $G_{ai/o}$, ингибирует аденилатциклазу. Однако эти mGluRs экспрессируются преимущественно в пресинаптических участках, где они регулируют высвобождение нейротрансмиттеров. mGluRs также присутствуют в глиальных клетках, где они играют важную роль в нейропротекции, глиально-нейрональных связях и высвобождении глутамата [24]. Фосфорилирование белков опосредует клеточные ответы на внеклеточные стимулы. В нервной системе фосфорилирование может влиять на пресинаптические функции, такие как высвобождение синаптических везикул, а также может регулировать постсинаптические реакции, такие как токи ионных каналов и рецептор-стимулируемую внутриклеточную передачу сигналов [25]. Хорошо известно, что активация протеинкиназы регулирует синаптическую передачу и синаптическую пластичность в глутаматергических синапсах [26]. Также известно, что прямое фосфорилирование ионотропных рецепторов глутамата влияет на функцию каналов и транспортировку рецепторов [25].

В пресинаптических нервных окончаниях и микроглии активация mGluR4 снижает внутриклеточное образование цАМФ, при этом ряд авторов считает, что степень и способ передачи сигналов цАМФ объясняет выживание и рост нейронов [27].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Мовсисян А.Б., Куроедов А.В., Архаров М.А., Прохоренко В.В., Чепурнов И.А. Эпидемиологический анализ заболеваемости и распространенности первичной открытоугольной глаукомы в Российской Федерации. *Клиническая офтальмология*. 2022;22(1):3–10. <https://doi.org/10.32364/2311-7729-2022-22-1-3-10>
Movsisyan AB, Kuroedov AV, Arkharov MA, Prokhorenko VV, Chepurnov IA. Epidemiological analysis primary open-angle glaucoma incidence and prevalence in Russia. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology*. 2022;22(1):3–10 (In Russ.). <https://doi.org/10.32364/2311-7729-2022-22-1-3-10>
2. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma bur-

den through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121(11):2081–2090. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.05.013>

Помимо этого, в литературе описаны результаты противовоспалительного действия на микроглию некоторых агонистов mGluR [28], что может указывать на еще одну точку приложения для использования ZC64-0001 в качестве нейропротектора.

Это является убедительным доказательством того, что субстанция ZC64-0001 через активацию работы mGluR4 подавляет нейродегенеративные процессы, протекающие в сетчатке на фоне длительного повышения ВГД, и объясняет высокую активность ZC64-0001.

Ограничения исследования

Ограничений не было.

Обобщаемость/экстраполяция

Воспроизведенная нами модель ПОУГ патогенетически наиболее приближена к течению заболевания у людей. Учитывая результаты полученных данных, длительное повышение ВГД, приводит к характерным изменениям, которые подобны изменениям сетчатки больных, страдающих глаукомой. Возникающие изменения на фоне модели также сопровождались снижением уровня микроциркуляции, эти данные сопоставимы с результатами последних исследований, указывающих на то, что процесс нейродегенерации сетчатки при глаукоме протекает в том числе и на фоне гемодинамических нарушений [29, 30], что указывает на еще большее соответствие между течением глаукомы у пациентов с ПОУГ и процессами, протекающими в сетчатке лабораторных животных на фоне моделирования патологии. Ввиду чего полученные по результатам исследования данные позволяют экстраполировать результаты экспериментального исследования на клиническую практику и предполагают нейропротективное действие соединения на сетчатку человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На фоне моделирования патологии ввиду нейродегенеративных процессов, протекающих в сетчатке, наблюдалось снижение уровня микроциркуляции в сетчатке, уменьшение амплитуд b- и a-волны ЭРГ и снижение числа ядер ГКС.

По результатам проведенного исследования на основании улучшения микроциркуляторного, электрофизиологического и морфометрического показателей в сетчатке животных на фоне коррекции соединением ZC64-0001 можно сделать вывод о его высоких нейропротективных свойствах в условиях повышенного внутриглазного давления. Что позволяет рекомендовать ZC64-0001 соединение в качестве нейропротектора.

3. Zembala J, Forma A, Zembala R, Januszewski J, Zembala P, Adamowicz D, Teresiński G, Buszewicz G, Flieger J, Baj J. Technological Advances in a Therapy of Primary Open-Angle Glaucoma: Insights into Current Nanotechnologies. *J Clin Med*. 2023;12(18):5798. <https://doi.org/10.3390/jcm12185798>
4. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. The AGIS Investigators. *Am J Ophthalmol*. 2000;130(4):429–440. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(00\)00538-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(00)00538-9)

5. Artero-Castro A, Rodriguez-Jimenez FJ, Jendelova P, VanderWall KB, Meyer JS, Erceg S. Glaucoma as a Neurodegenerative Disease Caused by Intrinsic Vulnerability Factors. *Prog Neurobiol.* 2020;193:101817. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101817>
6. Gu L, Kwong JM, Caprioli J, Piri N. DNA and RNA oxidative damage in the retina is associated with ganglion cell mitochondria. *Sci Rep.* 2022;12(1):8705. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12770-9>
7. Munemasa Y, Ahn JH, Kwong JM, Caprioli J, Piri N. Redox proteins thioredoxin 1 and thioredoxin 2 support retinal ganglion cell survival in experimental glaucoma. *Gene Ther.* 2009;16(1):17–25. <https://doi.org/10.1038/gt.2008.126>
8. Baudouin C, Kolko M, Melik-Parsadaniantz S, Messmer EM. Inflammation in Glaucoma: From the back to the front of the eye, and beyond. *Prog Retin Eye Res.* 2021;83:100916. <https://doi.org/10.1016/j.pretyeres.2020.100916>
9. Kasetti RB, Maddineni P, Millar JC, Clark AF, Zode GS. Increased synthesis and deposition of extracellular matrix proteins leads to endoplasmic reticulum stress in the trabecular meshwork. *Sci Rep.* 2017;7(1):14951. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14938-0>
10. Shinozaki Y, Leung A, Namekata K, Saitoh S, Nguyen HB, Takeda A, Danjo Y, Morizawa YM, Shigetomi E, Sano F, Yoshioka N, Takebayashi H, Ohno N, Segawa T, Miyake K, Kashiwagi K, Harada T, Ohnuma SI, Koizumi S. Astrocytic dysfunction induced by ABCA1 deficiency causes optic neuropathy. *Sci Adv.* 2022;8(44):eabq1081. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abq1081>
11. Lambuk L, Jafri AJA, Iezhitsa I, Agarwal R, Bakar NS, Agarwal P, Abdullah A, Ismail NM. Dose-dependent effects of NMDA on retinal and optic nerve morphology in rats. *Int J Ophthalmol.* 2019;12(5):746–753. <https://doi.org/10.18240/ijo.2019.05.08>
12. Reiner A, Levitz J. Glutamatergic Signaling in the Central Nervous System: Ionotropic and Metabotropic Receptors in Concert. *Neuron.* 2018;98(6):1080–1098. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.05.018>
13. Калатанова А.В., Победа А.С., Абашева Д.А., Должиков А.А., Пересыпкина А.А., Покровский М.В. Электроретинография в оценке нейропротекторного эффекта на модели экспериментальной глаукомы. *Вестник офтальмологии.* 2021;137(3):86–92. <https://doi.org/10.17116/oftalma202113703186>
14. Kalatanova AV, Pobeda AS, Abasheva DA, Dolzhikov AA, Peresypkina AA, Pokrovsky MV. Electroretinography in evaluation of neuroprotective effect in an experimental model of glaucoma. *Vestnik Oftalmologii.* 2021;137(3):86–92 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/oftalma202113703186>
15. Pobeda AS, Kalatanova AV, Abashev DA, Dolzhikov AA, Solovlev NV, Shchurovskaya KV, Chernyaeva SS, Kolesnik IM. Study to elucidate the pharmacological activity of retinalamin in a rat model of ischemic retinopathy. *Research Results in Pharmacology.* 2021;7(2):39–48. <https://doi.org/10.3897/rpparmacology.7.67390>
16. Lambuk L, Iezhitsa I, Agarwal R, Agarwal P, Peresypkina A, Pobeda A, Ismail NM. Magnesium acetyltaurate prevents retinal damage and visual impairment in rats through suppression of NMDA-induced up-regulation of NF-κB, p53 and AP-1 (c-Jun/c-Fos). *Neural Regen Res.* 2021;16(11):2330–2344. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.310691>
17. Победа А.С., Соловьев Н.В., Покровский М.В., Скачилова С.Я., Ефименко С.В., Симакина Е.А., Башук В.В., Проскурина О.В., Должиков А.А., Нестерова Н.И. Влияние новых производных 3-гидроксипиридина на NMDA-индуцированную дегенерацию сетчатки. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2023;86(3):11–16. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2023-86-3-11-16>
18. Pobeda AS, Solovlev NV, Pokrovsky MV, Skachilova SYa, Efimenko SV, Simakina EA, Bashuk VV, Proskurina OV, Dolzhikov AA, Nesterova NI. Effect of new 3-hydroxypyridine derivatives on NMDA-induced retinal neurodegeneration. *Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2023;86(3):11–16 (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2023-86-3-11-16>
19. Fan X, Ying Y, Zhai R, Sheng Q, Sun Y, Xu H, Kong X. The characteristics of fundus microvascular alterations in the course of glaucoma: a narrative review. *Ann Transl Med.* 2022;10(9):527. <https://doi.org/10.21037/atm-21-5695>
20. Bayer AU, Danias J, Brodie S, Maag KP, Chen B, Shen F, Podos SM, Mittag TW. Electroretinographic abnormalities in a rat glaucoma model with chronic elevated intraocular pressure. *Exp Eye Res.* 2001;72(6):667–677. <https://doi.org/10.1006/exer.2001.1004>
21. Moreno MC, Marcos HJ, Oscar Croxatto J, Sande PH, Campanelli J, Jaliffa CO, Benozzi J, Rosenstein RE. A new experimental model of glaucoma in rats through intracameral injections of hyaluronic acid. *Exp Eye Res.* 2005;81(1):71–80. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.01.008>
22. Noailles A, Kutsyr O, Mayordomo-Febrer A, Lax P, López-Murcia M, Sanz-González SM, Pinazo-Durán MD, Cuenca N. Sodium Hyaluronate-Induced Ocular Hypertension in Rats Damages the Direction-Selective Circuit and Inner/Outer Retinal Plexiform Layers. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2022;63(5):2. <https://doi.org/10.1167/iov.63.5.2>
23. Grodzanic SD, Betts DM, Sakaguchi DS, Allbaugh RA, Kwon YH, Kardon RH. Laser-induced mouse model of chronic ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(10):4337–4346. <https://doi.org/10.1167/iov.44.10.4337>
24. Abitbol K, McLean H, Bessiron T, Daniel H. A new signalling pathway for parallel fibre presynaptic type 4 metabotropic glutamate receptors (mGluR4) in the rat cerebellar cortex. *J Physiol.* 2012;590(13):2977–2994. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.232074>
25. Niswender CM, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2010;50:295–322. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.011008.145533>
26. Yao HH, Ding JH, Zhou F, Wang F, Hu LF, Sun T, Hu G. Enhancement of glutamate uptake mediates the neuroprotection exerted by activating group II or III metabotropic glutamate receptors on astrocytes. *J Neurochem.* 2005;92(4):948–961. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02937.x>
27. Chen BS, Roche KW. Regulation of NMDA receptors by phosphorylation. *Neuropharmacology.* 2007;53(3):362–368. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.05.018>
28. Loane DJ, Stoica BA, Faden AI. Metabotropic glutamate receptor-mediated signaling in neuroglia. *Wiley Interdiscip Rev Membr Transp Signal.* 2012;1(2):136–150. <https://doi.org/10.1002/wmts.30>
29. Lee HK. Synaptic plasticity and phosphorylation. *Pharmacol Ther.* 2006;112(3):810–832. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.06.003>
30. Abulwerdi G, Stoica BA, Loane DJ, Faden AI. Putative mGluR4 positive allosteric modulators activate Gi-independent anti-inflammatory mechanisms in microglia. *Neurochem Int.* 2020;138:104770. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104770>
31. Wang X, Wang M, Liu H, Mercieca K, Prinz J, Feng Y, Prokosch V. The Association between Vascular Abnormalities and Glaucoma-What Comes First? *Int J Mol Sci.* 2023;24(17):13211. <https://doi.org/10.3390/ijms241713211>
32. Feng KM, Tsung TH, Chen YH, Lu DW. The Role of Retinal Ganglion Cell Structure and Function in Glaucoma. *Cells.* 2023;12(24):2797. <https://doi.org/10.3390/cells12242797>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Победа Анна Сергеевна — кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии федерального государственного автономного образова-

тельного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». <https://orcid.org/0000-0002-0541-8946>

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Anna Sergeevna Pobeda — Cand. Sci. (Biology), Assoc. Prof., Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod National Research University. <https://orcid.org/0000-0002-0541-8946>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author