

© Н. В. Корсакова, 2018  
УДК 611.843.1.018.8:575.113:599.323.4

Н. В. Корсакова<sup>1, 2</sup>

## КОЛИЧЕСТВО ГАНГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ У МЫШЕЙ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ ДЕФЕКТОМ РАЗЛИЧНЫХ ПОДТИПОВ АЛЬФА-1-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

<sup>1</sup> Кафедра офтальмологии и отоларингологии (зав. — проф. Н. П. Паштаев), медицинский факультет, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова» Минобрнауки РФ; <sup>2</sup> Чебоксарский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК „Микрохирургия глаза“ им. акад. С. Н. Федорова» (дир. — проф. Н. П. Паштаев) Минздрава РФ

**Цель** — сравнительное изучение количества ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) у мышей, имеющих генетический дефект различных подтипов альфа-1-адренорецепторов.

**Материал и методы.** Исследование проведено на 36 лабораторных мышах мужского пола старше 1 года 6 мес, имеющих генетический дефект по одному из подтипов альфа-1-адренорецепторов (альфа-1а, альфа-1b, альфа-1d). Группа контроля сформирована из интактных лабораторных мышей (линия C57Bl/6N<sup>Tac</sup>) такого же возраста и пола. Применен иммунофлюоресцентный метод дифференцированной визуализации клеток в тотальном плоскостном препарате сетчатки с помощью Bn3a-маркера, позволяющий производить их подсчет.

**Результаты.** Установлено, что мыши с генетическим дефектом альфа-1b- и альфа-1d-адренорецепторов имеют большее, а мыши с дефектом альфа-1а-адренорецепторов — меньшее количество ГКС, чем интактные такого же возраста и пола. При этом обнаружено, что общее количество клеток сетчатки у мышей во всех изученных линиях практически одинаково.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о специфичном вкладе каждого подтипа альфа-1-адренорецепторов (альфа-1а, альфа-1b, альфа-1d) в процесс формирования особенностей топографии сетчатки, а следовательно, и ее функционирования.

**Ключевые слова:** ганглиозные клетки сетчатки, Bn3a-маркер, альфа-1-адренорецепторы, старение

Общепризнано, что гуморальная система организма оказывает существенное влияние на морфофункциональное состояние органов и тканей, в том числе и глаза [1, 4, 5, 9–11]. Доказана важная роль вегетативной нервной системы в сохранении функций зрительного анализатора (острота зрения, цветоощущение, поле зрения, стереоскопическое зрение и др.), например, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) [6, 7, 11]. Кроме того, чувствительность тканей глаза к трофическим нервным влияниям подтверждена экспрессией в них адренергических рецепторов [16, 19]. Описана роль альфа-1-адренорецепторов в регуляции ряда физиологических процессов, связанных с функционированием нервной системы (например, модуляцией синаптической пластичности) [21], контролем кровяного и внутриглазного давления, спазмом артериол, снижением проницаемости сосудистой стенки, сужением зрачка, регуляцией гемодинамики глаза, циркадианных ритмов внутриглазного давления и др. [13, 14]. Такие современные антиглаукомные препараты, как селективные агонисты альфа-адренорецепторов, доказавшие свою эффективность, к сожалению, демон-

стрируют ее лишь на ранних этапах формирования ПОУГ, что, возможно, связано с постепенной утратой чувствительности тканей глаза к симпатическим влияниям [1]. Однако до настоящего времени не изучено селективное влияние отдельных подтипов альфа-1-адренорецепторов на анатомо-топографические особенности сетчатки, что важно при изучении роли нервной трофики зрительного анализатора. Это особенно актуально в связи с известным фактом гибели примерно 25 % ганглиозных клеток сетчатки к моменту формирования I стадии ПОУГ [15, 20]. Интерес представляет также модулирующая активность супрахиазматического ядра гипоталамуса в части симпатической и парасимпатической иннервации глаза, продукции камерной влаги глазного яблока и ее оттока [11, 16, 17].

Целью настоящего исследования явилось проведение сравнительного изучения количества ганглиозных клеток сетчатки у мышей с генетическим дефектом различных подтипов альфа-1-адренорецепторов.

**Материал и методы.** Исследование выполнено в период с 10 ноября 2015 г. по 10 января 2016 г. на 36 лабораторных мышах мужского пола (эксперимен-

### Сведения об авторе:

Корсакова Надежда Витальевна (e-mail: [korsnv@rambler.ru](mailto:korsnv@rambler.ru)), кафедра офтальмологии и отоларингологии, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова» Минобрнауки РФ, 428000, г. Чебоксары, Московский пр., 15

тальная группа) в возрасте от 1 года 6 мес до 1 года 11 мес, имеющих генетический дефект по одному из трех следующих подтипов альфа-1-адренорецепторов: альфа-1a (15 мышей), альфа-1b (11 мышей) и альфа-1d (10 мышей). Все изученные линии лабораторных мышей — ADRA-1A, ADRA-1B и ADRA-1D — предоставлены Университетом им. Гутенберга (г. Майнц, Германия) в рамках поддержанного грантом научного исследования. Группа контроля сформирована из 10 интактных лабораторных мышей (линия C57Bl/6NTac) такого же возраста и пола.

Все животные контрольной и экспериментальной группы с момента рождения содержались в виварии в стандартных условиях пищевого рациона, освещенности, температуры и влажности воздуха, количества животных в клетке: свободный доступ к пище и еде, 12-часовой свето-темновой цикл искусственного освещения, температура воздуха  $22 \pm 2$  °C, влажность воздуха  $55 \pm 10$  %, по 4 мыши в клетке. Исследование выполнено только на правом глазу, так как среди включенных в исследование экспериментальных животных линии ADRA-1D зарегистрировано 3 случая повреждения левого глазного яблока другими содержащимися совместно животными этой же линии по причине их выраженного агрессивного поведения.

Применяли стандартный протокол иммуофлюоресцентного метода дифференцированной визуализации клеток сетчатки с помощью Brn3a-маркера (Santa Crus Biotechnology, Германия), являющего ядерным белком и эндогенным маркером ганглиозных клеток сетчатки. Энуклеация изучаемого глазного яблока выполнена сразу после выведения мыши из эксперимента ингаляцией углекислого газа, после чего энуклеированное глазное яблоко помещали в раствор 4% формальдегида (Sigma, Германия) на 30 мин при комнатной температуре с последующим отмыванием его в натрий-фосфатном буфере (PBS-раствор, Invitrogen, Германия) и изготовлением тотального плоскостного препарата сетчатки с четырьмя надрезами ее периферического отдела на 3, 6, 9 и 12 ч (рис. 1).

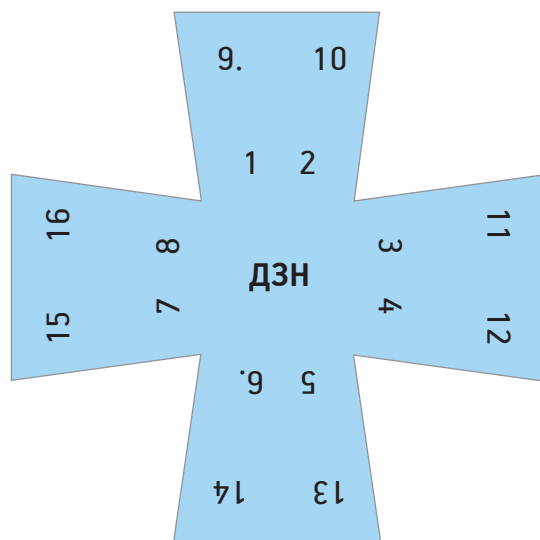


Рис. 1. Схема расположения зон наблюдения и подсчета клеточных ядер в тотальном плоскостном препарате сетчатки у мыши.

1–8 — зоны наблюдения и подсчета в центральном отделе сетчатки; 9–16 — зоны наблюдения и подсчета в периферическом отделе сетчатки; ДЗН — диск зрительного нерва

Препарат сетчатки перемещали в эппендорф внутренней (витреальной) поверхностью вверх, отмывали с помощью PBS-раствора с добавлением 0,5 % раствора Triton X-100 дважды по 10 мин при комнатной температуре и замораживали в растворе PBS с добавлением 0,5 % раствора Triton X-100 при температуре  $-70$  °C в течение 15 мин. Затем препарат сетчатки оставляли при комнатной температуре для оттаивания, отмывали PBS-раствором с добавлением 0,5 % раствора Triton X-100 дважды по 10 мин. Инкубацию препарата сетчатки с первичными антителами, разведенными в соотношении 1:750 (стерильный PBS-раствор, 2 % раствор Triton X-100, Brn3a-антитела, 2 % раствор Normal Donkey Serum, Santa Crus Biotechnology, Германия), производили в течение 2 ч при комнатной температуре и в течение ночи при температуре  $+4$  °C. Далее препарат сетчатки отмывали PBS-раствором с добавлением 2 % раствора Triton X-100 при комнатной температуре в течение 5 мин и еще 4 раза по 10 мин PBS-раствором с добавлением 0,5 % раствора Triton X-100. Инкубацию препарата сетчатки с вторичными антителами, разведенными в соотношении 1:500 (стерильный PBS-раствор, 2 % раствор Triton X-100, раствор Alexafluor-568, Invitrogen, Германия), производили в течение 2 ч при комнатной температуре, отмывали PBS-раствором с добавлением 2 % раствора Triton X-100 в течение 5 мин и еще 4 раза по 10 мин PBS-раствором с добавлением 0,5 % раствора Triton X-100, перемещали на предметное стекло и после нанесения 1 капли DAPI-хромогена (4',6'-diamino-2-phenylindole — универсальный ядерный краситель, испускающий синюю флюоресценцию в области ДНК клетки) (Sigma, Германия) защищали покровным стеклом.

Готовые препараты сетчатки изучали с помощью микроскопа MX51 (Olympus, Германия) в 16 полях зрения (об. 40) по схеме зон наблюдения и подсчета (см. рис. 1). Подсчет среднего общего числа клеток сетчатки осуществляли, подсчитывая число клеточных ядер, визуализированных с помощью DAPI-фильтра, в указанных зонах наблюдения; при этом подсчет среднего числа ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) осуществляли по числу клеточных ядер, визуализированных с помощью TRITC-фильтра в тех же изученных 16 зонах наблюдения [17, 23].

Статистическую обработку данных производили с использованием программы Statistica 6.0 для вычисления среднего числа изучаемых клеток в поле зрения и его стандартной ошибки. Оценка значимости различий между средними величинами числа клеток сетчатки для каждой изученной линии животных произведена с использованием t-критерия Стьюдента. Работа в лаборатории осуществлена в соответствии с принципами Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации и «Принципами надлежащей лабораторной практики» (национальный стандарт РФ ГОСТ Р 53434–2009).

**Результаты исследования.** С помощью методов дифференцированной визуализации клеток сетчатки, позволяющих производить их подсчет, впервые обнаружены особенности их количественных характеристик для каждой изученной линии мышей-самцов (C57Bl/6NTac, ADRA-1A, ADRA-1B и ADRA-1D) в возрасте от 1 года 6 мес до 1 года 11 мес.

Установлено, что в группе контрольных мышей линии C57Bl/6NTac общее число

клеток сетчатки составляет в среднем  $248,3 \pm 6,41$  клеток в поле зрения (кл./п.зр.) (рис. 2). В группе экспериментальных нокаутных мышей линии ADRA-1A, ADRA-1B и ADRA-1D общее число клеток сетчатки имеет максимально приближенные значения:  $249,8 \pm 1,21$ ,  $248,62 \pm 8,22$  и  $246,5 \pm 9,88$  кл./п.зр. соответственно (таблица).

Методом специфического выявления ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) обнаружено, что их число в группе контрольных и экспериментальных нокаутных мышей различается. Для сетчатки у мышей линии C57Bl/6NTac их значение в среднем составляет  $107,23 \pm 2,69$  кл./п.зр. (рис. 3). При этом для сетчатки у мышей с генетическим дефектом одного из подтипов альфа-1-адренорецепторов (линии ADRA-1A, ADRA-1B и ADRA-1D) в среднем характерно следующее число ГКС:  $95,8 \pm 0,12$ ,  $116,45 \pm 7,29$  и  $112,55 \pm 4,47$  кл./п.зр. соответственно ( $p < 0,05$ ). Кроме того, процентное соотношение ГКС к общему числу клеток сетчатки во всех изученных линиях мышей также различно. Например, ГКС в поле зрения сетчатки мышей линии C57Bl/6NTac составляет в среднем  $43,19 \pm 0,64$  %. При этом характерные для сетчатки мышей с генетическим дефектом одного из подтипов альфа-1-адренорецепторов (линии ADRA-1A, ADRA-1B и ADRA-1D) относительное содержание ГКС составляет  $38,34 \pm 0,64$ ,  $46,68 \pm 1,76$  и  $45,71 \pm 1,14$  % соответственно.

Обсуждение полученных данных. Анализ полученных результатов показал, что сетчатка у мышей линии ADRA-1A имеет наименьшее, а сетчатка у мышей линии ADRA-1B — наибольшее число ГКС в сравнении с другими изученными линиями. Данный результат важно рассматривать в неразрывной связи с другими ранее проведенными исследованиями тех же линий экспериментальных животных [7, 8, 12], позволившими установить, что для мышей с генетическим дефектом одного из подтипов альфа-1-адренорецепторов характерен более высокий уровень внутриглазного давления (ВГД), чем у интактных.

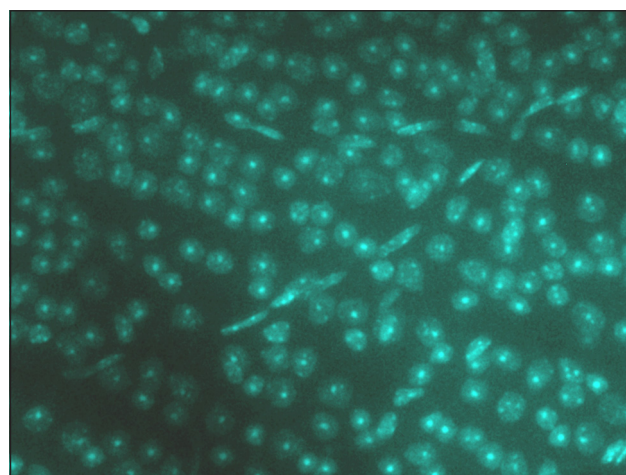


Рис. 2. Клеточные ядра сетчатки у мыши линии C57Bl/6NTac (тотальный плоскостной препарат сетчатки, зона 5). Brn3a-иммунофлюоресцентный метод окрашивания. DAPI-фильтр. Olympus MX51. Ув. 600

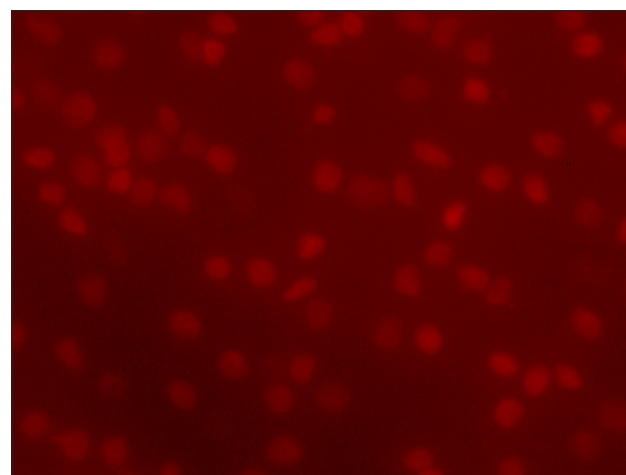


Рис. 3. Brn3a-позитивные ганглиозные клетки сетчатки у мыши линии C57Bl/6NTac (тотальный плоскостной препарат сетчатки, зона 5).

Brn3a-иммунофлюоресцентный метод окрашивания. TRITC-фильтр. Olympus MX51. Ув. 600

При этом максимально выраженные суточные колебания ВГД выявлены именно у мышей линии ADRA-1A. Это создает условия для выраженной

#### Количественная характеристика клеток сетчатки у изученных линий мышей (C57Bl/6NTac, ADRA-1A, ADRA-1B и ADRA-1D) ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )

| Линия лабораторных мышей | Общее число клеток сетчатки в поле зрения | Среднее число ганглиозных клеток сетчатки в поле зрения | Относительное содержание ганглиозных клеток в составе общего числа клеток сетчатки (%) |
|--------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| C57Bl/6NTac              | $248,30 \pm 6,41$                         | $107,23 \pm 2,69^*$                                     | $43,19 \pm 0,64$                                                                       |
| ADRA-1A                  | $249,80 \pm 1,21$                         | $95,80 \pm 0,12^*$                                      | $38,34 \pm 0,64$                                                                       |
| ADRA-1B                  | $248,62 \pm 8,22$                         | $116,45 \pm 7,29^*$                                     | $46,68 \pm 1,76$                                                                       |
| ADRA-1D                  | $246,50 \pm 9,88$                         | $112,55 \pm 4,47^*$                                     | $45,71 \pm 1,14$                                                                       |

\* Различия между общим числом клеток сетчатки и числом ганглиозных клеток сетчатки в поле зрения значимы при  $p < 0,05$ .



нестабильности гидро- и гемодинамики глаза, прежде всего в области головки зрительного нерва, инициирует нарушение трофики зрительного нерва и сетчатки, реперфузионное повреждение их ткани и гибель ганглиозных клеток сетчатки [15, 20]. Эти повреждения более выражены именно при максимальном перепаде ВГД [12, 20]. Представленные в данной статье результаты способствуют уточнению механизмов нарушения ауторегуляции глазного кровотока и офтальмотонуса при анализе других ранее проведенных исследований [7, 12]. Важно отметить тот факт, что максимальный диапазон суточных колебаний ВГД, характерный для выраженной нестабильности гидродинамики глазного яблока, выявлен ранее у мышей линии ADRA-1A [8], демонстрирующих в настоящем исследовании наибольшие потери числа ГКС. Минимальный диапазон суточных колебаний ВГД, характерный для относительно стабильной гидродинамики глаза, наблюдается у представителей линии ADRA-1B [8], для которых в настоящем исследовании характерна максимальная сохранность числа ГКС.

Повышенное ВГД является одним из ключевых факторов патогенеза глаукомы. Известно, что у большинства пациентов с ПОУГ повышенное ВГД регистрируется утром [3, 12, 18], когда осуществляется ритмичная смена функциональной активности отделов вегетативной нервной системы организма [2, 22]. Следствием этого является практическая рекомендация пациенту по коррекции его образа жизни — ранний утренний подъем. Это позволяет, корректируя преобладание парасимпатических эффектов, снизить повреждающее воздействие высокого ВГД на головку зрительного нерва в условиях пониженного артериального давления в утренние часы, характерного для пациентов с ПОУГ [7, 12, 18]. Кроме того, доказано, что в ответ на повышение ВГД рефлекторно возникает сужение интраокулярных артерий (сосудистый рефлекс Кальфа), искажение которого в условиях дисбаланса вегетативной нервной системы, например, при генетическом дефекте подтипов адренорецепторов, может иметь большое значение в патогенезе ПОУГ.

Учитывая неодинаковую роль различных подтипов альфа-1-адренорецепторов в регуляции гидро-, гемодинамики глаза, кровяного давления, а следовательно, в возникновении условий для реперфузионного повреждения тканей глаза и прогрессирования глаукомы, необходимо дальнейшее изучение особенностей кровяного и перфузионного внутриглазного давления у мышей с названными генетическими дефектами.

Проведенное сравнительное исследование позволило обнаружить количественные различия ГКС у старых интактных мышей линии C57Bl/6NTac и мышей с генетическим дефектом одного из подтипов альфа-1-адренорецепторов и сформулировать следующие выводы: 1) сетчатка у мышей линии ADRA-1A имеет наименьшее число ГКС ( $95,8 \pm 0,12$  кл./п.зр.) в сравнении с линиями мышей C57Bl/6NTac, ADRA-1B и ADRA-1D ( $107,23 \pm 2,69$ ,  $116,45 \pm 7,29$  и  $112,55 \pm 4,47$  кл./п.зр. соответственно); 2) сетчатка у мышей линии ADRA-1B имеет наибольшее число ГКС ( $116,45 \pm 7,29$  кл./п.зр.) в сравнении с линиями мышей C57Bl/6NTac, ADRA-1A и ADRA-1D ( $107,23 \pm 2,69$ ,  $95,8 \pm 0,12$  RGC и  $112,55 \pm 4,47$  кл./п.зр. соответственно); 3) общее число клеток сетчатки у мышей линии C57Bl/6NTac ( $248,3 \pm 6,41$  кл./п.зр.) и мышей с изученными генетическими дефектами линии ADRA-1A, ADRA-1B, ADRA-1D ( $249,8 \pm 1,21$ ,  $248,62 \pm 8,22$ ,  $246,5 \pm 9,88$  кл./п.зр. соответственно) сходно.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости выделения мышей линии ADRA-1A в качестве модели изучения патоморфологических и патофизиологических изменений в тканях глаза при формировании ПОУГ. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют о специфическом вкладе альфа-1a-, альфа-1b- и альфа-1d-подтипов адренорецепторов в процесс формирования анатомо-топографических особенностей сетчатки.

*Работа выполнена при поддержке гранта Германской службы академических обменов (DAAD) и Министерства образования и науки Российской Федерации, в рамках программы академического обмена на тему «Фундаментальная офтальмология: роль симпатической нервной системы в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы» (соглашение с исследователем № 91578056).*

#### Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: Н. В. К.

Сбор и обработка материала: Н. В. К.

Статистическая обработка данных: Н. В. К.

Анализ и интерпретация данных: Н. В. К.

Написание текста: Н. В. К.

**Автор сообщает об отсутствии в статье конфликта интересов.**

#### ЛИТЕРАТУРА

- Ажипа Я.И. Трофическая функция нервной системы. М.: Наука, 1990. 672 с. [Azhipa Ya.I. Trophic function of nervous system. Moscow: Nauka, 1990. 672 p. In Russ.].
- Арушунян Э.Б., Ованесов К.Б. Значение мелатонина для физиологии и патологии глаза // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2016. Т. 11, № 1. С. 126–133 [Arushanyan E.B., Ovanesov K.B. The role of melatonin for physiology and pathology of an eye // Meditsinskii vestnik Severnogo

- Kavkaza. 2016. Vol. 11, № 1. P. 126–133. In Russ.]. doi: <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2016.11017>.
3. Астахов Ю.С., Устинова Е.И., Катинас Г.С., Устинов С.Н., Байгушева С.С. О традиционных и современных способах исследования колебаний офтальмотонуса // Офтальмологические ведомости. 2008. № 2. С. 7–12 [Astakhov Yu.S., Ustinova E.I., Katinas G.S., Ustinov S.N., Baigusheva S.S. On traditional and modern methods of ophthalmotonus fluctuations investigation // Ophthalmologicheskie vedomosti. 2008. № 2. P. 7–12. In Russ.].
  4. Власов Т.Д. Механизмы гуморальной регуляции сосудистого тонуса (часть первая) // Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2002. № 3. С. 68–77 [Vlasov T.D. The humoral mechanisms of vessel tone regulation (part 1) // Regional'noe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya. 2002. № 3. P. 68–77. In Russ.].
  5. Власов Т.Д. Механизмы гуморальной регуляции сосудистого тонуса (часть вторая) // Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2002. № 4. С. 68–73 [Vlasov T.D. The humoral mechanisms of vessel tone regulation (part 2) // Regional'noe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya. 2002. № 4. P. 68–73. In Russ.].
  6. Егоркина С.Б. Центральные серотонинергические структуры мозга в механизмах регуляции офтальмотонуса и гормонального профиля крови при эмоциональном стрессе // Кубанский научный медицинский вестник. 2010. Т. 122, № 8. С. 65–68 [Egorkina S.B. Central serotonergic brain structures in the mechanisms of ophthalmotonous regulation and hormonal blood profile in emotional stress // Kubanskii nauchnyi meditsinskii vestnik. 2010. Vol. 122, № 8. P. 65–68. In Russ.].
  7. Еричев В.П., Козлова И.В., Макарова А.С., Цзинь Дань. Особенности системной гемодинамики у больных первичной открытоугольной глаукомой, компенсированным внутриглазным давлением и нестабилизированным течением // Глаукома. 2013. № 3. С. 22–25 [Erichiev V.P., Kozlova I.V., Makarova A.S., Jin Dan. Features of systemic hemodynamics in patients with progressive primary open-angle glaucoma with compensated intraocular pressure // Glaucoma. 2013. № 3. P. 22–25. In Russ.].
  8. Корсакова Н.В. Внутриглазное давление мышей с генетическим дефектом различных подтипов альфа-1-адренорецепторов в утренние и вечерние часы // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. 2017. Т. 103, № 5. С. 562–569 [Korsakova N.V. Features of intraocular pressure in mice with a genetic defect of different subtypes of alpha-1-adrenoreceptors in morning and evening clocks (first results) // Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M.Sechenova. 2017. Vol. 103, № 5. P. 562–569. In Russ.].
  9. Корсакова Н.В., Григорьев В.Н., Сергеева В.Е. Морфологическое обоснование десимпатизации глаза как нового способа экспериментального моделирования катаракты // Морфология. 2011. Т. 140, вып. 6. С. 48–52 [Korsakova N.V., Grigoryev V.N., Sergeyeva V.Ye. Morphological basis of ocular desympathetization as a new method for experimental cataract modeling // Morfologiya. 2011. Vol. 140, № 6. P. 48–52. In Russ.].
  10. Корсакова Н.В., Паштаев Н.П., Поздеева Н.А., Сергеева В.Е. Влияние статуса вегетативной нервной системы пациента на вид формирующейся возрастной катаракты // Фундаментальные исследования. 2011. № 6. С. 77–79 [Korsakova N.V., Pashtaev N.P., Pozdeeva N.A., Sergeeva V.E. The influence of dominating part of vegetative nervous system following the different types of senile cataract formation in human // Fundamental'nye issledovaniya. 2011. № 6. P. 77–79. In Russ.].
  11. Кубарева И.А., Смелышева Л.Н. Вариабельность морфофизиологических характеристик глаза здорового человека в зависимости от исходного уровня вегетативного баланса // Вестник Оренбургского государственного университета. 2011. № 14 (133). С. 212–216 [Kubareva I.A., Smelisheva K.N. The variability of eye morpho-physiological characteristics depending to initial level of vegetative balance in humans // Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta. 2011. № 14 (133). P. 212–216. In Russ.].
  12. Курышева Н.И., Царегородцева М.А., Иртегова Е.Ю., Рябова Т.Я., Шлапак В.Н. Глазное перфузионное давление и первичная сосудистая дисрегуляция у больных глаукомой нормального давления // Глаукома. 2011. № 3. С. 11–17 [Kuryшева N., Tsaregorodtseva M., Irtegovа E., Ryabova T., Shlapak V. Ocular perfusion pressure and primary vascular dysregulation in normal tension glaucoma // Glaucoma. 2011. T. 3. C. 11–17. In Russ.].
  13. Cavalli A., Lattion A.L., Hummler E., Nenniger M. Decreased blood pressure response in mice deficient of the альфа1b-adrenergic receptor // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94, № 21. P. 11589–11594.
  14. Dalvin L.A., Fautsch M.P. Analysis of circadian rhythm gene expression with reference to diurnal pattern of intraocular pressure in mice // Investigative Ophthalmol. Vis. Sci. 2015. Vol. 56, № 4. P. 2657–2663. doi: 10.1167/iov.15-16449.
  15. Kordasz M.L., Manicam C., Steege A., Goloborodko E., Amato C., Laspas P., Brochhausen C., Pfeiffer N., Gericke A. Role of альфа1-adrenoceptor subtypes in pupil dilation studied with gene-targeted mice // Invest Ophthalmol. Vis. Sci. 2014. Vol. 55, № 12. P. 8295–8301. doi: 10.1167/iov.14-15706.
  16. Laspas P., Sniatecki J.J., Brochhausen C., Steege A., Goloborodko E., Kordasz M.L., Grus F.H., Pfeiffer N., Gericke A. Effect of the M1 muscarinic acetylcholine receptor on retinal neuron number studied with gene-targeted mice // J. Mol. Neurosci. 2015. Vol. 56, № 2. P. 472–479. doi: 10.1007/s12031-015-0524-7.
  17. Liu J.H., Bouligny R.P., Kripke D.F., Weinreb R.N. Nocturnal elevation of intraocular pressure is detectable in the sitting position // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2003. Vol. 44, № 10. P. 4439–4442.
  18. Mori A., Hanada M., Sakamoto K., Nakahara T., Ishii K. Noradrenaline contracts rat retinal arterioles via stimulation of α(1A)- and α(1D)-adrenoceptors // Eur. J. Pharmacol. 2011. Vol. 673, № 1–3. P. 65–69. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.10.012.
  19. Munemasa Y., Kitaoka Y. Molecular mechanisms of retinal ganglion cell degeneration in glaucoma and future prospects for cell body and axonal protection // Front Cell Neurosci. 2013. № 6. P. 60. doi: 10.3389/fncel.2012.00060.
  20. Pankratov Y., Lalo U. Role for astroglial α1-adrenoreceptors in gliotransmission and control of synaptic plasticity in the neocortex // Front Cell Neurosci. 2015. № 9. P. 230. doi: 10.3389/fncel.2015.00230.
  21. Ruan G.X., Gamble K.L., Risner M.L., Young L.A., McMahon D.G. Divergent roles of clock genes in retinal and suprachiasmatic nucleus circadian oscillators // PLoS One. 2012. № 7. P. 6. doi: 10.1371/journal.pone.0038985.

22. Yang Y., Mao D., Chen X., Zhao L., Tian Q., Liu C., Zhou B.L. Decrease in retinal neuronal cells in streptozotocin-induced diabetic mice // *Mol. Vis.* 2012. № 18. P. 1411–1420.

Поступила в редакцию 15.03.2018

Получена после доработки 25.04.2018

# **RETINAL GANGLION CELL NUMBERS IN MICE WITH GENETIC DEFECT OF DIFFERENT SUBTYPES OF ALPHA-1-ADRENORECEPTORS**

*N. V. Korsakova*

**Objective** — a comparative study of retinal ganglion cell (RGC) numbers in mice having a genetic defect of various subtypes of alpha-1-adrenoreceptors.

**Materials and methods.** The study was performed on 36 laboratory mice aged more than 1 year and 6 months with a genetic defect of one of the subtypes of alpha-1-adrenoreceptors (alpha-1a, alpha-1b, alpha-1d). The control group (C57Bl/6NTac mice) included intact laboratory mice of the same age and gender. An immunofluorescence technique for the differentiated visual-

ization of retinal cells in the retinal wholemount preparations with Brn3a marker allowing to calculate them, was used.

**Results.** It was found that mice with a genetic defect of alpha-1b- and alpha-1d-adrenoreceptors had greater, while mice with a defect of alpha-1a-adrenoreceptors had lower numbers of RGC, than that in the intact mice of the same age. At the same time, it was detected that the total number of retinal cells in mice of all the strains studied was almost identical.

**Conclusions.** The results obtained demonstrate the specific contribution of each subtype of alpha-1-adrenoreceptors (alpha-1a, alpha-1b, alpha-1d) to the process of formation of topography of the retina and, therefore, its functional characteristics.

**Key words:** *retina ganglion cells, Brn3a-marker, alpha-1-adrenoreceptors, aging*

Department of Ophthalmology and Otolaryngology, I. N. Uliyanov Chuvash State University, 15 Moskovskiy prospekt, Cheboksary 428000; Cheboksary Branch of S. N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Center, 10 Prospekt Traktorostroiteley, Cheboksary 428028