

ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ СИСТЕМНОГО УРОВНЯ МОНОАМИНОВ В РАЗВИТИИ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

DOI: 10.17691/stm2021.13.3.05

УДК 617.735–053.32

Поступила 31.08.2020 г.

© Л.А. Катаргина, д.м.н., профессор, зам. директора по науке, начальник отдела патологии глаз у детей¹;
Н.А. Осипова, к.м.н., научный сотрудник отдела патологии глаз у детей¹;
А.Ю. Панова, к.м.н., младший научный сотрудник отдела патологии глаз у детей¹;
Н.С. Бондаренко, к.б.н., научный сотрудник лаборатории нервных и нейроэндокринных регуляций²;
Ю.О. Никишина, к.б.н., научный сотрудник лаборатории нервных и нейроэндокринных регуляций²;
А.Р. Муртазина, к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории нервных и нейроэндокринных регуляций²;
М.В. Угрумов, д.б.н., профессор, академик РАН, зав. лабораторией нервных и нейроэндокринных регуляций²

¹Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Москва, 105062;

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, ул. Вавилова, 26, Москва, 119334

Цель исследования — изучение системного уровня L-ДОФА, дофамина и норадреналина и оценка их прогностической значимости в развитии ретинопатии недоношенных (РН) на экспериментальной модели заболевания.

Материалы и методы. Исследование проводилось на крысах линии Wistar (n=36), которые были разделены на опытную (крысята с экспериментальной РН, n=17) и контрольную (n=19) группы. Животных обеих групп выводили из эксперимента на 14-, 21–23- и 28–30-е сутки. Выбор указанных сроков соответствовал ключевым этапам развития РН в эксперименте и основывался на результатах проведенных нами ранее гистологических исследований. В образцах плазмы крови крысят определяли содержание дофамина, L-ДОФА и норадреналина.

Результаты. На 14-е сутки эксперимент (этот срок соответствует индукции патологической неоваскуляризации в применяемой модели и доклинической стадии развития РН у детей в клинике) средний уровень L-ДОФА у крысят с РН (0,31 нг/мл) был статистически значимо снижен по сравнению с контролем (0,42 нг/мл) ($p \leq 0,01$). На 21–23-и сутки эксперимента (срок соответствует активному развитию патологической экстраретинальной неоваскуляризации в применяемой модели и 3-й стадии развития РН у детей в клинике) системный уровень L-ДОФА по-прежнему был статистически значимо снижен в опытной группе (0,87 нг/мл) по сравнению с контрольной (1,53 нг/мл) ($p \leq 0,01$). На 28–30-е сутки эксперимента (срок соответствует регрессу новообразованных сосудов в применяемой модели и фазе самопроизвольного регресса РН в клинике) уровень данного показателя в плазме крови в опытной группе (0,33 нг/мл) имел лишь статистически не значимую тенденцию к повышению относительно контроля (0,21 нг/мл). Средние уровни дофамина и норадреналина не имели различий в исследуемых группах крысят на всех сроках наблюдения.

Заключение. Низкий системный уровень L-ДОФА на доклинической стадии экспериментальной РН следует рассматривать в качестве лабораторного прогностического критерия развития патологического процесса, что позволит использовать данный критерий при разработке мер по оптимизации существующей системы скрининга заболевания у детей в клинике.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных; норадреналин; дофамин; L-ДОФА.

Как цитировать: Katargina L.A., Osipova N.A., Panova A.Y., Bondarenko N.S., Nikishina Yu.O., Murtazina A.R., Ugrumov M.V. Prognostic value estimation of monoamines systemic level in retinopathy of prematurity in experiment. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2021; 13(3): 41–46, <https://doi.org/10.17691/stm2021.13.3.05>

Для контактов: Осипова Наталья Анатольевна, e-mail: kulikovskaya1380@gmail.com

Prognostic Value Estimation of Monoamines Systemic Level in Retinopathy of Prematurity in Experiment

L.A. Katargina, MD, DSc, Professor, Deputy Director for Science, Head of the Department of Children Eye Pathology¹;

N.A. Osipova, MD, PhD, Researcher, Department of Children Eye Pathology¹;

A.Y. Panova, MD, PhD, Junior Researcher, Department of Children Eye Pathology¹;

N.S. Bondarenko, PhD, Researcher, Laboratory of Nervous and Neuroendocrine Regulations²;

Yu.O. Nikishina, PhD, Researcher, Laboratory of Nervous and Neuroendocrine Regulations²;

A.R. Murtazina, PhD, Junior Researcher, Laboratory of Nervous and Neuroendocrine Regulations²;

M.V. Ugrumov, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Nervous and Neuroendocrine Regulation²

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

²Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, 26 Vavilov St., Moscow, 119334, Russia

The aim of the investigation was to study a systemic level of L-DOPA, dopamine, and norepinephrine, and assess their prognostic value in retinopathy of prematurity (ROP) development on an experimental disease model.

Materials and Methods. The investigation was carried out on infant Wistar rats (n=36) divided into a study group (rat infants with experimental ROP, n=17) and a control group (n=19). The animals of both groups were sacrificed on days 14, 21–23, and on days 28–30. The choice of the indicated periods corresponded to the key stages of ROP development in an experiment and was based on the findings of our previous histological studies. Dopamine, L-DOPA, and norepinephrine levels in infant rat blood plasma samples were determined.

Results. On day 14 of the experiment (the period corresponds to the pathological neovascularization induction in the applied model and preclinical ROP in children), mean L-DOPA level in infant rats with ROP (0.31 ng/ml) was significantly decreased compared to that in the controls (0.42 ng/ml) ($p \leq 0.01$). On days 21–23 of the experiment (the period corresponds to the growth of pathological extraretinal neovascularization in the applied model and ROP stage 3 in children) the systemic level of L-DOPA was still statistically reduced in the study group (0.87 ng/ml) compared to the control group (1.53 ng/ml) ($p \leq 0.01$). On days 28–30 of the experiment (the period corresponds to the regress of neovasculature in the applied model and a spontaneous ROP regress stage in children) the L-DOPA level in blood plasma in the study group (0.33 ng/ml) showed an insignificant upward tendency in reference to the controls (0.21 ng/ml). Mean dopamine and norepinephrine levels had no difference in the groups under study of infant rats within all follow-up periods.

Conclusion. Low systemic level of L-DOPA at the preclinical stage of experimental ROP should be considered as a laboratory prognostic criterion of a developing pathological process; it will enable to use the criterion when working out the measures to optimize the existing screening system for the disease in children.

Key words: retinopathy of prematurity; norepinephrine; dopamine; L-DOPA.

Введение

Ретинопатия недоношенных (РН) — тяжелая вазо-пролиферативная витреоретинальная патология глаз недоношенных детей, которая является одной из ведущих причин необратимого билатерального нарушения зрительных функций у них [1].

В основе клинических проявлений РН лежит нарушение нормального ангиогенеза сетчатки, который начинается на 16-й неделе внутриутробного развития и завершается лишь к моменту срочных родов. На глазном дне недоношенных детей в норме всегда выявляются аваскулярные зоны на периферии сетчатки, причем их протяженность тем больше, чем меньше гестационный возраст ребенка на момент осмотра. Наличие таких аваскулярных зон не является забо-

леванием, это лишь свидетельствует о недоразвитии сетчатки, незавершенности ее васкуляризации и, соответственно, о вероятности проявления РН в дальнейшем. Возможность прогнозирования ее развития именно на данном этапе имеет важное клиническое значение.

Течение РН принято разделять на две фазы — активную и регрессивную, или рубцовую. Согласно международной классификации [2], выделяют 5 стадий активной фазы РН:

1-я стадия — появление тонкой плоской демаркационной линии белого цвета на границе сосудистой и бессосудистой сетчатки;

2-я стадия — формирование вала (или гребня) на месте демаркационной линии (следует подчеркнуть, что в 70–80% случаев при 1–2-й стадиях РН возможен

самопроизвольный регресс заболевания с минимальными остаточными изменениями на глазном дне);

3-я стадия — появление экстраретинальной фиброваскулярной пролиферации в области вала (при небольшой протяженности процесса (1–2 часовых меридиана), возможен самопроизвольный регресс, но дальнейшее прогрессирование заболевания требует врачебного вмешательства, поскольку продолженный рост экстраретинальной ткани ведет к необратимым последствиям и значительной потере зрительных функций);

4-я стадия — частичная отслойка сетчатки;

5-я стадия — полная или тотальная отслойка сетчатки.

«Золотым стандартом» лечения РН является лазеркоагуляция аваскулярной зоны сетчатки в так называемую пороговую стадию заболевания. Еще одним методом лечения, получившим распространение в последние годы, является интравитреальное введение антиангиогенных препаратов. Однако оба этих метода имеют определенные ограничения и недостаточную эффективность в лечении тяжелых атипичных форм РН, развивающихся у глубоко недоношенных детей. Частота данных форм заболевания в последние годы значительно возросла в связи с успехами современной неонатологии. Это делает крайне актуальным вопрос совершенствования системы скрининга и профилактики РН.

Поиск новых критериев прогнозирования развития РН неразрывно связан с углублением понимания патогенеза заболевания. Значимое место в изучении механизмов развития РН занимает экспериментальное моделирование. Наиболее широко применяются модели ретинальной неоваскуляризации на грызунах, в частности на крысах, в силу довольно высокого сходства развивающейся у них экспериментальной РН с заболеванием у детей в клинике (патологическое развитие сосудов сетчатки у животных в динамике соответствует существованию аваскулярных зон, «преретинопатии» и I–III стадиям активной фазы РН с последующим самопроизвольным регрессом заболевания), а также целого ряда преимуществ работы с мелкими лабораторными животными [3, 4].

Следует отметить, что изучение содержания различных патогенетически значимых факторов во внутриглазных структурах животных имеет преимущественно фундаментально-патогенетическое значение. Такое изучение несет в себе основу для разработки новых подходов к лечению данной патологии, однако оценка местного уровня соответствующих факторов у детей в клинике имеет очевидные ограничения [5, 6]. В связи с этим более перспективным для использования в клинической практике представляется исследование их системного уровня.

Целью нашего исследования явилось изучение системного уровня L-ДОФА, дофамина и норадреналина и оценка их прогностической значимости в

развитии ретинопатии недоношенных на экспериментальной модели заболевания.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 36 крысах линии Wistar в соответствии с ГОСТ 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики GLP», постановлением главного государственного врача РФ №51 от 29.08.2014 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», Федеральным законом №61-ФЗ от 12.04.2010 «Об обращении лекарственных средств». Протокол исследования был утвержден Этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра глазных болезней им. Гельмгольца.

С целью воспроизведения экспериментальной РН новорожденных крысят (n=17) на 14 сут помещали в инкубатор вместе с родившими их самками (возраст самок — 6–8 мес). Каждые 12 ч концентрация кислорода в инкубаторе изменялась от 60 до 15%. Затем крысят помещали в условия с нормальным содержанием кислорода (21%). На протяжении эксперимента в помещении поддерживали постоянный температурный (26°C) и световой (12 ч — день, 12 ч — ночь) режимы. Данная экспериментальная модель РН разработана и описана нами ранее [7], подтверждена иммуногистохимическими и гистологическими исследованиями, выявляющими характерные признаки заболевания, соответствующие 1–3-й стадиям активной фазы РН у детей.

Контрольную группу составили новорожденные крысы (n=19), находившиеся с момента рождения в условиях с нормальным содержанием кислорода (21%).

Животных обеих групп выводили из эксперимента на 14-, 21–23- и 28–30-е сутки жизни и проводили забор крови из сердца. Выбор указанных сроков обусловлен соответствием их ключевым этапам развития РН в эксперименте [7].

Для определения катехоламинов кровь собирали в пробирку с 30 мкл 5% раствора этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (Sigma-Aldrich, США) и 10 мкл 10% раствора метабисульфита натрия (Sigma-Aldrich). Затем отделяли плазму от форменных элементов центрифугированием при 1350 g в течение 10 мин и добавляли в нее 50 пмоль 3,4-дигидроксибензиламина (ДГБА) (Sigma-Aldrich) в 0,1 Н HClO₄. Для освобождения от высокомолекулярных белков плазму центрифугировали при 16 500 g 20 мин. Перед определением катехоламинов пробы экстрагировали осаждением на оксиде алюминия. Затем в плазме каждого образца методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией определяли содержание L-ДОФА, дофамина и норадреналина. Разделение осуществляли на

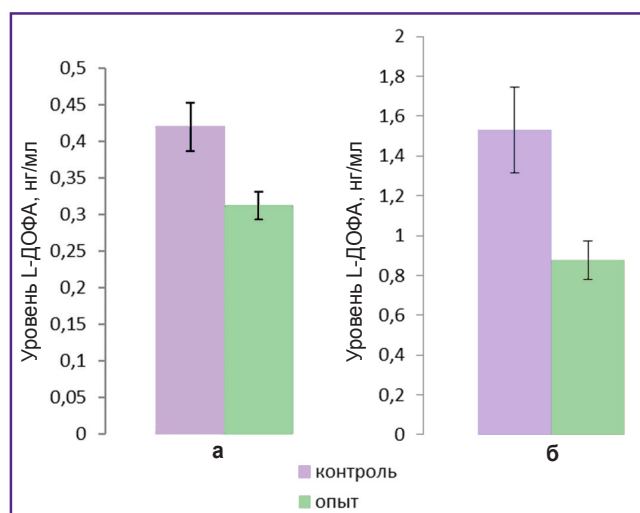
обратно-фазовой колонке ReproSil-Pur, ODS-3, 4×100 мм с диаметром пор 3 мкм (Dr. A. Marsch Ammerbuch-Entringen, Германия) при температуре 30°C и скорости подвижной фазы 1 мл/мин, которую поддерживает жидкостный хроматограф LC-20ADsp (Shimadzu, Япония) при потенциале 850 мВ.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ Statistica 10.0. Исследуемые выборки были проверены на соответствие нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для определения статистической значимости полученных результатов был использован непараметрический U-критерий Манна–Уитни (U-тест). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение (M±SE).

Результаты

Выбранный срок — 14-е сутки эксперимента — соответствует индукции патологической неоваскуляризации при экспериментальной РН, согласно проведенным нами ранее гистологическим исследованиям [7], и доклинической фазе развития РН у детей. На этом этапе средний уровень L-ДОФА в плазме крови крысят опытной группы (0,31 нг/мл) был статистически значимо снижен по сравнению с данным показателем (0,42 нг/мл) в группе контроля ($p \leq 0,01$) (см. рисунк).

На 21–23-и сутки эксперимента (срок соответствует активному развитию патологической экстраретинальной неоваскуляризации в применяемой модели [7] и III стадии развития РН у детей в клинике) системный уровень L-ДОФА по-прежнему был статистически значимо снижен в опытной группе (0,87 нг/мл) по сравнению с контрольной (1,53 нг/мл) ($p \leq 0,01$), при



Уровень L-ДОФА в плазме крови крысят опытной и контрольной групп:

а — на 14-е сутки эксперимента; б — на 21–23-и сутки эксперимента

Т а б л и ц а 1

Средний уровень дофамина в плазме крови крысят опытной и контрольной групп в течение эксперимента, нг/мл (M±SE)

| Группа | Сутки | | |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | 14-е | 21–23-и | 28–30-е |
| Контрольная | 0,04±0,02 | 0,18±0,02 | 0,09±0,01 |
| Опытная | 0,03±0,02 | 0,14±0,02 | 0,09±0,01 |

Т а б л и ц а 2

Средний уровень норадреналина в плазме крови крысят опытной и контрольной групп в течение эксперимента, нг/мл (M±SE)

| Группа | Сутки | | |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | 14-е | 21–23-и | 28–30-е |
| Контрольная | 3,67±1,73 | 3,63±1,22 | 3,42±1,72 |
| Опытная | 3,03±1,54 | 3,39±1,91 | 2,82±0,58 |

этом степень снижения была больше, чем на 14-е сутки.

На 28–30-е сутки эксперимента (срок соответствует регрессу новообразованных сосудов в применяемой модели [7] и фазе самопроизвольного регресса РН у детей в клинике) уровень данного показателя в плазме крови в опытной группе (0,33 нг/мл) имел лишь статистически не значимую тенденцию к повышению относительно контроля (0,21 нг/мл).

Средний системный уровень дофамина не имел значимых отличий в опытной и контрольной группах на всех этапах эксперимента (табл. 1).

Аналогично дофамину средний уровень норадреналина в плазме крови крысят не имел различий в исследуемых группах животных на всех сроках наблюдения (табл. 2).

Обсуждение

Современная система скрининга РН предусматривает необходимость офтальмологического обследования всех недоношенных детей, рожденных на сроке беременности менее 35 нед и с массой тела при рождении менее 2000 г [8]. Дальнейший мониторинг предполагает наблюдение детей раз в две недели, раз в неделю или раз в 3 дня в зависимости от клинической картины до достижения полной васкуляризации сетчатки, самопроизвольного или индуцированного регресса РН. Проведение многократных осмотров оказывает стрессовое действие на детей и сопряжено с рядом возможных осложнений в связи с развитием окулокардиальных и окулопульмональных рефлексов, особенно у глубоко недоношенных детей [9].

В последние годы предпринимаются попытки совершенствования существующего протокола скринин-

га РН. При этом активно развиваются два основных направления оптимизации: телемедицинские технологии и поиск дополнительных клинических и, в особенности, лабораторных прогностических критериев, позволяющих выявлять детей с высоким риском развития РН — для планирования ведения на этапах выхаживания, а также детей без риска или с низким риском развития РН — для сокращения числа лишних осмотров [10].

В настоящее время предметом активного изучения являются ангиогенные свойства моноаминов и их роль в развитии различной вазопрлиферативной ретиальной патологии. Однако данные, касающиеся их участия в патогенезе РН, на сегодняшний день немногочисленны и весьма противоречивы [11–13]. В проведенном нами ранее исследовании [6] было изучено содержание дофамина, его предшественника L-ДОФА и норадреналина в сетчатке крысят с экспериментальной РН на разных сроках развития патологии и получены данные, свидетельствующие о конкретном участии L-ДОФА и норадреналина в регуляции ангиогенеза при РН.

Целью настоящего исследования стало изучение системного уровня моноаминов при развитии РН. Это позволяет проводить параллель между данными эксперимента и клиники, поскольку, как уже упоминалось ранее, оценка системного уровня различных факторов у недоношенных детей гораздо более перспективна по сравнению с их определением во внутриглазных структурах. Особый интерес представляют результаты, полученные в отношении L-ДОФА, поскольку уровень данного фактора имел статистически значимую разницу между изучаемыми группами животных в разные сроки, что свидетельствует о его патогенетической, а также прогностической роли в развитии РН.

Полученные нами данные, бесспорно, позволяют рассматривать низкий уровень данного моноамина в плазме крови крысят на 14-е сутки эксперимента, т.е. на сроке, соответствующем началу патологического ангиогенеза сетчатки или преретинопатии у детей в клинике, в качестве прогностического признака развития экстраретиальной вазопрлиферации при экспериментальной РН и могут служить основой для проведения клинических исследований с целью определения прогностического значения уровня L-ДОФА в сыворотке крови недоношенных детей как потенциально нового лабораторного критерия скрининга РН.

Заключение

Низкий системный уровень L-ДОФА на доклинической стадии экспериментальной РН следует рассматривать в качестве лабораторного прогностического критерия развития патологического процесса, что позволит использовать данный критерий при разработке мер по оптимизации существующей системы скрининга заболевания у детей в клинике.

Источник финансирования. Работу проводили при поддержке государственного задания по темам НИР и НИОКТР (номера государственной регистрации — 0108–2019–0006 и АААА-А18–118032390091–7).

Конфликт интересов. Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Yonekawa Y., Thomas B.J., Thanos A., Todorich B., Drenser K.A., Trese M.T., Capone A. Jr. The cutting edge of retinopathy of prematurity care: expanding the boundaries of diagnosis and treatment. *Retina* 2017; 37(12): 2208–2225, <https://doi.org/10.1097/iae.0000000000001719>.

2. International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. The international classification of retinopathy of prematurity revisited. *Arch Ophthalmol* 2005; 123(7): 991–999, <https://doi.org/10.1001/archophth.123.7.991>.

3. Grossniklaus H.E., Kang S.J., Berglin L. Animal models of choroidal and retinal neovascularization. *Prog Retin Eye Res* 2010; 29(6): 500–519, <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2010.05.003>.

4. Barnett J.M., Yanni S.E., Penn J.S. The development of rat model of retinopathy of prematurity. *Doc Ophthalmol* 2010; 120(1): 3–12, <https://doi.org/10.1007/s10633-009-9180-y>.

5. Катаргина Л.А., Осипова Н.А., Панова А.Ю., Бондаренко Н.С., Никишина Ю.О., Муртазина А.Р., Угрюмов М.В. Изучение патогенетического значения катехоламинов в развитии ретинопатии недоношенных на экспериментальной модели заболевания. *Российский офтальмологический журнал* 2019; 12(4): 64–69, <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2019-12-4-64-69>.

Katargina L.A., Osipova N.A., Panova A.J., Bondarenko N.S., Nikishina Yu.O., Murtazina A.R., Ugryumov M.V. Studying the pathogenic role of catecholamines in the development of retinopathy of prematurity on an experimental model of the disease. *Rossijskij oftal'mologiceskij zhurnal* 2019; 12(4): 64–69, <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2019-12-4-64-69>.

6. Катаргина Л.А., Осипова Н.А., Панова А.Ю., Петровская А.В., Никишина Ю.О., Муртазина А.Р., Угрюмов М.В. Роль катехоламинов в развитии патологической неоваскуляризации сетчатки на экспериментальной модели ретинопатии недоношенных у крыс. *Доклады Академии наук* 2019; 489(3): 313–317, <https://doi.org/10.31857/s0869-56524893313-317>.

Katargina L.A., Osipova N.A., Panova A.Y., Petrovskaya A.V., Nikishina Yu.O., Murtazina A.R., Ugryumov M.V. The role of catecholamines in the development of pathological retina neovascularization in an experimental model of retinopathy of prematurity in rats. *Doklady Akademii nauk* 2019; 489(3): 313–317, <https://doi.org/10.31857/s0869-56524893313-317>.

7. Катаргина Л.А., Хорошилова-Маслова И.П., Майбогин А.М., Панова И.Г., Осипова Н.А. Патоморфологические особенности развития экспериментальной ретинопатии недоношенных. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований* 2017; 3–2: 190–194.

Katargina L.A., Khoroshilova-Maslova I.P., Majbogin A.M., Panova I.G., Osipova N.A. Pathomorphological features of the development of experimental retinopathy of prematurity. *Mezhdunarodnyj zurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij* 2017; 3–2: 190–194.

8. Ассоциация врачей-офтальмологов: межрегиональ-

ная общественная организация. *Федеральные клинические рекомендации по диагностике, мониторингу и лечению активной фазы ретинопатии недоношенных*. М; 2013; 27 с.

Assotsiatsiya vrachey-oftal'mologov: mezhtseional'naya obshchestvennaya organizatsiya. *Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po diagnostike, monitoringu i lecheniyu aktivnoy fazy retinopatii nedonosennykh* [Association of ophthalmologists: interregional public organization. Federal clinical guidelines for the diagnosis, monitoring and treatment of the active phase of retinopathy of prematurity]. Moscow; 2013; 27 p.

9. Quinn G.E., Ying G.S., Bell E.F., Donohue P.K., Morrison D., Tomlinson L.A., Binenbaum G.; G-ROP Study Group. Incidence and early course of retinopathy of prematurity: secondary analysis of the postnatal growth and retinopathy of prematurity (G-ROP) study. *JAMA Ophthalmol* 2018; 136(12): 1383–1389, <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2018.4290>.

10. Chen J., Stahl A., Hellstrom A., Smith L.E. Current

update on retinopathy of prematurity: screening and treatment. *Curr Opin Pediatr* 2011; 23(2): 173–178, <https://doi.org/10.1097/mop.0b013e3283423f35>.

11. Spix N.J., Liu L.L., Zhang Z., Hohlbein J.P., Prigge C.L., Chintala S., Ribelayga C.P., Zhang D.Q. Vulnerability of dopaminergic amacrine cells to chronic ischemia in a mouse model of oxygen-induced retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(7): 3047–3057, <https://doi.org/10.1167/iops.16-19346>.

12. Zhang N., Favazza T.L., Baglieri A.M., Benador I.Y., Noonan E.R., Fulton A.B., Hansen R.M., Iuvone P.M., Akula J.D. The rat with oxygen-induced retinopathy is myopic with low retinal dopamine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(13): 8275–8284, <https://doi.org/10.1167/iops.13-12544>.

13. Falk T., Congrove N.R., Zhang S., McCourt A.D., Sherman S.J., McKay B.S. PEDF and VEGF-A output from human retinal pigment epithelial cells grown on novel microcarriers. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 278932, <https://doi.org/10.1155/2012/278932>.