

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-53-59

УДК 577.175.3:617.713

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Коллектив авторов, 2019



Молекулярно-генетические аспекты оптимизирующего влияния окситоцина на репаративные процессы эпителиальных и стромальных структур роговицы глаза кроликов

А. Д. Чупров^{*}, А. А. Стадников², Д. В. Олейник¹, Н. Е. Гоголева³,
А. О. Плотников⁴, А. А. Миронычева³, С. В. Черкасов⁴

¹Оренбургский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Оренбург, Россия

²ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург, Россия

³Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

⁴ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук», Оренбург, Россия

Цель – определить регенераторное влияние окситоцина на экспрессию генов PAX6, MKI67, TAB3, соответственно, при экспериментальной эрозии роговицы.

Материал и методы. Сформировано 3 группы экспериментальных животных (n=6). 1-й и 2-й группе выполнена эрозия роговицы диаметром 8 мм. 3-я группа контрольная – без повреждения роговицы. 1-й группе (n=2) инстиллировали в конъюнктивальный мешок антибиотик ципромед 0.3%; 2-й группе (n=2) – окситоцин 5 МЕ и ципромед 0.3%. У всех животных забирали образцы переднего эпителия и стромы на 4-е и 8-е сутки эксперимента, изготавливали гистологические препараты. Из образцов выделяли мРНК, относительное содержание которой оценивали методом электрофореза. Обратной транскрипцией получали кДНК. По результатам real-time PCR оценивали экспрессию изучаемых генов.

Результаты. Экспрессию целевых генов PAX6, MKI67, TAB3 нормализовали относительно генов «домашнего хозяйства» HPRT и RPL5 в программе REST. Окситоцин стимулировал усиление экспрессии гена MKI67 в строме (в 2.3 раза на 4-е сутки) с последующей нормализацией на 8-е сутки. Гены PAX6 и TAB3, напротив, снижали свою экспрессию под действием окситоцина. В эпителии на 8-е сутки под действием окситоцина возрастала экспрессия гена PAX6 (в 2.1 раза), при этом экспрессия генов MKI67 и TAB3 по сравнению с контролем практически не изменялась (0.72 и 1.1 раз, соответственно).

Заключение. Установлен новый механизм воздействия окситоцина на процесс восстановления роговицы при ее повреждении, заключающийся в дифференциальной стимуляции экспрессии генов MKI67 и PAX6, участвующих в регенерации стромы и эпителия роговицы, соответственно.

Ключевые слова: регенерация, роговица, экспрессия генов, окситоцин.

Molecular Genetic Aspects of the Optimizing Effect of Oxytocin on the Reparative Processes of Rabbit Eye Corneal Epithelial and Stromal Structures

© A.D. Chuprov^{*}, A.A. Stadnikov², D.V. Oleinik¹, N.E. Gogoleva³, A.O. Plotnikov⁴, A.A. Mironycheva³,
S.V. Cherkasov⁴, 2019

¹Orenburg Branch S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Orenburg, Russia

²Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

³Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Centre of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia

⁴Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

The aim of study was to determine the regenerative effect of oxytocin on the expression of PAX6, MKI67, TAB3 genes, respectively, during experimental corneal erosion.

Material and methods. The study involved experimental animals divided into three groups (6 rabbits total). Groups 1 and 2 were simulated erosion of the cornea 8mm in diameter. Animals of group 3 – control – were without damage to the cornea. Group 1 consisting of 2 rabbits was instilled antibiotic cypromed 0.3% in the conjunctival sac; group 2 consisting of 2 rabbits was instilled oxytocin 5ME and cypromed 0.3%. Samples of the anterior epithelium and stroma were taken in all animals on the 4th and 8th day of the experiment, histological preparations were made. mRNA, the relative content of which was evaluated by electrophoresis, was isolated from the samples. cDNA was obtained using reverse transcription. The expression of the studied genes was evaluated based on the real-time PCR.

Results. The expression of the target genes PAX6, MKI67, TAB3 was normalized relative to the “household” genes HPRT and RPL5 using REST program. Oxytocin stimulated increased expression of the MKI67 gene in the stroma (2.3 times on the 4th day), followed by normalization on the 8th day. PAX6 and TAB3 genes, in contrast, decreased their expression under the effect of oxytocin. PAX6 gene expression increased in the epithelium

under the effect of oxytocin (2.1 times) on the 8th day, while MKI67 and TAB3 genes expression remained virtually unchanged compared to the control (0.72 and 1.1 times, respectively).

Conclusion. The authors have elucidated a new mechanism of action of oxytocin on the corneal restoration process during the damage of cornea. This mechanism represents differential stimulation of expression of MKI67 and PAX6 genes involved in the regeneration of stroma and corneal epithelium, respectively.

Key words: regeneration, cornea, gene expression, oxytocin.

***Автор для переписки:**

Чупров Александр Дмитриевич
Оренбургский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им.
акад. С.Н. Федорова, ул. Салмышская, 17, г. Оренбург,
460047, Россия

E-mail: wedil@mail.ru

***Corresponding author:**

Aleksandr Chuprov
Orenburg Branch S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State
Institution, ul. Salmyskaya, 17, Orenburg, 460047, Russia
E-mail: wedil@mail.ru

Введение

Травмы органа зрения занимают третье место среди патологии глаз. Большинство из них – эрозии роговицы, представляющие собой повреждение переднего эпителия. Глубокие повреждения роговицы характеризуются развитием рубцовой ткани. В России насчитывается более 500 тыс. слепых и слабовидящих [1], из них до 18% приходится на пациентов с патологией роговицы [4].

Учитывая особенности строения и питания роговицы, А. Thofr в начале 80-х годов ушедшего столетия обосновал роль клеток ростковой зоны лимба в физиологической регенерации многослойного эпителия в виде пролиферации и миграции клеток-предшественниц с последующей их дифференцировкой и послойным продвижением к зоне повреждения [11]. В 2004 году впервые было описано присутствие мезенхимальных стволовых/прогениторных клеток в глубоких слоях лимба [18]. Показано, что они обладают фенотипом, сходным с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками костного мозга, не несут на своей поверхности антигенов HLA-DR и благодаря своим секреторным свойствам и межклеточным контактам отвечают за процессы самоподдержания пула эпителиальных стволовых/прогениторных клеток и процессы физиологической и репаративной регенерации структур роговицы [12].

Известно, что с помощью работы регуляторных факторов (транскрипционных, РНК-связывающих факторов и сигнальных белков) происходит развитие и дифференцировка гистологических структур глаза [10, 11, 14, 20].

Ген MKI67, кодирующий белок Ki-67, является универсальным маркером пролиферации и выявляется в клетках во всех фазах митотического цикла, кроме Go [1]. В ранние сроки повреждения роговицы клетки с высокой экспрессией Ki-67 локализованы преимущественно в области ростковой зоны лимба [4].

Экспрессию гена TAB3 рассматривали как коррелят активации TGF- β (трансформирующего ростового фактора бета), который в условиях травмы роговицы способствует увеличению интенсивности пролиферации и миграции эпителиоцитов, что ускоряет заживление раневой поверхности [16].

Рах-6 является ранним маркером дифференцировки эпителиальных клеток роговицы. Экспрессия Рах-6 сохраняется и в роговице глаза взрослого человека, что свидетельствует о необходимости его участия не только в процессах онтогенеза, но и в нормальном функционировании роговицы глаза [15].

Тем не менее, несмотря на имеющиеся данные об участии регуляторных генов в процессах восстановления роговицы, в настоящее время нет сведений о влиянии лекарственных веществ, стимулирующих регенерацию, на экспрессию этих генов.

В течение многолетних исследований убедительно подтверждена положительная роль гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы и нейроциркуляторных механизмов в регуляции регенерации трофических нарушений [8].

Особое место занимают эффекты окситоцина при лечении трофических язв и длительно незаживающих ран. Со способностью окситоцина повышать проницаемость биологических мембран, возможно, связаны эффекты бактерицидной активности и значительного усиления действия многих антибиотиков в отношении различной гноеродной микрофлоры [6]. Интересными являются сведения об участии окситоцина в иммунном ответе с обеспечением согласованного взаимодействия клеток, участвующих в иммуногенезе [2]. Выявлено усиление антимикробного действия большинства антибиотиков в комбинации с окситоцином при лечении гнойно-воспалительных заболеваний, что также принесло положительные результаты [3, 7]. В ряде работ было показано, что при ишемическом или механическом повреждении миокарда в эксперименте окситоцин потенцирует антиоксидантную защиту кардиомиоцитов, снижает выраженность локальной воспалительной реакции и нейтрофил-зависимого апоптоза [19].

Изучено положительное влияние окситоцина при его использовании с целью лечебной коррекции на репаративные процессы в тканях поджелудочной железы при остром деструктивном панкреатите [9].

Установлено, что в условиях травмы конъюнктивы ведущим фактором ограниче-

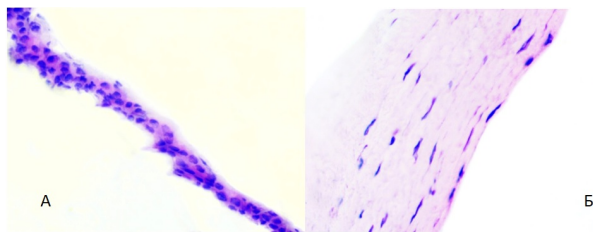


Рис. 1. Роговица: передний эпителий (А), строма (Б). Окраска гематоксилином Майера и эозином. Об. 20, ок. 10.

ния репаративных механизмов ее клеточных и тканевых структур являются сдвиги в гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системе в форме снижения высвобождения гипоталамических нейропептидов через аксовазальные контакты в нейрогипофизе. Применение окситоцина увеличивает возможности реализации адаптивных и компенсаторных механизмов тканевых и клеточных структур, снижает клеточную гибель фибробластов, эндотелиоцитов и эпителиоцитов, оптимизирует фазы воспаления, и способствуют формированию регенерата, схожего по гистологическому строению с органотипическим [5].

Однако до сих пор не изучено влияние окситоцина на процессы регенерации роговицы, доказательством чего может послужить изменение экспрессии генов, участвующих в регенерации.

Цель исследования – определить регенераторное влияние окситоцина на экспрессию генов PAX6, MKI67, TAB3, соответственно, при экспериментальной эрозии роговицы.

Материал и методы исследования

Эксперимент выполнен на 6 беспородных кроликах массой 2.5 ± 0.3 кг. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985) и «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Москва, 1984). Кроликам 1-й и 2-й опытных групп (по 2 животных в каждой) выполняли эрозию роговицы по методу С. Hanna и J.E. O'Brien (1960) [13]. Под местной анестезией 0.4% раствором инкаина на роговицу наносили метку легким прижатием трепана с поршнем диаметром 8 мм, не захватывая ростковую зону лимба. В пределах метки, окрашенной 0.1% раствором флюоресцеина натрия, лезвием удаляли эпителий и часть стромы роговицы. Дефект эпителия снова окрашивали раствором флюоресцеина для отчетливой визуализации формы и размера эрозии. Животным 1-й группы 3 раза в сутки (через 8 ч) закапывали по 1 капле 0.3% раствора ципрофлоксацина в каждый глаз (глазные капли «Ципромед» PROMED EXPORTS, Pvt. Ltd., Индия). Живот-

ным 2-й группы 3 раза в сутки (через 8 ч) закапывали в каждый глаз по 1 капле 0.3% раствора ципрофлоксацина и через 5 мин по 1 капле раствора окситоцина 5 МЕ/мл («Окситоцин» Gedeon Richter, Германия). Контрольное животное с интактной роговицей содержалось в аналогичных условиях. Эвтаназию опытных животных осуществляли через 4 или 8 суток от начала эксперимента, контрольного животного – через 4 суток методом воздушной эмболии под эфирным рауш-наркозом. После эвтаназии энуклеировали глазное яблоко. Под хирургическим микроскопом с помощью глазного микрохирургического скальпеля снимали послойно образцы переднего эпителия и стромы. От каждого животного получали по 2 образца эпителия и по 2 образца стромы. Из части полученных образцов готовили микропрепараты для контроля (рис. 1), оставшуюся часть использовали для выделения РНК.

Для выделения РНК все образцы помещали в фиксатор «IntactRNA» (ЗАО «Евроген», Россия) и хранили 24 часа при $+4^{\circ}\text{C}$. Тотальную РНК выделяли с помощью реагента «ExtractRNA» (ЗАО «Евроген», Россия) в соответствии с инструкцией. Модификация методики заключалась в том, что для осаждения РНК вместо изопропанола использовали 96% этанол. РНК растворяли в деионизированной воде свободной от РНКаз. Относительное содержание и качество очистки РНК оценивали методом электрофореза препарата РНК в 1% агарозном геле.

Для очистки от сопутствующей ДНК препараты РНК обрабатывали дезоксирибонуклеазой «DNase I» (BioLabs Inc., США) в соответствии с инструкцией. Обратную транскрипцию проводили с помощью набора реактивов «MMLV RT kit» на основе обратной транскриптазы MMLV (ЗАО «Евроген», Россия) в соответствии с инструкцией.

Экспрессию генов оценивали по количеству транскриптов с помощью ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе CFX 96 (Bio-Rad, США). Для приготовления ПЦР смеси использовали 2.5x RT-PCR реакционную смесь (Синтол, Россия). Для детекции синтеза дцДНК использовали флуоресцентный краситель EvaGreen. Протокол реакции: первичная денатурация 95°C 5 мин, затем 40 циклов – 95°C 10 с, 60°C 60 с. Каждый образец анализировали в двух технических повторностях. Праймеры для ПЦР конструировали с помощью программы Vector NTI 9.1.0 (Invitrogen Corp., США). Для этого использовали последовательности целевых генов (PAX6, MKI67, TAB3) и генов «домашнего хозяйства» (HPRT и RPL5) из базы данных GENBANK (NCBI, США).

Выделение образцов РНК и их обработка выполнены на базе ЦКП «Персистенция микроорганизмов» ИКВС УрО РАН. ПЦР в

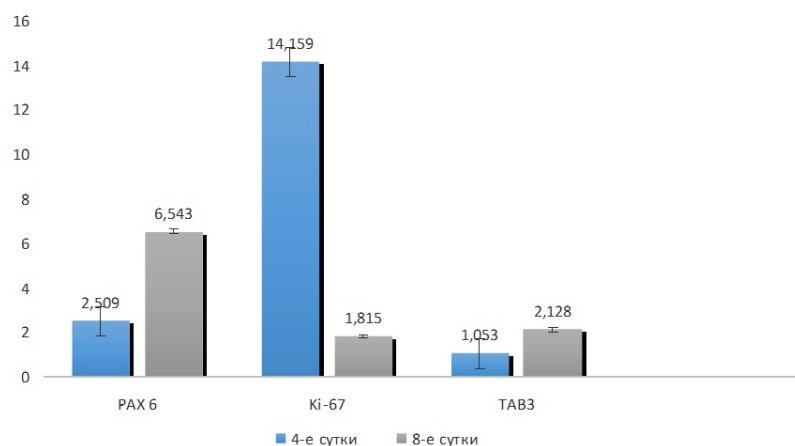


Рис. 2. Уровень экспрессии генов в строме при лечении эрозии роговицы цiproфлораксацином.

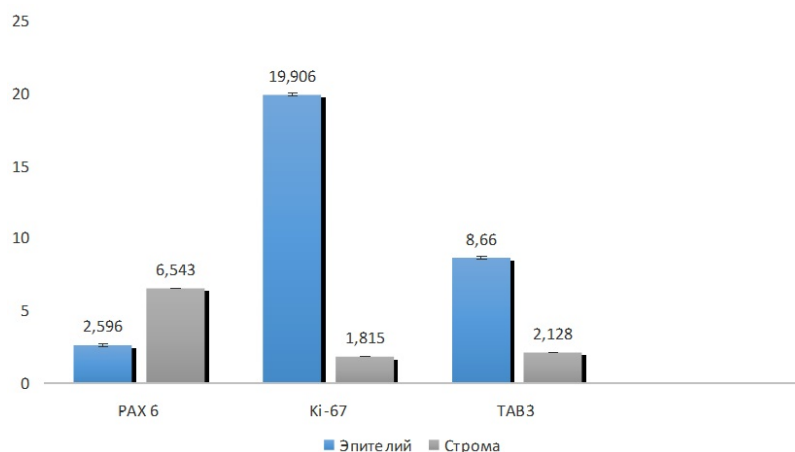


Рис. 3. Сравнение уровня экспрессии генов в строме и эпителии при лечении эрозии роговицы цiproфлораксацином на 8-е сутки.

режиме реального времени проведена на базе лаборатории молекулярной биологии КИББ КазНЦ РАН.

Для статистической оценки уровня экспрессии показатель реакции S_q для каждого испытуемого образца и калибровочных образцов копировали в программу REST 2009 [17]. Данная программа позволяет нормализовать экспрессию целевого гена относительно генов «домашнего хозяйства», и оценить усиление (up-регуляцию) или снижение экспрессии (down-регуляцию) целевого гена в опытном образце по сравнению с контрольным с учетом определенного уровня достоверности. Различия в уровне экспрессии гена в опытных и контрольных образцах со значениями $p \leq 0.05$ считали достоверными в 95% доверительном интервале (отмечены знаком *).

Результаты и их обсуждение

Экспрессию целевых генов PAX6, MKI67, TAB3 нормализовали относительно генов «домашнего хозяйства» HPRT и RPL5 в программе REST. Гены домашнего хозяйства были выбраны на основании данных, полученных в работе Ren et al. [19]. Для оценки экспрессии генов в образцах роговицы 1-й опытной группы (лечение цiproфлораксацином) значения рассчитывали относительно контрольного животного. Для оценки экс-

прессии генов в образцах роговицы 2-й опытной группы (лечение цiproфлораксацином и окситоцином) значения рассчитывали относительно 1-й опытной группы.

На первом этапе оценивали экспрессию продуктов целевых генов PAX6, MKI67, TAB3 в образцах стромы опытной группы 1-й (лечение цiproфлораксацином) относительно контрольного животного. Выявлено, что на 4-е сутки в строме поврежденной роговицы на фоне лечения цiproфлораксацином наблюдалось увеличение экспрессии генов PAX6 в 2.5 раза ($p=0.671$) и MKI67 – в 14.2 раза ($p=0.073$), свидетельствующее об активации процессов регенерации роговицы (рис. 2). В то же время уровень экспрессии гена TAB3 почти не отличался от контроля. К 8-м суткам уровень экспрессии всех целевых генов был выше по сравнению с контролем, что свидетельствует о продолжении процессов регенерации. При этом экспрессия Ki-67 снижалась и была лишь в 1.8 раза выше по сравнению с контролем ($p=0.169$), тогда как экспрессия PAX-6, напротив, усиливалась по сравнению с 4-ми сутками и составила 6.5 по отношению к контролю ($p=0.169$).

На следующем этапе сравнивали экспрессию продуктов целевых генов PAX6, MKI67, TAB3 на 8-е сутки в образцах эпителия роговицы и стромы 1-й опытной группы (лечение цiproфлораксацином) относительно контрольного животного. Оказалось, что в эпите-

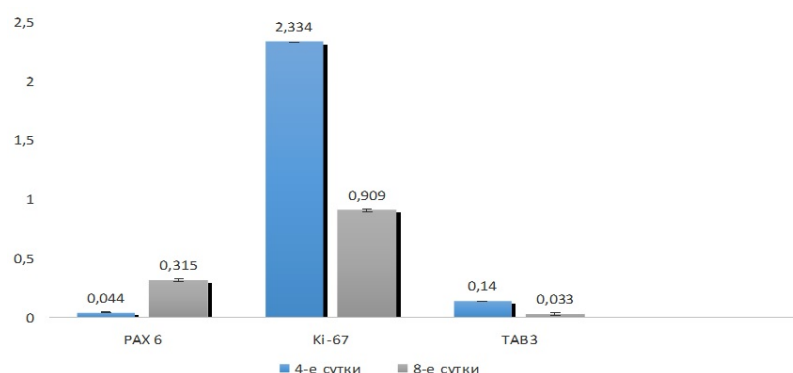


Рис. 4. Уровень экспрессии генов в строме при лечении эрозии роговицы ципрофлоксацином и окситоцином.

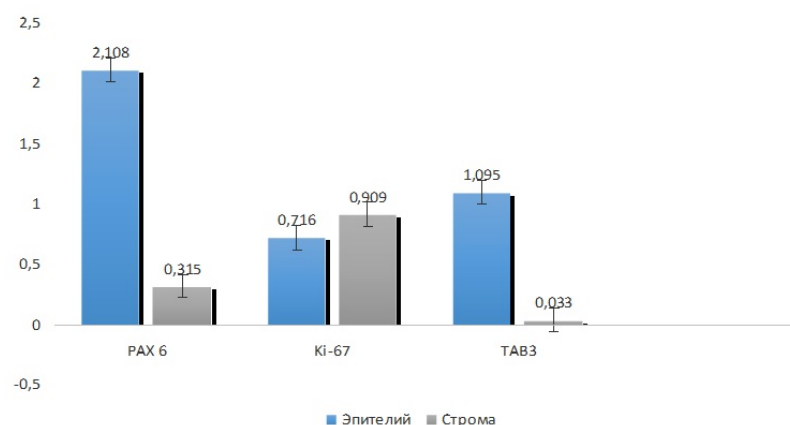


Рис. 5. Сравнение уровня экспрессии генов в строме и эпителии при лечении эрозии роговицы ципрофлоксацином и окситоцином на 8-е сутки.

лии, в отличие от стромы роговицы, экспрессия белка Ki-67 в 20 раз выше, чем в контроле, $p=0.09$, а продукта гена TAB3 – в 8.7 раза выше, чем в контроле, $p=0.162$. (рис. 3). В то же время, экспрессия Pax-6 в эпителии, напротив, была ниже, чем в строме (в 2.6 раза выше относительно контроля, $p=0.023^*$).

Далее проводили оценку экспрессии продуктов целевых генов PAX6, MKI67, TAB3 в образцах стромы 2-й опытной группы (лечение ципрофлоксацином и окситоцином) относительно 1-й опытной группы (лечение ципрофлоксацином). Выявлено, что на 4-е сутки в строме поврежденной роговицы на фоне основного лечения ципрофлоксацином при добавлении окситоцина происходило увеличение экспрессии гена MKI67 в 2.3 раза ($p=0.001^*$), подтверждающее стимуляцию процессов регенерации роговицы при добавлении окситоцина (рис. 4). Напротив, под влиянием окситоцина резко снижались относительно контроля значения уровня экспрессии генов TAB3 ($p=0.011^*$) и PAX6 ($p=0.069$). К 8-м суткам экспрессия Ki-67 снижалась и была почти равна таковой в контроле ($p=0.001^*$), тогда как экспрессия Pax-6 ($p=0.069$) и белка, кодируемого геном TAB3 ($p=0.011^*$) оставалась ниже, чем в контроле.

При сравнении экспрессии продуктов целевых генов PAX6, MKI67, TAB3 на 8-е сутки в образцах эпителия роговицы и стромы 2-й опытной группы (лечение ципрофлоксацином и окситоцином) относительно 1-й опытной группы, оказалось, что в эпителии, в отличие от стромы роговицы, экспрессия Pax-6 выше в 2.1 раза ($p=0.098$) (рис. 5). Экспрес-

сия генов TAB3 и MKI67 в эпителии была сопоставимой или ниже, чем в контрольной группе.

В результате исследования установлено, что гены PAX6, MKI67, TAB3 усиливают свою экспрессию в процессе заживления экспериментальной эрозии роговицы. При этом в строме роговицы наблюдалось максимальное усиление экспрессии гена MKI67 на 4-е сутки (в 14.1 раза), а PAX6 и TAB3 – на 8-е сутки (в 6.5 и 2.1 раза, соответственно). В то же время, в эпителии роговицы на 8-е сутки экспрессия генов MKI67 и TAB3 возрастала намного интенсивнее (в 19.9 и 8.7 раза, соответственно), чем в строме. Данные различия свидетельствуют о разной степени участия изучаемых генов в регенерации эпителия и соединительной ткани роговицы, и их возможной активации на разных этапах процесса.

Окситоцин, используемый для лечения экспериментальной эрозии роговицы дополнительно к антибактериальному препарату, стимулировал усиление экспрессии гена MKI67 в строме (в 2.3 раза на 4-е сутки) с последующей нормализацией на 8-е сутки. Гены PAX6 и TAB3, напротив, снижали свою экспрессию под действием окситоцина. В эпителии на 8-е сутки под действием окситоцина возрастала экспрессия гена PAX6 (в 2.1 раза), при этом экспрессия генов MKI67 и TAB3 по сравнению с контролем практически не изменялась (0.72 и 1.1 раза, соответственно). Наблюдаемые различия свидетельствуют о дифференциальном воздействии окситоцина на процессы регенерации эпителия и стромы роговицы. Дифференциальный эффект оксито-

цина на экспрессию разных генов, по-видимому, лежит в основе известного нормализующего влияния этого нонапептида на регенерацию, препятствующего избыточному воспалению и пролиферации рубцовой ткани [8].

Заключение

Таким образом, установлен новый механизм действия окситоцина на процесс восстановления роговицы при ее повреждении, заключающийся в дифференциальной стимуляции экспрессии генов MKI67 и PAX6, участвующих в регенерации стромы и эпителия роговицы, соответственно. Возможно, выявленный механизм лежит в основе местных эффектов окситоцина, который, как было установлено, повышает возможности реализации адаптивных и компенсаторных процессов тканевых и клеточных структур, оптимизирует фазы воспаления, уменьшает апоптоз эпителиоцитов, фибробластов, эндотелиоцитов и способствует формированию регенерата, близкого по гистологическому строению к органотипическому [5].

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Бабиченко И.И., Ковязин В.А. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста. М.: Изд-во РУДН; 2008. 109 [Babichenko II, Kovyazin VA. New methods of immunohistochemical diagnosis of tumor growth. Moscow: RUDN; 2008. 109] (in Russian).
2. Бухарин О.В. Гормоны задней доли гипофиза окситоцин и вазопрессин как медиаторы иммуногенеза. В кн: Морфогенез и регенерация покровных и железистых эпителиев в онтогенезе и в условиях эксперимента. Оренбург. 1981: 59–64 [Bukharin OV. Posterior pituitary hormones oxytocin and vasopressin as mediators of immunogenesis. In: Morphogenesis and regeneration of integumentary and glandular epithelium in ontogenesis and experimental conditions. Orenburg. 1981: 59–64] (in Russian).
3. Гавриленко В.Г., Есипов В.К., Сивожелезов К.Г. Морфологическая характеристика раневого процесса у больных с диабетическими гнойно-некротическими поражениями стоп при воздействии окситоцином. Морфология. 2003; 5: 24–28 [Gavrilenko VG, Esipov VK, Sivozhelozov KG. Morphological characteristic of wound healing process in patients with diabetic purulent-necrotic foot lesion treated with oxytocin. Morfologiya. 2003; 5: 24–28] (in Russian).
4. Гололобов В.Г., Гайворонский И.В., Деев Р.В., Рудько А.С., Эллиниди В.Н., Аникеева Н.В., Сухинин М.В. Репаративная регенерация многослойного эпителия роговицы: биотехнологический потенциал. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2008; 4(3):55–9 [Gololobov G, Gayvoronsky IV, Deev RV, Rud'ko AS, Ellinidi VN, Anikeeva NV, Sukhinin MV. Regenerative regeneration multilayered corneal epithelium: biotechnological potential. Genes and Cells. 2008; 4(3):55–9] (in Russian).
5. Горбунов А.А., Каников В.Н., Стадников А.А. Реактивность и пластичность тканей конъюнктивы в условиях ее механической травматизации и экзогенного введения окситоцина: материалы VII всероссийской конференции «Нейроэндокринология-2005». С.-Петербург; 2005:166–7 [Gorbunov AA, Kanyukov VN, Stadnikov AA. Reactivity and plasticity of conjunctival tissues under conditions of its mechanical traumatization and exogenous oxytocin administration: proceedings of the VII all-Russian conference "Neuroendocrinology-2005". Saint-Petersburg; 2005:166–7] (in Russian).
6. Курлаев П.П., Зак В.И. Применение окситоцина в комбинации с антибиотиками при лечении больных с лактационным маститом. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 1988; 4:58–61 [Kurlaev PP, Zak VI. Use of oxytocin in combination with antibiotics in the treatment of patients with stagnation mastitis. Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova. 1988; 4:58–61] (in Russian).
7. Скоробогатых Ю.И., Перунова Н.Б., Курлаев П.П., Бухарин О.В. Экспериментальное изучение комбинации ципрофлоксацина с окситоцином на образование биопленок условно патогенными бактериями. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2010; 6:3–7 [Skorobogatykh YuI, Perunova NB, Kurlaev PP, Bukharin OV. Eksperimental'noe izuchenie kombinatsii tsiprofloksatsina s oksitotsinom na obrazovanie bioplenok uslovno patogennymi bakteriyami. Journal of microbiology epidemiology immunobiology. 2010; 6:3–7] (in Russian).
8. Стадников А.А., Бухарин О.В. Гипоталамическая нейросекреция и структурно-функциональный гомеостаз про- и эукариот (морфологические основы реактивности, пластичности и регенерации). Оренбург: ОрГМА; 2012. 207 [Stadnikov AA, Bukharin OV. Hypothalamic neurosecretion and structural-functional homeostasis of Pro-and eukaryotes (morphological bases of reactivity, plasticity and regeneration). Orenburg: OrSMA; 2012. 207] (in Russian).
9. Стадников Б.А., Шеина Е.А. Влияние гипоталамических нонапептидов на регенерацию панкреатоцитов при остром экспериментальном панкреатите. Актуальные вопросы военной и практической медицины: сборник трудов. Оренбург; 2002. 168–69 [Stadnikov BA, Sheina EA. Vliyaniye gipotalamicheskikh nonapeptidov na regeneratsiyu pankreatotsitov pri ostrom eksperimental'nom pankreatite: Topical issues of military and practical medicine. Orenburg; 2002. 168–69] (in Russian).
10. Close JL, Gumuscu B, Reh T. Retinal neurons regulate proliferation of postnatal progenitors and Muller glia in the rat retina via TGF signaling. Development. 2005 Jul 1;132(13):3015–26. doi: 10.1242/dev.01882
11. Cvekl A, Piatigorsky J. Lens development and crystallin gene expression: many roles for Pax-6. BioEssays. 1996 Aug;18(8):621–30. doi: 10.1002/bies.950180805

12. Du Y, Funderburgh ML, Mann MM, SundarRaj N, Funderburgh JL. Multipotent Stem Cells in Human Corneal Stroma. *Stem Cells*. 2005 Oct;23(9):1266–75. doi: 10.1634/stemcells.2004-0256
13. Hanna C, Bicknell DS, O'Brien JE. Cellturnover in the adult human eye. *Arch Ophthalmol*. 1961; 65:695–703.
14. Hsieh Y-W, Zhang X-M, Lin E, Oliver G, Yang X-J. The Homeobox Gene Six3 Is a Potential Regulator of Anterior Segment Formation in the Chick Eye. *Developmental Biology*. 2002 Aug;248(2):265–80. doi: 10.1006/dbio.2002.0732
15. García-Villegas R, Escamilla J, Sánchez-Guzmán E, Pastén A, Hernández-Quintero M, Gómez-Flores E, et al. Pax-6 is expressed early in the differentiation of a corneal epithelial model system. *Journal of Cellular Physiology*. 2009 Aug;220(2):348–56. doi: 10.1002/jcp.21771
16. Maeng Y-S, Lee G-H, Lee B, Choi S-I, Kim T, Kim EK. Role of TGFBIp in Wound Healing and Mucin Expression in Corneal Epithelial Cells. *Yonsei Medical Journal*. 2017;58(2):423–31. doi: 10.3349/ymj.2017.58.2.423
17. Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L. Relative Expression Software Tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in Real-Time PCR. *Nucleic Acids Research*. 2002; 30(9):36. doi: 10.1093/nar/30.9.e36
18. Polisetty N, Fatima A, Madhira SL, Sangwan VS, Vemuganti GK. Mesenchymal cells from limbal stroma of human eye. *Molecular Vision*. 2008 Mar 4;14:431–42.
19. Ren S, Zhang F, Li C, Jia C, Li S, Xi H, Zhang H, Yang L, Wang Y. Selection of housekeeping genes for use in quantitative reverse transcription PCR assays on the murine cornea. *Molecular Vision*. 2010 Jun 11;16:1076–86.
20. Zhao S, Chen Q, Hung F, Overbeek P. BMP signaling is required for development of the ciliary body. *Development*. 2002 Oct;129(19):4435–42.

Поступила в редакцию 10.07.2019
Принята в печать 18.11.2019

Received 10.07.2019
Accepted 18.11.2019

Для цитирования: Чупров А.Д., Стадников А.А., Олейник Д.В., Гоголева Н.Е., Плотноков А.О., Миронычева А.А., Черкасов С.В. Молекулярно-генетические аспекты оптимизирующего влияния окситоцина на репаративные процессы эпителиальных и стромальных структур роговицы глаза кроликов. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2019; 8(4): 53–59. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-53-59

For citation: Chuprov A.D., Stadnikov A.A., Oleinik D.V., Gogoleva N.E., Plotnikov A.O., Mironycheva A.A., Cherkasov S.V. Molecular genetic aspects of the optimizing effect of oxytocin on the reparative processes of rabbit eye corneal epithelial and stromal structures. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2019; 8(4): 53–59. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-53-59