

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «СИБИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»

На правах рукописи

КРИВОШЕИНА ОЛЬГА ИВАНОВНА

**КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ
ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.00.16 – патологическая физиология

14.00.08 – глазные болезни

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук

И. А. Хлусов

доктор медицинских наук,
профессор И. В. Запускалов

Томск – 2004

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
СПИСОК ПРИНЯТЫХ В ДИССЕРТАЦИИ СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	15
1.1. Проллиферативные процессы в заднем полюсе глазного яб- лока.....	15
1.2. Анатомо-физиологические особенности стекловидного тела в патогенезе пролиферативной витреоретинопатии	17
1.3. Задняя гиалоидная мембрана как основа роста пролифера- тивной ткани.....	20
1.4. Нарушения локального гомеостаза при пролиферативной витреоретинопатии	24
1.5. Роль клеток в патогенезе пролиферативной витреоретино- патии.....	27
1.6. Биологически активные вещества и пролиферативная вит- реоретинопатия	36
1.6.1. Ангиогенные факторы.....	36
1.6.2. Цитокины.....	42
1.7. Локальные и системные нарушения иммунитета при про- лиферативной витреоретинопатии.....	47
1.8. Некоторые закономерности патогенеза пролиферативной витреоретинопатии	51
ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	59

2.1. Методологическая адекватность как условие научно-рационального исследования патогенеза пролиферативной витреоретинопатии	59
2.2. Экспериментальные исследования	64
2.2.1. Моделирование пролиферативной витреоретинопатии в условиях нормо- и гипергликемии	64
2.2.2. Метод культивирования клеток <i>in vitro</i> в изучении патогенеза пролиферативной витреоретинопатии	67
2.3. Клинические исследования.....	70
2.4. Морфофункциональные исследования.....	74
2.4.1. Гистологические методы	74
2.4.2. Цитохимические методы.....	78
2.5. Статистический анализ.....	81
ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ В УСЛОВИЯХ НОРМО- И ГИПЕРГЛИКЕМИИ.....	82
3.1. Динамика развития пролиферативной витреоретинопатии в эксперименте при интравитреальном введении мононуклеаров крови	82
3.2. Динамика развития пролиферативной витреоретинопатии при интравитреальном введении мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета	85
3.3. Сравнительный анализ морфогенеза пролиферативной витреоретинопатии в условиях нормо- и гипергликемии	98
ГЛАВА 4. МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ В УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МОНОНУКЛЕАРОВ КРОВИ <i>IN VITRO</i>	125

ГЛАВА 5. КЛИНИЧЕСКАЯ ПАТОМОРФОЛОГИЯ ПЕРИРЕТИНАЛЬНЫХ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ МЕМБРАН РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА.....	149
5.1. Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия.....	155
5.2. Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия	158
5.3. Регматогенная отслойка сетчатки, осложненная пролиферативной витреоретинопатией	163
5.4. Морфогенез периретинальных пролиферативных мембран	170
ГЛАВА 6. ПРОБЛЕМА СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ С ПОЗИЦИЙ СИСТЕМНОГО ПОДХОДА.....	177
ВЫВОДЫ	198
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	199
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	200

СПИСОК ПРИНЯТЫХ В ДИССЕРТАЦИИ СОКРАЩЕНИЙ

АГ	Антиген
ДЗН	Диск зрительного нерва
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ЗГМ	Задняя гиалоидная мембрана
М-КСФ ...	Макрофагальный колониестимулирующий фактор
ПВР	Пролиферативная витреоретинопатия
РПЭ	Ретинальный пигментный эпителий
у.е.о.п.	Условные единицы оптической плотности
ФНО	Фактор некроза опухоли
ЭОГ	Электроокулография
FGF	Фактор роста фибробластов
Ig	Иммуноглобулин
IL	Интерлейкин
n	Количество наблюдений в выборке
p	Уровень значимости
PDGF	Тромбоцитарный фактор роста
TGF	Трансформирующий фактор роста
VEGF	Сосудистый эндотелиальный фактор роста
X	Количественная переменная

ВВЕДЕНИЕ

В современной офтальмологии один из научно-познавательных акцентов связан с изучением патогенетических механизмов пролиферативной витреоретинопатии (ПВР), осложняющей течение таких патологических процессов, как травма, воспаление, сахарный диабет, сосудистые заболевания глаза. Для данной патологии характерен широкий спектр необратимых изменений, ухудшающих прогностические результаты лечения и значительно затрудняющих проведение хирургических вмешательств [6, 45, 48, 84, 215].

Достигнутые знания констатируют, что в основе ПВР лежит эпи- и субретинальное разрастание фиброваскулярной ткани, обладающей контрактивными свойствами, что вызывает складчатость сетчатки с ее последующей ретракционной отслойкой [284, 371].

О сложности и многогранности проблемы патогенеза ПВР свидетельствует тот факт, что в последние годы изучение механизмов развития и формирования пролиферативной ткани в полости глазного яблока привлекает внимание не только офтальмологов, но и ученых иного профиля – морфологов, патофизиологов. Такой широкий подход обеспечивает необходимую фундаментальность проводимым исследованиям, а также открывает перспективу иных концептуальных построений.

Интенсивное развитие витреоретинальной хирургии тесно связано с клинико-морфологическими исследованиями периретинальной пролиферации, чему посвящены многие работы отечественных и зарубежных авторов [18, 194, 195, 196, 252, 466]. Однако, на наш взгляд, имеющиеся знания не позволяют с исчерпывающей полнотой объяснить патогенез пролиферативного процесса.

Так, согласно публикациям последних лет, развитие витреоретинальной пролиферации во многом определяется анатомо-физиологическими особенностями строения сетчатки и стекловидного тела, в частности, задней гиалоидной мембраной и ее свойствами [82, 91, 150, 370, 426, 477]. В то же время, роль

данной структуры в патогенезе ПВР неоднозначна. С одной стороны, частичная отслойка задней гиалоидной мембраны ведет к прогрессированию пролиферативного процесса и способствует возникновению кровоизлияний в стекловидное тело [37, 54]. Полная заднегиалоидная отслойка предотвращает развитие витреоретинальной пролиферации и стабилизирует течение патологического процесса [150, 151].

Экспериментальные и клинические исследования указывают также на важность локальных изменений гомеостаза с развитием метаболического ацидоза, обусловленного активацией свободнорадикальных процессов, интенсификацией перекисного окисления липидов [11, 23, 54, 60, 278]. Продукты метаболизма, накапливаясь в витреальной полости, оказывают повреждающее действие на клеточные структуры внутренних оболочек глаза [54, 177, 299, 372].

Изменения локального иммунитета, выявляемые у больных ПВР различной этиологии, свидетельствуют о формировании и персистенции очага хронического воспаления в заднем полюсе глазного яблока [21, 63, 156, 195, 238, 241, 367]. Наличие дисбаланса системных иммунорегуляторных механизмов усугубляет течение патологического процесса.

Существенная роль в развитии ПВР отводится биологически активным веществам – факторам роста, стимулирующим миграцию клеток, их адгезию и собственно пролиферацию, продукцию других активаторов роста, а также неоваскулогенез [251, 283, 286, 466].

Новообразование сосудов, согласно теории ангиогенеза, происходит за счет митоза эндотелиоцитов предсуществующих сосудов с формированием «почек роста» [46, 95, 268, 429]. Основу формирования фиброзных мембран составляют те же репаративные процессы, что наблюдаются при заживлении раны: клеточный хемотаксис и митоз, синтез экстрацеллюлярного матрикса, процессы ремоделирования в новообразованной рубцовой ткани [192, 197, 241].

Таким образом, мы полагаем, что тактика и динамика научных исследований патогенеза ПВР на современном этапе характеризуются неоднородно-

стью и отсутствием систематизированного, конструктивного подхода к изучению явлений, лежащих в основе формирования пролиферативной ткани в полости глазного яблока. Обилие конкретной информации привело к тому, что в ней стала теряться концептуальность проблемы.

Разрозненность представлений о месте и значении тех или иных факторов в целостной картине патогенеза ПВР, в известной мере, определяют многочисленность и, соответственно, неопределенность подходов, мнений, практических рекомендаций, нередко противоречащих друг другу. Множество сведений о деталях, несомненно важных, отнюдь не отменяет необходимость осмысления законов инициации, развития и фазовых смен основных патогенетических событий при формировании пролиферативной ткани в полости глазного яблока. Сложность состоит в том, что из всего многообразия факторов и взаимосвязей необходимо выделить главные, детерминирующие этот процесс.

Важный шаг в данном направлении – установление механизма, опосредующего и модулирующего межклеточные и клеточно-структурные взаимодействия в патологическом очаге. За этим открывается возможность исследования того, как и каким образом формируется ключевая интегративная система движущих сил процесса.

Все вышеизложенное создает предпосылки для формулирования ряда научно-исследовательских задач, направленных на изучение клеточных механизмов развития фиброваскулярной пролиферации в полости глазного яблока.

Цель исследования – изучить клеточные механизмы инициации и развития пролиферативной витреоретинопатии.

Задачи исследования:

1. Разработать экспериментальную модель пролиферативной витреоретинопатии путем интравитреального введения моноклеаров крови.
2. Изучить особенности возникновения и динамики развития пролиферативной витреоретинопатии при интравитреальном введении моноклеаров крови в условиях нормо- и гипергликемии; провести сравнительный

анализ морфогенеза экспериментальной пролиферативной витреоретинопатии в зависимости от уровня гликемии.

3. Разработать новый способ культивирования мононуклеаров периферической крови человека *in vitro*.
4. Исследовать влияние направленного движения жидкости на морфофункциональное состояние мононуклеаров периферической крови человека *in vitro*.
5. Изучить морфологический состав периретинальных мембран у больных пролиферативной витреоретинопатии различной этиологии.
6. Разработать концептуальную схему целостной картины патогенеза пролиферативной витреоретинопатии с позиций системного анализа.

Научная новизна

Впервые разработана экспериментальная модель пролиферативной витреоретинопатии, основанная на индукции патологического процесса интравитреальным введением мононуклеаров крови.

Впервые создана модель пролиферативной витреоретинопатии, индуцированная интравитреальным введением мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Обнаружено, что развитие пролиферативной витреоретинопатии на фоне экспериментального сахарного диабета характеризуется формированием значительно больших по объему фиброваскулярных мембран с усилением дегенеративных изменений структуры сетчатки. Установлено, что мононуклеарные клетки крови в условиях экспериментальной гипергликемии резко ускоряют патологические процессы в тканях глазного яблока.

Впервые разработано устройство, позволяющее *in vitro* моделировать клеточные механизмы развития пролиферативной витреоретинопатии в условиях движения питательной среды, сходного с движением жидкости в полости глазного яблока.

Впервые выявлено, что при культивировании *in vitro* мононуклеаров периферической крови человека в условиях направленного движения питательной среды, в клетках отмечается значительное повышение активности внутриклеточных ферментативных систем. В динамических условиях ускоряется процесс дифференцировки моноцитов крови в макрофагальные клетки, а циркулирующих предшественников фибробластов – в зрелые формы, продуцирующие коллаген. Эти процессы являются патогенетической основой развития и прогрессирования пролиферативной витреоретинопатии.

Установлено, что периретинальные пролиферативные мембраны у больных пролиферативной витреоретинопатией различной этиологии характеризуются сходным морфологическим строением. Это патоморфологическое сходство свидетельствует об общих закономерностях развития пролиферативной ткани в полости глазного яблока при различных заболеваниях.

Предложена оригинальная концепция патогенеза пролиферативной витреоретинопатии при различных заболеваниях в аспекте общих механизмов клеточно-структурных взаимодействий.

Практическая значимость

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для молодых российских ученых за 2003-2004 гг. (№ МК – 2697.2003.04), а также в соответствии с планом проблемной комиссии Межведомственного научного совета при Президиуме РАМН «Структурно-функциональные основы организации мозга в норме и патологии» № 44.01.

Разработанные экспериментальные модели ПВР позволили получить новые данные о патогенезе фиброваскулярной пролиферации. Понимание динамики межклеточных и клеточно-структурных взаимодействий при ПВР, особенно на начальных стадиях, способствует более полному и глубокому познанию сущности данного процесса. Экспериментальное моделирование открывает перспективы для разработки патогенетически обоснованных методов лече-

ния и профилактики ПВР. Получен патент РФ на изобретение № 2182369 от 10.05.2002 «Способ моделирования пролиферативной витреоретинопатии».

Результаты культивирования *in vitro* мононуклеаров периферической крови человека в условиях направленного движения питательной среды позволили существенно расширить представления о влиянии факторов микроокружения на морфофункциональное состояние изучаемых клеток и реализацию их фиброгенного потенциала. Полученные результаты дают возможность с новых позиций подойти к изучению клеточных механизмов развития фиброваскулярной пролиферации в полости глазного яблока. Получен патент РФ на изобретение № 2221039 от 10.01.2004 «Способ культивирования мононуклеаров крови *in vitro*».

Предложенная с позиций системного подхода концепция патогенеза ПВР создает основу для разработки практических рекомендаций с учетом клеточно-структурных взаимодействий в патологическом очаге.

Материалы работы используются в программе лекционного курса и практических занятий на кафедрах патологической физиологии; офтальмологии Сибирского государственного медицинского университета; в практике офтальмологической клиники Сибирского государственного медицинского университета.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Интравитреальное введение мононуклеарных клеток крови в эксперименте индуцирует развитие пролиферативной витреоретинопатии, приводящей к формированию фиброваскулярной ткани и к тракционной отслойке сетчатки с последующей субатрофией глазного яблока. В условиях экспериментального сахарного диабета мононуклеары крови обуславливают более выраженные (по скорости и амплитуде) деструктивно-пролиферативные изменения в полости глазного яблока.
2. Моделирование клеточных механизмов пролиферативной витреоретинопатии *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды,

сходного с движением внутриглазной жидкости, показывает (в сравнении со стационарной культурой клеток) повышение активности внутриклеточных ферментативных систем мононуклеаров периферической крови человека. При этом ускоряется процесс дифференцировки моноцитов в макрофагальные клетки, а циркулирующих фибробластоподобных клеток – в зрелые, коллагенсинтезирующие формы.

3. Периретинальные пролиферативные мембраны у больных пролиферативной витреоретинопатией различной этиологии характеризуются сходным морфологическим строением, что позволяет говорить об общих механизмах их формирования в полости глазного яблока.
4. Изучение механизмов пролиферативной витреоретинопатии с позиций системного подхода указывает на формирование в полости глазного яблока сложной системы, главным патогенетическим фактором которой являются мигрирующие из крови мононуклеарные элементы (моноциты, фибробластоподобные клетки), способствующие инициации и усилению развития фиброваскулярных пролиферативных мембран.

Апробация работы

Основные материалы диссертации доложены и обсуждены на Томской областной конференции офтальмологов (1999 г., 2000 г., 2003 г.); межрегиональной научной конференции Сибири и Дальнего Востока, посвященной 150-летию со дня рождения акад. И. П. Павлова (Томск, 1999 г.); региональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы офтальмоэндокринологии и сосудистой патологии глаз» (Красноярск, 1999 г.); научно-практической конференции «Актуальные вопросы диабетологии» (Томск, 1999 г.); Международной научной конференции The Association for Research in Vision and Ophthalmology (Florida, USA, 2000); I, III, IV, V Международном конгрессе молодых ученых «Науки о человеке» (Томск, 2000 г., 2002 г., 2003 г., 2004 г.); II Всероссийском симпозиуме «Хроническое воспаление» (Новосибирск, 2000 г.);

I и II Международной научно-практической конференции «Пролиферативный синдром в офтальмологии» (Москва, 2000 г., 2002 г.); Восточно-Сибирской региональной конференции «Патогенетически обоснованные технологии профилактики, лечения и реабилитации в офтальмохирургии» (Иркутск, 2000 г.); межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 20-летию Красноярского областного центра микрохирургии, «Вопросы офтальмологии» (Красноярск, 2001 г.); 2-й Всероссийской конференции «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» (Москва, 2002 г.); IV Съезде физиологов Сибири (Новосибирск, 2002 г.); юбилейной научно-практической конференции «Вопросы офтальмологии» (Омск, 2002 г.); Всероссийской конференции «Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные и клинические аспекты» (Новосибирск, 2002 г.); III научном семинаре «Биомеханика глаза» (Москва, 2002 г.); межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы офтальмологии», посвященной 60-летию Кемеровской области (Кемерово, 2003 г.); юбилейном научном симпозиуме «Актуальные проблемы офтальмологии», посвященном 30-летию образования ГУ НИИ глазных болезней РАМН (Москва, 2003 г.); юбилейной научно-практической конференции «Боевые повреждения органа зрения», посвященной 185-летию основания первой в России кафедры офтальмологии (С.-Петербург, 2003 г.); межрегиональной конференции офтальмологов, посвященной 40-летию детской глазной службы Красноярского края (Красноярск, 2003 г.); Всероссийской научно-практической конференции «Лечение посттравматической патологии заднего отрезка глаза у пострадавших в экстремальных ситуациях с применением приборов и медикаментов» (Москва, 2004 г.); Всероссийской научно-практической конференции «Современные возможности в диагностике и лечении витреоретинальной патологии» (Москва, 2004 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 52 работы, в том числе 9 в центральной печати, получено 2 патента РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 251 странице машинописного текста и состоит из введения, 6 глав собственных исследований, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка литературы. Работа иллюстрирована 18 таблицами, 56 рисунками. Библиографический список включает 479 источников, из них 225 на русском языке и 254 на иностранных языках.

ГЛАВА 1

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

1.1. Проллиферативные процессы в заднем полюсе глазного яблока

Среди актуальных проблем офтальмологии, имеющих принципиальное научно-практическое значение, особое место занимает изучение патогенеза фиброваскулярной пролиферации, осложняющей течение различных патологических процессов в заднем отрезке глаза.

Развитие пролиферативной ткани является одним из тяжелых осложнений проникающих ранений глазного яблока [45, 48, 154]. Будучи по сути защитной реакцией организма, этот процесс, однако, приводит к необратимым структурным и функциональным изменениям сетчатки и стекловидного тела. Развитие фиброваскулярных мембран при проникающих ранениях наблюдается в 56,2% случаев [80, 214, 222]. К факторам, способствующим витреоретинальной пролиферации, относятся: сопутствующее травме повреждение цилиарного тела; наличие внутриглазного инородного тела; травматический гемофтальм; развитие эндофтальмита.

В 10-15 % регматогенная отслойка сетчатки осложняется развитием ПВР [6, 7, 142, 281, 334], что является неблагоприятным прогностическим признаком в отношении результатов хирургического лечения и улучшения зрительных функций.

Факторами риска для ПВР являются [252, 476]: отслойка сетчатки более чем на 2 квадранта; общая площадь разрыва более 3 диаметров диска зрительного нерва; гигантские разрывы сетчатки; старая отслойка сетчатки; сопутствующая отслойка хориоидеи.

Развитию массивной витреоретинальной пролиферации содействуют

также чрезмерно травматичные оперативные вмешательства [34, 341, 421], проведение криопексии и лазеркоагуляции на больших областях сетчатки [230, 252, 254, 271].

Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия встречается у 37–42% больных сахарным диабетом [61, 73, 77, 151, 288, 289]. Как правило, данная стадия процесса развивается у больных сахарным диабетом I типа спустя 5–7 лет от начала заболевания, а у больных сахарным диабетом II типа – спустя 10–12 лет.

Неоваскуляризация и разрастание фиброзной ткани в сетчатке и стекловидном теле характерны также для тромбоза центральной вены сетчатки [78, 105, 172, 176, 448]. Через 6 месяцев после окклюзии явления пролиферации обнаруживаются в 47,2–52%.

Известно, что интравитреальные кровоизлияния способствуют развитию фиброза и неоваскуляризации в стекловидном теле [54, 177].

Формирование субретинальных фиброваскулярных мембран наблюдается при таких заболеваниях как центральная атеросклеротическая хориоретинопатия [153, 374], центральная серозная хориоретинопатия [78], инволюционная дистрофия сетчатки [78, 182, 248, 338, 403, 451], ангиоидные полосы сетчатки [78, 247].

Неоваскуляризация и рост фиброзной ткани отмечаются также при экссудативно-геморрагическом ретините Коатса [78, 175] и ретролентальной фиброплазии [5, 399, 401].

На первый взгляд разные варианты фиброваскулярной пролиферации, осложняющие течение того или иного заболевания, трудно свести к единому знаменателю. Однако изучение и обобщение имеющихся в научной литературе данных позволяют сделать вывод, что различия проявляются только на этапе инициации процесса, тогда как развитие, формирование и осложнения, вызванные ростом пролиферативной ткани в полости глазного яблока, происходят по общему плану.

Именно с этой позиции мы подошли к проблеме в целом, сконцентрировав внимание на тех моментах, которые, с нашей точки зрения, имеют принципиальное значение для понимания ключевых событий в зоне пролиферации.

1.2. Анатомо-физиологические особенности стекловидного тела в патогенезе пролиферативной витреоретинопатии

Изучение патогенеза витреоретинальной пролиферации, а также разработка новых патогенетически ориентированных вмешательств на современном этапе невозможны без углубленных знаний анатомии и физиологии стекловидного тела.

Топографически в стекловидном теле различают несколько отделов: передний, располагающийся кпереди от зубчатой линии; задний – кзади от зубчатой линии; а также кортикальный и центральный отделы [42, 165].

В 1977 г. J. Worst, вводя в изолированное стекловидное тело человека красители, впервые обнаружил в нем и описал мешкообразные полости, названные им «цистернами» [472].

Цистерны формируют центральный отдел стекловидного тела и располагаются по окружности относительно оптической оси глаза. В настоящее время выделено 3 группы цистерн:

1. ретроцилиарные – находятся в непосредственной близости к цилиарному телу;
2. экваториальные – располагаются в области экватора;
3. петалиформные – окружают 2 специализированные структуры: премакулярную сумку и препапиллярное пространство.

Экваториальные и петалиформные цистерны располагаются в толще кортикального отдела. Распределение цистерн характеризуется закономерной в функциональном отношении асимметрией: с височной стороны их значительно больше, чем с носовой [107, 109].

В области заднего полюса корковое вещество стекловидного тела истончается и практически отсутствует в проекции премакулярной сумки и препапиллярного пространства [471, 473].

Премакулярная сумка представляет собой замкнутую чашеобразную полость, находящуюся в непосредственной близости от желтого пятна сетчатки.

Препапиллярное пространство образуется вследствие локального расширения канала, стенки которого фиксированы в окружности диска зрительного нерва (ДЗН). Это пространство отделено от ДЗН внутренней пограничной мембраной, в которой имеются отверстия для прохождения сосудов. Предполагается, что через эти отверстия осуществляется отток интравитреальной жидкости в периваскулярные пространства зрительного нерва [107, 109].

Премакулярная сумка и препапиллярное пространство связаны с передними отделами стекловидного тела посредством каналов [106, 108]: центрального или лентико-макулярного, связывающего ретролентальное пространство с премакулярной сумкой; и оптико-цилиарного, соединяющего препапиллярное пространство с ретроцилиарными цистернами. Эти два канала являются самостоятельными, отдельными системами и сообщаются между собой посредством соединительного канальца на уровне премакулярной сумки и препапиллярного пространства. Наличие подобного анатомического сообщения указывает на функциональное взаимодействие данных структур и объясняет наблюдаемое в клинике сочетанное поражение центральных отделов сетчатки и ДЗН.

Каналы, по всей вероятности, выполняют обменно-транспортную функцию, регулируя направленное движение внутриглазной жидкости в стекловидном теле и поддерживая метаболический и гидродинамический баланс между передними и задними отделами глазного яблока [109, 165].

З. А. Махачевой с коллегами благодаря оригинальным способам исследования в стекловидном теле при разрывах сетчатки и хориоретинальных дистрофиях были обнаружены патологические канальцы [106, 109]. Они начинаются, преимущественно, в ретроцилиарных цистернах, проходят сквозь корковое ве-

щество и открываются на поверхности стекловидного тела, непосредственно контактируя с патологическими фокусами внутренних оболочек глаза.

Важным моментом в возникновении и формировании разрывов сетчатки с последующей ее отслойкой являются также инерционные смещения стекловидного тела, производящего тракции за края дефекта [34].

Полученные данные убедительно доказывают роль стекловидного тела в патогенезе хориоретинальных дистрофий, разрывов и отслоек сетчатки.

Установлено также, что в основе синерезиса стекловидного тела, т. е. фракционирования его на оформленную и жидкую части [70, 165], лежит неспецифический процесс гидродинамической декомпенсации стекловидного тела, проявляющийся «полноводием» каналов, растяжением и «оводнением» цистерн [106].

Появление в стекловидном теле полостей, наполненных жидкостью, является важным фактором патогенеза отслойки сетчатки [34].

Особый интерес представляют исследования, связанные с изучением роли физиологических особенностей стекловидного тела, в частности характера и направления движения внутриглазной жидкости, в механизмах развития витреоретинальной патологии [128, 166, 364]. Экспериментально установлено, что в стекловидном теле у кроликов циркуляция внутриглазной жидкости осуществляется: по центральной оси глазного яблока – от ДЗН к хрусталику, а по латеральным участкам – от цилиарного тела к ДЗН [127, 128]. Однако исследования, выполненные на глазах крупного рогатого скота, свидетельствуют о наличии одностороннего потока жидкости в витреальной полости [166, 170, 171]. При этом отток осуществляется через хрусталик в стекловидное тело и далее по градиенту трансмурального давления в интраокулярные сосуды.

Противоречивость полученных данных обусловлена, вероятно, анатомическими особенностями строения глазных яблок у данных видов экспериментальных животных.

Использование метода математического моделирования в биологических системах [66, 120, 213], а также клинические наблюдения [66, 76, 78] позволяют утверждать о наличии однонаправленного тока внутриглазной жидкости в полости глазного яблока человека.

Внутриглазная жидкость, продуцируемая цилиарным телом, проходит через хрусталик, стекловидное тело, внутренние слои сетчатки и всасывается ретинальными сосудами [66, 213]. Аналогичная ситуация складывается и в наружных слоях сетчатки: жидкость по градиенту давления выходит из хориокапилляров и всасывается капиллярами сетчатки, что обеспечивает оптимальный приток метаболитов.

Однако в условиях патологии, например, при резком повышении в крови концентрации глюкозы на фоне сахарного диабета за счет изменения осмотического давления движение жидкости затрудняется, а в ткани сетчатки создается отрицательное гидростатическое давление.

Таким образом, знание анатомо-топографических и функциональных особенностей стекловидного тела способствует более полному пониманию механизмов развития витреоретинальной патологии, а также может служить основой для разработки принципиально нового направления в офтальмологии – селективной хирургии интравитреальных структур.

1.3. Задняя гиалоидная мембрана как основа роста пролиферативной ткани

Интенсивное развитие витреоретинальной хирургии в течение последних двух десятилетий неразрывно связано с активными клинико-морфологическими исследованиями заднего отрезка при пролиферативных процессах различной этиологии.

Большинство материалов, опубликованных в последние годы, показывает, что патогенез витреоретинальной пролиферации во многом определяется анатомо-физиологическими особенностями строения сетчатки и стекловидного

тела [308, 310, 370, 426, 477]. Наиболее важным образованием в витреоретинальных взаимоотношениях является задняя гиалоидная мембрана (ЗГМ).

В нормальных условиях кора стекловидного тела контактирует с сетчаткой на уровне ее внутренней пограничной мембраны. При электронномикроскопическом исследовании показано проникновение части коллагеновых фибрилл задней коры в толщу внутренней пограничной мембраны [279, 309, 390, 441]. Более прочные витреоретинальные взаимоотношения отмечаются в области диска зрительного нерва, крупных ретинальных сосудов и желтого пятна [91, 219].

С возрастом (после 50 лет) возникает задняя отслойка стекловидного тела [219]. При этом на его ретинальной поверхности биомикроскопически дифференцируется относительно плотная мембрана, обозначаемая как задняя гиалоидная мембрана. Гистологически она представляет собой компактный слой коллагеновых фибрилл кортекса с остатками расслоившейся внутренней пограничной мембраны сетчатки [91].

Морфологически ЗГМ в настоящее время хорошо изучена [267, 272, 442]. Основными ее компонентами являются бесклеточная мембраноподобная структура и гиалоциты. Кроме того, наружная и внутренняя поверхности мембраны отличаются друг от друга: наружная (ретинальная) – более гладкая, бесклеточная; внутренняя (витреальная) – неровная, с остатками коллагеновых фибрилл.

При заднегиалоидной отслойке происходит изменение витреоретинальных взаимоотношений, в результате чего становится возможным клинически идентифицировать ЗГМ [91, 284]. Местами ее плотной фиксации к подлежащей ткани являются край диска зрительного нерва и сосудистые аркады. Именно эти зоны становятся точками врастания новообразованных сосудов, так как благодаря своему строению ЗГМ является первоначальным матриксом, по которому растет пролиферативная ткань [91, 150]. Причем фиброваскулярная пролиферация идет преимущественно вдоль наружной (ретинальной) поверхности ЗГМ.

Установлено, что ЗГМ может состоять из нескольких компонентов, характер которых позволяет судить о стадии пролиферативного процесса [1, 15, 148, 150, 267, 271].

В настоящее время выделяют следующие разновидности строения ЗГМ, которые, по всей видимости, являются стадиями ее развития [91, 150]:

1. глиальная – характеризуется преобладанием бесклеточной или слабоклеточной глиальной ткани. При этом вращение глиальной ткани может иметь расслаивающий характер и обуславливать развитие гиалошизиса. Слои отделившейся ЗГМ располагаются ярусами. Рост пролиферативной ткани может происходить одновременно по нескольким ярусам с появлением ее на внутренней (витреальной) поверхности ЗГМ.
2. глиально-сосудистая – сопровождается вращением в глиальную ткань тонкостенных сосудов. Клинически ЗГМ на этой стадии выглядит прозрачной, с петлями новообразованных сосудов. Роста новых сосудов вне связи с ЗГМ не отмечается.
3. глиально-сосудисто-фиброзная – характеризуется вращением в глиальную ткань рыхлой фиброваскулярной мембраны. Плотность фиброваскулярного компонента увеличивается по направлению от периферии к центру. Причем на периферии преобладают новообразованные сосуды, а ближе к центру – фиброзная ткань.
4. фиброваскулярная – характеризуется преобладанием фиброваскулярной ткани. При офтальмоскопии ЗГМ выглядит непрозрачной, белого цвета, с новообразованными сосудами.
5. фиброзная – плотная соединительная ткань, в толще которой выявляются контуры редуцированных сосудов. По сути, данная картина представляет собой исход фиброваскулярной пролиферации, после чего уже не наблюдается роста новообразованных сосудов за пределы фиброзной ткани. Клинически ЗГМ выглядит как плотная, белая, непрозрачная ткань. Наличие фиброзных мембран, обладающих контрактивными

личие фиброзных мембран, обладающих контрактивными свойствами, обуславливает появление тракционных деформаций

Роль заднегидалоидной отслойки в патогенезе витреоретинальной пролиферации неоднозначна. Установлено, что частичная отслойка ЗГМ ведет к прогрессированию пролиферативного процесса и способствует возникновению кровоизлияний в стекловидное тело [37, 54]. Нередко при частичной заднегидалоидной отслойке развивается отек сетчатки в макулярной области [82, 224, 225, 305, 358, 388, 439]. В то же время полная отслойка ЗГМ предотвращает развитие витреоретинальной пролиферации и стабилизирует течение патологического процесса [150]. Клинические наблюдения также показывают, что после полного удаления задней мембраны стекловидного тела в ходе витрэктомии новообразованные сосуды редуцируются, а рост фиброваскулярной ткани полностью прекращается [39, 92, 110, 183, 273].

Важным свойством измененной ЗГМ является ее контрактивная способность, которая, наряду с сокращающейся фиброваскулярной тканью, оказывает тракционное действие на сетчатку, обуславливая ее отслойку [148, 150]. Форма тракционной отслойки сетчатки определяется конфигурацией отслойки ЗГМ, а ее распространенность зависит от площади фиброваскулярной ткани и площади сращения ее с внутренней поверхностью сетчатки.

Однако, по сообщениям ряда авторов [91, 150], достаточно часто – до 42,5% имеет место не отслойка сетчатки, а тракционный ретиношизис, что является неблагоприятным фактором в прогностическом плане, т. к. даже в случае анатомического прилегания участок расслоения сетчатки остается функционально неактивным.

Понимание роли и значения ЗГМ в витреоретинальных взаимоотношениях и патогенезе фиброваскулярной пролиферации способствует разработке принципиально новых подходов к отделению данной структуры от сетчатки с последующим ее удалением.

В настоящее время достаточно широко используется техника тотальной, частичной и задней витрэктомии с удалением ЗГМ, контактирующей с различными отделами сетчатки [39, 82, 150, 174, 273, 305, 358, 439]. Успех хирургических вмешательств во многом определяется качеством манипуляций с мембраной, поскольку механическая гиалоидотомия с помощью эндовитреальных инструментов чревата развитием серьезных ятрогенных осложнений [92, 121, 150, 174]. При неполном же удалении ЗГМ уже через несколько недель после операции возможно повторное развитие фиброваскулярной ткани [148, 151].

В связи с этим в настоящее время проводятся исследования, целью которых является разработка альтернативных методов отделения ЗГМ. В условиях эксперимента изучается возможность биохимической индукции заднегиалоидной отслойки при введении в стекловидное тело различных ферментов (плазминогена, проурокиназы, DISPASE – нейтральной протеазы культуры *Bacillus polymyxa*) [173, 313, 327, 410, 445], водорастворимых полимеров (полиэтиленамина, поли-N-винилпирролидона) [69, 190, 216, 217].

Активно разрабатываются и методы лазерного воздействия на ЗГМ [83, 19].

1.4. Нарушения локального гомеостаза при пролиферативной витреоретинопатии

В патогенезе ПВР немаловажную роль играют нарушения метаболизма во внутренних оболочках глаза.

Развитию пролиферативного процесса в стекловидном теле сопутствует выраженный метаболический ацидоз, который является следствием недостаточности буферных систем [125, 155]. Процессы нарушения кислородного гомеостаза, ведущие к тканевой гипоксии, сопряжены с накоплением недоокисленных продуктов обмена в заднем полюсе глазного яблока и значительным повышением интенсивности свободнорадикальных реакций. Продукты метаболизма внутренних оболочек глаза, контактируя с кортикальными слоями стек-

ловидного тела, вызывают их сжатие, и формирующаяся в процессе задней отслойки стекловидного тела ретровитреальная полость становится резервуаром для метаболитов, оказывающих воздействие на структуру витреального геля и по типу обратной связи влияющих на биохимические процессы в оболочках глаза [339, 397, 424].

Однако, в случаях отслойки сетчатки, осложненной ПВР, имеется отчетливый дисбаланс кислотно-основного состояния, проявляющийся, помимо ацидоза стекловидного тела, защелачиванием субретинальной жидкости [53]. Ее метаболический алкалоз, по всей видимости, является следствием повреждения клеток ретинального пигментного эпителия и наружных слоев нейроэпителия, что обуславливает выход меланина и зрительных пигментов, обладающих мощной антиоксидантной активностью [75, 164].

Значительное смещение кислотно-основного состояния само может стимулировать клеточную дегенерацию [155].

Существенным фактором патогенеза является и коллоидная перестройка стекловидного тела, вызванная нарушением обмена белков и гликозаминогликанов, а именно снижением содержания гиалуроновой кислоты [278, 392]. Считается, что отслойке стекловидного тела предшествует витреальный синерезис [15, 70].

При сахарном диабете биохимические изменения во внутренних оболочках глаза более выражены [23, 61, 289], поскольку биологическое окисление в сетчатке при этом заболевании в той или иной мере подавлено, а анаэробные процессы усилены [4, 130]. Как следствие, отмечается снижение эффективности энергетического метаболизма, накопление недоокисленных продуктов в сетчатке и стекловидном теле с развитием стойкого ацидоза. В результате обменных нарушений общего и местного характера формируется порочный круг, способствующий переходу диабетической ретинопатии в пролиферативную стадию [61, 130, 103].

Неблагоприятным фактором, стимулирующим прогрессирование пролиферативного процесса, являются интравитреальные кровоизлияния, нередко осложняющие локальную отслойку стекловидного тела [37, 54].

По данным ряда авторов [11, 40, 54, 122], при гемофтальме наблюдается активация свободнорадикальных процессов, интенсификация перекисного окисления липидов, что способствует дополнительному повреждению клеточных структур как витреального геля, так и окружающих оболочек глаза. В частности, накопление липо- и гидроперекисей нарушает витреоретинальный контакт между фибриллами стекловидного тела и Мюллеровыми клетками сетчатки [37]. Избыточное количество свободных радикалов в определенной степени нейтрализуется антиоксидантной системой самого стекловидного тела [4, 37, 54]. Однако отсутствие прямого контакта сетчатки со стекловидным телом, а, следовательно, и с его антиоксидантной системой, ведет к резкому ухудшению защиты сетчатки от повреждающего действия метаболитов.

В настоящее время следует считать доказанным тот факт, что интравитреальные кровоизлияния способствуют развитию неоваскуляризации [60, 143, 299]. Помимо активации перекисного окисления липидов, это обусловлено, вероятно, вторичными изменениями локального гемостаза и фибринолиза, а также реакцией иммунной системы организма – изменениями, установленными на примере травматического гемофтальма [143].

Исследования показали, что на 3-и сутки после гемофтальма тромбопластические свойства стекловидного тела возрастают в 5 раз, а на 14-е сутки – в 50 раз по сравнению с нормой [177]. Стекловидное тело практически не обладает фибринолитической активностью, поэтому усиление его тромбопластических свойств в данном случае направлено на остановку кровотечения и образование сгустка крови.

Отсутствие фибринолитической активности приводит к тому, что кровь при гемофтальме рассасывается крайне медленно [54, 177]. В связи с этим ряд

исследователей [48, 54, 57, 90] считает патогенетически обоснованным применение ферментов в лечении витреальных кровоизлияний.

Используются различные препараты, обладающие фибринолитической активностью: урокиназа, стрептокиназа, фибринолизин [47, 48, 181]. Однако нативные ферменты имеют целый ряд существенных недостатков [47, 48, 54]: они нестабильны, инактивируются ингибиторами, быстро выводятся из организма. Поэтому более перспективным может стать применение современных тромболитических препаратов – активаторов плазминогена [55, 56, 140]. К ним относятся: рекомбинантный активатор плазминогена тканевого типа, рекомбинантная проурокиназа (гемаза) и т. д.

Однако установлено, что у пациентов даже с хорошо рассасывающимися кровоизлияниями в стекловидное тело в дальнейшем высок процент развития отслоек и разрывов сетчатки [417].

По данным биохимических исследований, при гемофтальме, помимо усиления активности свободнорадикальных реакций и нарушений локального гемостаза и фибринолиза, в стекловидном теле выявляются нарушения белкового, углеводного, липидного обменов, увеличение в нем концентрации гистамина и уменьшение содержания серотонина [51, 122, 123, 203, 204].

Стекловидное тело при кровоизлияниях выступает в качестве депо токсичных продуктов, оказывающих цитотоксическое действие на структурные элементы сетчатки и стекловидного тела. Поэтому при гемофтальмах наиболее патогенетически обоснованным является своевременное проведение витрэктомии [40].

1.5. Роль клеток в патогенезе пролиферативной витреоретинопатии

Изучению роли клеток в формировании интравитреальной периретиальной ткани в эксперименте и клинике посвящены многие работы отечественных и зарубежных исследователей [1, 17, 192, 285, 302, 316, 328, 372, 407].

Гистологические исследования показывают, что основными клетками, участвующими в формировании пролиферативных мембран, являются клетки пигментного эпителия сетчатки, глиальные клетки, фибробласты, макрофаги, лимфоциты [323, 331, 391, 416, 434]. Иммуногистохимические исследования с использованием техники моноклональных антител позволяют верифицировать цитологическую принадлежность каждой клеточной популяции в периретинальных мембранах [241, 258, 365, 372, 394].

Большую роль в изучении биологических особенностей клеточных элементов, формирующих мембраны, играет метод культуры клеток *in vitro*, позволяющий исследовать клетки в их реальном действии и взаимодействии, оценивать процессы клеточной миграции и пролиферации [253, 294, 300, 324, 337, 419].

Клетки ретинального пигментного эпителия (РПЭ). Клетки РПЭ, представляющие собой плоские шестиугольные клетки, располагающиеся в виде однородного слоя между наружными сегментами фоторецепторов сетчатки и хориокапиллярами сосудистой оболочки, являются сложным полифункциональным образованием. Высокий уровень внутриклеточного метаболизма, способность к синтезу ДНК и наличие митотического цикла свидетельствуют не только о значительной жизнеспособности и функциональной активности этих клеток, но и о выраженной устойчивости к различным повреждающим воздействиям, и о больших потенциальных возможностях при регенераторных процессах [52, 328, 386].

Клетки РПЭ играют наиболее важную роль в развитии ПВР вследствие их способности к миграции и пролиферации [52, 255, 459]. Во время отслойки сетчатки в силу активной миграции эти клетки проникают в стекловидное тело и на внутреннюю поверхность сетчатки, где после адгезии начинают пролиферировать [192, 337]. Гистологические исследования демонстрируют, что РПЭ является главным клеточным элементом при ранней (до 1 недели) и длительно существующей отслойке сетчатки.

Установлено, что растущие клетки РПЭ экспрессируют фактор, который стимулирует как их собственный рост, так и рост окружающих астроцитов [251]. Помимо этого, клетки РПЭ секретируют хемоаттрактанты и митогенные факторы, способствующие миграции и пролиферации глиальных клеток, макрофагов, фибробластов [251, 253].

Пролиферирующие клетки РПЭ, в отличие от нормальных (непролиферирующих), продуцируют также дополнительные цитоскелетные белки – виментин и кератин [251, 255, 453].

Отмечено, что пролиферативная активность клеток РПЭ увеличивается со степенью и продолжительностью отслойки сетчатки [301]. Наблюдается «фибробластическая метаплазия» клеток РПЭ с образованием волокнистой коллагеновой ткани [32]. Более детально эта способность была изучена в условиях культуры клеток *in vitro* [324, 336, 466]. Установлено, что изменение фенотипа клеток РПЭ происходит при их кооперации с макрофагами, продуцирующими «морфопластическую субстанцию» для клеток РПЭ [336].

Кроме того, при совмещении человеческого интактного стекловидного тела и монослоя РПЭ через 4-6 дней было отмечено, что в стекловидном теле над монослоем появляются клетки РПЭ, по строению напоминающие фиброциты. Обнаруживались быстропролиферирующие клетки с отростками, направленными в стекловидное тело. Контрактильные свойства мигрирующих клеток РПЭ были обнаружены в 24% образцов [389, 478].

РПЭ участвует также в процессе фагоцитоза, разделяя некоторые функции с макрофагами [277, 449]. Сигналом к фагоцитозу, по всей видимости, служит либо контакт с фрагментами наружных сегментов фоторецепторов, либо изменения метаболической активности в апикальной части самих фоторецепторов [52, 449]. В результате поглощения отломанных фрагментов наружных сегментов фоторецепторов образуются фагосомы, которые захватываются клетками РПЭ.

До настоящего времени дискутируется вопрос о роли РПЭ в процессах неоваскуляризации. Ряд авторов утверждает, что клетки РПЭ вызывают регресс новых кровеносных сосудов, подавляют пролиферацию ретинальных эндотелиальных клеток *in vitro* [294] и инволюцию субретинальных неоваскулярных мембран *in vivo* [346, 377]. Однако некоторые исследователи в своих опытах не выявили подавления микрососудистой клеточной пролиферации клетками РПЭ в культуре тканей [470]. Инволюция же субретинальной неоваскуляризации, как свидетельствуют последние гистологические исследования, связана с пролиферацией клеток РПЭ, которые плотно окружают новообразованные сосуды и препятствуют накоплению флюоресцеина в субретинальном пространстве, который таким образом не может быть замечен в ходе ангиографии [479].

Глиальные клетки. Глиальная популяция сетчатки представлена преимущественно клетками Мюллера, которые радиально проходят через все слои от фоторецепторов до внутренней пограничной мембраны сетчатки [206]. Эти клетки, выполняя опорную, буферную и трофическую функции, играют важную роль в поддержании стабильности всех нейрональных функций в центральной нервной системе. Метаболически клетки Мюллера объединены с нейронами в единую функционально-биохимическую систему, что определяет их участие в модулировании специфической функциональной активности нейронов [100, 206].

Наряду с клетками Мюллера в слое нервных волокон сетчатки имеются и астроциты.

Глиальные клетки принимают участие практически во всех пролиферативных процессах, затрагивающих витреоретинальную область. В эксперименте выявлено взаимодействие глиальных клеток и дермальных фибробластов кролика [326]. Клетки обоих типов прикрепляются к коллагеновым волокнам и тянут их в центростремительном направлении, как показала фазово-контрастная и сканирующая микроскопия. С помощью собственных отростков

и глиальные клетки, и фибробласты контактируют также с соседними клетками, увеличивая тем самым тракцию [326].

Ретинальную нейроглию, наряду с клетками РПЭ, относят к основным типам клеток, участвующих в образовании пролиферативных мембран [378, 457]. Предполагается, что глиальные клетки проникают на поверхность сетчатки через зоны деструкции внутренней пограничной мембраны [194]. Мюллеровы клетки, астроциты и периваскулярная глия активно пролиферируют и участвуют в образовании периретинальных мембран. Преимущественно они служат лишь остовом для прикрепления и пролиферации других типов клеток [378]. Факторы, продуцируемые глиальными клетками, усиливают пролиферацию клеток РПЭ и фибробластов [378, 394, 457].

Следует отметить, что возникновение истинных глиальных мембран возможно в непосредственной близости от ретинальных разрывов [354]. Однако изолированные глиальноиндуцированные мембраны встречаются редко. Впоследствии они служат субстратом для образования полиморфных мембран, которые наблюдаются при тракционных отслойках сетчатки [378].

Иммуногистохимические исследования подтвердили, что истинные глиальные мембраны не обладают тракционными свойствами и что для формирования сокращающихся мембран необходимы другие клеточные элементы [394, 452, 453].

Астроцитам отводится также немаловажная роль в процессе неоваскуляризации у пациентов с диабетической пролиферативной ретинопатией [103, 149, 151].

Установлено, что после отслойки сетчатки уже на 3-4 сутки наблюдаются пролиферация и гипертрофия клеток Мюллера [282]. В случае прилегания сетчатки после хирургического лечения клетки Мюллера ингибируют регенерацию наружных сегментов фоторецепторов, и в наружном плексиформном слое развивается глиоз.

Следовательно, при повреждении витреоретинальной области именно глиальные клетки во многом препятствуют восстановлению ретинальных связей и нормальной структурно-функциональной организации сетчатки.

Фибробласты. Изучению фибробластических элементов пролиферативных мембран посвящено большое количество исследований [256, 257, 312, 314, 355]. Поскольку именно фибробласты, влияя на другие клетки и сами испытывая влияния, играют ведущую роль в определении степени пролиферативной активности.

В структурно-функциональном отношении фибробласты представляют собой гетерогенную клеточную популяцию, что обусловлено различной степенью зрелости образующих ее клеток [158, 212].

Вопрос о происхождении фибробластов в заднем полюсе глазного яблока до настоящего времени остается не вполне понятным, т. к. ни в сетчатке, ни в стекловидном теле в нормальных условиях подобные клетки не обнаруживаются [15, 165, 206]. Некоторые авторы считают, что фибробласты представляют собой трансформированные клетки пигментного эпителия сетчатки; другие же высказывают предположение об их происхождении из сосудистых эпителиальных клеток, гиалоцитов, глии или периваскулярной адвентиции [452, 463].

М. Weller с соавторами [463] изучали образцы периретинальных мембран, взятых у больных в ходе витрэктомии по поводу тотальной отслойки сетчатки, осложненной ПВР. Установлено, что пролиферирующие фибробластоподобные клетки реструктурируют поврежденный витреоретинальный участок, формируя пролиферативные тяжи с контрактильными свойствами.

Описаны модели ПВР у животных, которым в стекловидное тело вводилось определенное количество фибробластов (гомо-, аутологических, дермальных), причем не было выявлено существенной разницы в течение заболеваний при введении различных видов фибробластов [256, 257, 312, 314]. Пролиферация начинается на поверхности сетчатки, являясь впоследствии причиной ее отслойки, которая наблюдается почти в 100% через 4-6 недель после инъекции

фибробластов. Однако отмечено, что при введении в стекловидное тело культуры гомологичных фибробластов пролиферативные процессы сопровождаются неоваскуляризацией с предварительным повышением активности сосудистого эндотелия [314]. Гомологичные фибробласты способствуют также возникновению более обширной отслойки сетчатки и выраженному ретинальному глиозу. В сроки от 10 нед. до 6 мес. образованные мембраны становятся менее клеточными, но более фиброзными [299, 355].

В экспериментальной модели ПВР со спонтанной регматогенной отслойкой сетчатки у собак породы Labrador наблюдали наличие волокнисто-клеточных мембран в стекловидном теле с тотальной отслойкой сетчатки [246]. Ультраструктурный анализ данных мембран показал присутствие в них преимущественно фибробластов, миофибробластов, клеток РПЭ и глиальных элементов. По-видимому, именно миофибробласты играют ключевую роль в феномене контракции пролиферативных мембран [257, 329, 365].

Как показывают гистологические исследования [365], миофибробласты, находясь в полости стекловидного тела, окружены коллагеном и линейно ориентированы вдоль пролиферативных тяжей, идущих к поверхности сетчатки.

Описана модель ПВР у кроликов, которым после предварительной панлазеркоагуляции сетчатки одного из глаз спустя 3 суток или 4 недели от момента воздействия в стекловидное тело обоих глаз (опытного – после лазеркоагуляции и парного – здорового) вводили культуру фибробластов [230]. Тотальная отслойка сетчатки была обнаружена в 13 опытных и лишь в 5 здоровых глазах. Очевидно, панлазеркоагуляция стимулирует пролиферацию клеток РПЭ и глиальных клеток, способствует выходу моноцитов/макрофагов из сосудистого русла, что является началом развития воспалительного процесса с последующей интравитреальной и периретинальной пролиферацией.

Макрофаги. Существенную роль в развитии периретинальных пролиферативных мембран играют также клетки, ответственные за воспалительные реакции, преимущественно макрофаги [311, 406]. Считают, что будучи полно-

стью дифференцированными клетками, они не синтезируют экстрацеллюлярный матрикс, но продуцируют вещества – монокины, которые изменяют поведение и функции других клеток, особенно участвующих в воспалительном и иммунном ответах [385, 406].

Секреторный потенциал в сочетании с синтетическими ресурсами значительно расширяет эффекторные возможности макрофагов в регуляции местной тканевой среды при воспалении (остром и хроническом), при восстановлении поврежденных тканей, при инфекциях и в процессе развития разных этапов иммунитета.

В эксперименте *in vitro* доказано, что посредством интерлейкина-1 макрофаги усиливают миграцию клеток РПЭ, не влияя при этом на их пролиферацию [336]. Однако введение макрофагов в стекловидное тело кроликов стимулировало не только миграцию, но и пролиферацию указанных клеток в области имеющегося ретинального разрыва.

Кроме того, макрофаги продуцируют так называемую «морфопластическую субстанцию» для клеток РПЭ, оказывая модулирующее действие на их фенотип [194].

Описаны экспериментальные модели ПВР у животных, которым выполнялись интравитреальные инъекции активированных макрофагов [318, 342]. Уже ко 2-й неделе после инъекции наблюдалась активная фиброваскулярная пролиферация, преимущественно на ДЗН и вдоль сосудистых аркад, формировалась перипапиллярная ретинальная складчатость с последующей тракционной отслойкой сетчатки. Клеточная пролиферация сопровождалась воспалительной инфильтрацией.

Установлено также, что макрофаги принимают участие в процессе отслойки задней гиалоидной мембраны стекловидного тела [319], которая нередко осложняется тракционной отслойкой сетчатки.

Заживление повреждений сетчатки характеризуется воспалительной реакцией, которая независимо от этиологического фактора запускается макрофа-

гами, создающими высокий и длительно поддерживаемый градиент хемоаттрактантов [264, 464, 465]. Иммуногистохимические исследования показали в пролиферативных мембранах наличие макрофагов и лимфоцитов [258, 311, 376] и подтвердили, что тяжесть пролиферативных процессов во многом определяется выраженностью предшествующего воспаления [406, 464, 465].

Помимо этого, при воспалительной реакции моноциты/макрофаги являются важнейшим фактором инициации процессов неоваскулогенеза [46, 95, 343, 422]. В экспериментах *in vitro* доказано [46], что моноциты продуцируют факторы, вызывающие хемотаксис эндотелиоцитов, их пролиферацию и вращание эндотелиальных тяжей в интерстиций.

Тромбоциты. Сравнительно недавно тромбоциты стали привлекать внимание исследователей в качестве одного из патогенетических факторов, индуцирующих начальные стадии развития ПВР.

Было показано, что тромбоциты продуцируют ряд факторов, в частности тромбоцитарный фактор роста фибробластов (PDGF), трансформирующий фактор роста (TGF) и др., которые стимулируют рост, миграцию и пролиферацию различных клеточных элементов [241, 242, 350]. Установлена связь между повышением уровня PDGF и частотой кровоизлияний в стекловидное тело [240, 243].

Описаны модели ПВР у животных, которым в стекловидное тело вводились гетерологичные [243] или аутологичные [85, 191, 192] активированные тромбоциты. На наш взгляд, экспериментальная модель с аутологичными тромбоцитами по своим патогенетическим особенностям более приближена к картине гемофтальма различного генеза в естественных условиях.

Характерной чертой активированных тромбоцитов является способность к агрегации и адгезии. В ходе эксперимента было показано [191, 192], что адгезированные на внутренней пограничной мембране сетчатки тромбоциты оказывают на нее повреждающее действие в результате комплекса токсических реакций. В участках деструкции мембраны отмечалось разрастание глиальных и

других клеточных элементов с распространением по поверхности сетчатки, развитие ретинальной складчатости и тракционной отслойки сетчатки в дальнейшем.

На основании полученных результатов авторами высказано предположение [191], что на ранних стадиях развития ПВР ключевую роль играют адгезивные процессы между агрегированными тромбоцитами и внутренней пограничной мембраной сетчатки, повреждение которой в результате этих воздействий можно рассматривать как пусковой механизм пролиферативных процессов.

Таким образом, изучение и обобщение имеющихся в научной литературе данных о роли и значении клеток в патогенезе ПВР позволяют сделать вывод, что наиболее существенную роль в пролиферативных процессах играют клетки РПЭ, глиальные клетки и фибробласты при регулирующем воздействии макрофагов. Возникающая при этом сложная система межклеточных взаимоотношений и взаимодействий активизирует целый комплекс патогенетических факторов, инициирующих все дальнейшие процессы пролиферации.

Однако, считаем необходимым особо подчеркнуть мнение Р. А. Сатрошиаго [252] о том, что результаты исследований, основанные исключительно на морфологических критериях или на единственном иммуногистохимическом маркере, должны рассматриваться с осторожностью, так как клетки, удаленные из нормальной микросреды, могут существенно изменять собственную морфологию и экспрессию белков.

1.6. Биологически активные вещества и пролиферативная витреоретинопатия

1.6.1. Ангиогенные факторы

Биологически активные вещества играют важную роль в патогенезе фиброваскулярной пролиферации в заднем отрезке глаза [286, 298, 307, 340, 375, 396, 425, 460].

Концепция о существовании фактора биохимической природы, освобождаемого тканью сетчатки и ответственного за контролируемый рост и развитие сосудистой системы сетчатки, впервые высказана I. Michaelson в 1948 г. Позже эта идея нашла свое развитие в работах Wise по поиску фактора X – сетчатки [469].

Начиная с 60-70 годов XX столетия, отмечается бурный рост числа исследований, посвященных поиску и изучению биологически активных веществ, установлению их роли в молекулярных механизмах регуляции пролиферативных процессов [283, 423]. Подобные исследования не утратили своей актуальности и в настоящее время, и проводятся по нескольким направлениям.

Прежде всего открываются все новые и новые факторы роста, изучаются их свойства и структура. Вместе с тем, исследуется строение специфических рецепторов для различных факторов на мембранах клеток, изучается кинетика взаимодействия лигандов с рецепторами, регуляция уровня рецепторов на поверхности клеток, эндоцитоз и внутриклеточные превращения лиганд-рецепторных комплексов.

К настоящему времени выделено и изучено большое количество так называемых вазопрولیферативных или ангиогенных факторов.

Наиболее известным из них является тромбоцитарный фактор роста **PDGF** (platelet-derived growth factor) – протеин, продуцируемый клетками РПЭ сетчатки [250, 251, 253, 255]. Однако выделять его могут не только клетки этого вида, но и макрофаги, артериальные гладкомышечные клетки, сосудистые эндотелиальные клетки и клетки некоторых опухолей. PDGF локализован также в α -гранулах тромбоцитов и освобождается из них после агрегации под влиянием коллагена, тромбина или арахидоновой кислоты [325]. Благодаря такому механизму существует возможность направленной доставки PDGF в определенные ткани и органы, и создания там локально-высоких концентрации этого ростового фактора.

Установлено, что в плазме крови PDGF находится в связанном состоянии [317]. Возможно, данный фактор может существовать в виде нескольких структурно различающихся изоформ [454].

PDGF стимулирует синтез ДНК и пролиферацию клеток, выделенных из соединительной ткани, а также является митогеном для клеток гладких мышц и глиальных клеток [233].

Установлено, что этот белок не связывается с гепарином, стимулирует рост, миграцию и хемотаксис эндотелиальных клеток [350, 412], а также пролиферацию клеток РПЭ и астроцитов *in vitro* [357]. Однако некоторые авторы считают, что PDGF не оказывает непосредственного влияния на пролиферацию, а лишь обеспечивает компетентность клеток к действию других ростовых факторов [431].

Сведения о специфических рецепторах для PDGF на плазматических мембранах немногочисленны. Такие рецепторы обнаружены на фибробластах, глиальных клетках и гладкомышечных клетках стенок кровеносных сосудов [262].

В ближайшие годы PDGF, вероятно, будет уделено еще большее внимание. Это обусловлено не только его важной ролью в стимуляции пролиферации отдельных типов клеток путем обеспечения их компетентности к митогенам, но и значением, которое придается этому фактору в патогенезе ПВР.

Так, выявлена прямая корреляция повышения уровня PDGF в глазах, где отслойка сетчатки сопровождалась развитием ПВР [196, 243, 293, 405]. Отмечена также тесная связь повышения уровня PDGF и кровоизлияний в стекловидное тело. Понижение активности тромбоцитов с помощью пептида клеточной адгезии (Arg – Gly – Asp – Ser) вызывало ингибицию развития ПВР в эксперименте [191, 236].

Важным биологически активным субстратом является фактор роста фибробластов FGF (fibroblast growth factor), впервые выделенный D. Gospodarowicz из экстракта гипофиза крупного рогатого скота [296].

К настоящему времени установлено, что FGF существует как в кислой (a-FGF), так и в щелочной (b-FGF) формах [393]. Данный ростовой фактор обладает мощным митогенным и хемотаксическим действием на эндотелиоциты сосудов и ряд других клеток [95, 297]. Указанные эффекты потенцируются гепарином и гепаран-сульфатом.

Установлено, что в нормальной сетчатке FGF располагается внутриклеточно, преимущественно во внутреннем ядерном слое и слое ганглиозных клеток [239, 261, 304, 393, 395]. При действии различных повреждающих факторов (метаболические нарушения, травма, лазерное воздействие) увеличивается клеточная проницаемость, и FGF освобождается, вызывая пролиферацию клеток РПЭ, хориоидальных сосудистых эндотелиоцитов и фибробластоподобных клеток [290, 303, 335, 432, 447].

В целом же роль FGF в регуляции пролиферации различных типов клеток до настоящего времени остается недостаточно изученной. Так, например, отсутствуют данные о наличии специфических для данного фактора рецепторов на различных типах клеток, а также информация о кооперативности и других факторов роста в регуляции пролиферативных процессов.

Вероятнее всего, FGF является ростовым фактором, необходимым для облегчения роста сосудов в развивающихся тканях в эмбриональном и постнатальном периодах жизни [304], а также модулятором морфологической и функциональной дифференцировки ряда клеток [418, 419].

Выделен трансформирующий фактор роста **TGF- α** (transforming growth factor- α), который имеет значительную гомологию с эпидермальным фактором роста и конкурирует за связывание с его специфическими рецепторами [409]. TGF- α обладает митогенным действием на многие эктодермальные клетки [95].

Установлено, что сам по себе данный ростовой фактор не влияет на увеличение сосудистой проницаемости, а действует, вероятно, через стимуляцию выработки сосудистого эндотелиального фактора роста [95, 423].

Определен также трансформирующий фактор роста **TGF- β** , который представляет собой семейство ростовых факторов [95, 96, 329]. Существует, по крайней мере, два типа гомологичных полипептидов: β -1 и β -2.

Этот фактор продуцируется многими типами клеток [474]. Он обнаружен в гладких мышечных клетках и перицитах сосудов [232, 398]. TGF- β ингибирует рост и подвижность нескольких типов эндотелиоцитов *in vitro*, однако *in vivo* стимулирует фиброваскулярную пролиферацию [95, 232]. Подобный факт объясняется мощным хемотаксическим воздействием этой субстанции на моноциты и макрофаги, что способствует продуцированию этими клетками интерлейкинов [95, 404, 475].

В настоящее время установлено, что у пациентов с отслойкой сетчатки, осложненной ПВР, отмечается достоверно высокий уровень TGF- β -1 в субретинальной жидкости [474]. Блокирование же данного фактора специфическими антителами в эксперименте препятствует прогрессированию ПВР [398, 475].

Сравнительно недавно был открыт сосудистый эндотелиальный фактор роста **VEGF** (vascular endothelial growth factor). Этот ростовой фактор обладает ангиогенными свойствами как *in vitro*, так и *in vivo* [280, 300, 322, 352, 379, 380, 450] и в отличие от других факторов более специфичен для эндотелиальных клеток. Его локализация связана также преимущественно с сосудистым эндотелием сетчатки и хориоидеи [260, 366].

Механизм действия VEGF до конца не ясен. Считается [280, 379], что он, с одной стороны, стимулирует эндотелиальные клетки близлежащих сосудов к миграции и пролиферации, а с другой – способствует увеличению проницаемости некоторых эндотелиоцитов. В результате этого свертывающие белки плазмы выходят в экстрацеллюлярное пространство, где образуется фибрин, служащий первоначальным матриксом, необходимым для врастания новых кровеносных сосудов. Кроме того, VEGF стимулирует проколлагеназную активность эндотелия и усиливает хемотаксис через сосудистую стенку клеток мезенхимальной природы, которые способствуют созреванию стромы, например, при

репаративных процессах [228, 231, 287]. Итогом является формирование фиброваскулярных пролиферативных мембран.

Однако достаточно ли одного VEGF для начала этого процесса или он действует совместно с другими ростовыми факторами, либо факторы роста опосредуют свой эффект через выработку VEGF остается пока невыясненным [280].

При рассмотрении процесса формирования витреоретинальных контрактных мембран следует отметить роль **фибронектина** – высокомолекулярного гликопротеида, служащего важнейшим маркером клеточной дифференцировки [95, 96, 118]. Этот белок является промежуточной средой между коллагеновыми фибриллами и наружной поверхностью клеток.

Существует фибронектин в двух формах: поверхностной и циркулирующей [96, 118]. Поверхностная форма обнаруживается на мембранах многих культивируемых клеток: фибробластах, глиальных, эндотелиальных. В тканях фибронектин определяется в межклеточных пространствах, на коллагеновых волокнах, базальных мембранах хориокапилляров и ретинальных сосудов [265, 347, 348]. В плазме фибронектин содержится в растворимой, циркулирующей форме, которая по антигенным свойствам не отличается от поверхностной.

Значение фибронектина в регуляции процессов пролиферации, по-видимому, состоит не только в том, что он способствует миграции и прикреплению различных типов клеток к субстрату [371, 402]. Этот гликопротеид, связываясь с фибриллами коллагена в присутствии гликозаминогликанов, образует комплекс коллаген – фибронектин – протеогликан, который входит в состав межклеточного опорного матрикса [320, 461].

Кроме того, фибронектин играет роль первичного каркаса, создающего определенную ориентацию фибробластов и коллагеновых волокон в зоне репарации.

При ПВР отмечается достоверное повышение уровня интравитреального фибронектина, что позволяет рассматривать его как диагностический признак

этого заболевания [467]. Обнаружена также повышенная экспрессия фибронектина *in vitro* и *in vivo* на фоне сахарного диабета [347, 413, 414].

Важной биологической функцией циркулирующего фибронектина является его участие в неспецифическом иммунном ответе в качестве опсонизирующего фактора [14, 125].

1.6.2. Цитокины

Последние несколько лет характеризуются повышенным интересом ученых к роли и значению цитокинов в патогенезе ПВР [227, 274, 361]. Среди большого числа цитокинов относительно изученными в этом плане являются интерлейкин-1 и интерлейкин-8, фактор некроза опухоли, а также макрофагальный колониестимулирующий фактор [184, 185, 361].

Интерлейкин-1 (IL-1) является одним из первых открытых, и потому наиболее изученных цитокинов. Этот биологически активный медиатор стимулирует клеточный и гуморальный иммунитет, а также оказывает катаболические эффекты в различных тканях и является непосредственным участником многих воспалительных реакций организма [88].

IL-1 представляет собой продукт активации моноцитов, макрофагов, глияльных клеток [87, 333]. Однако он синтезируется и другими клетками – эндотелиоцитами, фибробластами, кератиноцитами [111]. IL-1 является белком, имеющим молекулярную массу 17 кД. В электрофоретическом отношении различают 2 формы: IL-1 α и IL-1 β [33].

IL-1 повышает сосудистую проницаемость, регулирует пролиферацию и дифференцировку различных типов клеток (лимфоцитов, фибробластов, эпителиальных клеток) [111, 118, 218]. В эксперименте обнаружено, что IL-1 в условиях *in vitro* и *in vivo* стимулирует миграцию клеток РПЭ, не влияя при этом на их пролиферацию [336, 337].

Эффекты IL-1 находятся в большой взаимосвязи с фактором некроза опухоли (ФНО). Оба фактора оказывают сочетанное, как правило, синергическое,

действие на воспалительные реакции [249]. По-видимому, этот синергизм активно используется организмом, т. к. доказано, что ФНО способен индуцировать синтез IL-1 [433]. ФНО и IL-1 вызывают стимуляцию прокоагулянтной активности у культивируемых эндотелиальных клеток. Оба цитокина индуцируют активацию и адгезию нейтрофилов, а также способствуют экспрессии на эндотелии рецепторов для нейтрофилов [33, 87, 208].

Взаимодействие IL-1 и ФНО – довольно сложный процесс, тем не менее, одно представляется очевидным: их суммарный эффект гораздо больше, чем оказываемые ими одиночные влияния.

Интерлейкин-8 (IL-8) синтезируется моноцитами/макрофагами [88, 218]. Через 2 часа после антигенной стимуляции начинается выделение зрелых форм IL из клеток во внешнюю среду, а максимальный уровень секреции достигается через 24-48 часов.

IL-8 обнаруживает хемотаксическую активность по отношению к нейтрофилам, вследствие чего до расшифровки молекулярной структуры его называли нейтрофильным хемотаксическим фактором – neutrophil chemotactic factor (NCF) [88].

Установлено, что IL-8 не имеет значительной гомологии с другими цитокинами, например, IL-1, ФНО [87, 88]. Он генерируется в виде молекулы-предшественницы в 99 аминокислот с характерной лидерной 22-аминокислотной последовательностью [88].

Хотя первоначально полагалось, что способностью к синтезу IL-8 обладают только моноциты/макрофаги, более тщательные исследования показали, что его могут вырабатывать различные типы клеток. После стимуляции IL-1 α , IL-1 β и ФНО синтез IL-8 могут осуществлять фибробласты, эндотелиоциты, клетки РПЭ [276, 277, 324].

Спектр биологического действия IL-8 сходен с таковым у классических хемотаксических пептидов, например, C5a. Так, под влиянием IL-8 у нейтрофилов отмечается активация двигательного аппарата, направленная миграция,

экспрессия поверхностных адгезивных молекул, освобождение ферментов и продукция активированных форм кислорода [237, 353]. Кроме того, IL-8 повышает сосудистую проницаемость и участвует в неоваскулогенезе [344, 435].

Многообразие функций указанных интерлейкинов позволяет им не только контролировать развитие локального воспалительного процесса, но и обеспечивать ответную реакцию на уровне целостного организма.

Фактор некроза опухоли (ФНО) ранее рассматривался как фактор, проявляющий цитотоксичность в отношении опухолевых клеток [95, 96]. В настоящее время экспериментально установлено, что он существует в 2 формах: α (кахектин) и β (лимфотоксин), для которых обнаружены общие поверхностно-клеточные рецепторы. Присоединение обеих форм осуществляется примерно с одинаковой аффинностью, однако считается, что тканевое происхождение и стимулы, требуемые для присоединения этих белков, различны [96].

Первоначально полагалось, что ФНО- α является продуктом исключительно мононуклеарных фагоцитирующих клеток, а ФНО- β продуцируется, главным образом, лимфоцитами. Однако на современном этапе получены данные, что лимфоциты, помимо ФНО- β , способны синтезировать и ФНО- α при экспозиции со стимуляторами [263]. Вместе с тем, отсутствуют сведения о выработке ФНО- β моноцитами/макрофагами.

ФНО- α и ФНО- β синтезируются при любых повреждениях организма [88]. Под влиянием данных факторов происходит существенная стимуляция синтеза ДНК и пролиферации нормальных клеток, хотя это действие может быть опосредовано другими аутокринно выделяемыми медиаторами, например, IL-1, IL-6 [87, 141].

ФНО оказывают разностороннее активизирующее влияние на нейтрофилы – воздействует на фагоцитоз, хемотаксис, адгезию, продукцию активированных форм кислорода [141, 208]. Они также активизируют антителозависимую клеточную цитотоксичность нейтрофилов и могут выступать в качестве ростовых факторов для В-лимфоцитов [141].

Помимо этого, ФНО- α , являясь мощным ингибитором роста эндотелиальных клеток *in vitro*, обладает ангиогенными свойствами *in vivo* [363, 369].

Макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ) – как следует из названия, данный фактор роста оказывает стимулирующий эффект на клетки-предшественники макрофагального ростка [266, 291]. Одним из основных источников М-КСФ являются моноциты/макрофаги [88, 96]. Однако довольно большой способностью синтезировать этот фактор обладают Т-лимфоциты, фибробласты и эндотелиальные клетки [95, 96, 436]. Установлено, что фибробласты и эндотелиоциты способны даже к конститутивному (спонтанному) синтезу М-КСФ [266], в результате чего в нормальной сыворотке человека определяется его биологически активная концентрация.

М-КСФ является димером, в состав которого входят 2 идентичные полипептидные субъединицы молекулярной массой 14,5 кД каждая.

Главная функция данного фактора заключается в регулировании пролиферации и дифференцировки клеток-предшественников макрофагальной линии, а также в усилении активности зрелых клеток. Так, М-КСФ обеспечивает выживание макрофагов, является хемоаттрактантом для моноцитов и увеличивает разнообразие моноцитарно/макрофагальной деятельности, такой как фагоцитоз, цитокинсекреция [259, 458]. Кроме того, данный фактор модулирует функции зрелых нейтрофилов, стимулируя их хемотаксис и фагоцитоз [208].

Однако недостаточно данных о роли этого фактора в качестве клеточной дифференцировки. По-видимому, в ближайшие годы будут существенно расширены исследования по изучению структуры и функционального значения фактора, стимулирующего колонию макрофагов, в частности, по определению его взаимосвязей с другими факторами.

Обращает на себя внимание тот факт, что один и тот же цитокин может вырабатываться различными клетками [277, 436, 437], а медиатор, образующийся в одной из клеточных популяций, может влиять на функции разных видов клеток.

Перечисленные выше цитокины участвуют в формировании иммунобиологических реакций и могут играть значительную роль в патогенезе витреоретинальных поражений различной этиологии. Они обнаруживаются во влаге передней камеры больных с посттравматической ПВР [89], а также в образцах стекловидного тела пациентов с тяжелой диабетической пролиферативной ретинопатией и ПВР с отслойкой сетчатки [227, 274, 275, 330, 362, 443]. Предполагается, что эти вещества реализуют свой вазопротрофирующий эффект через усиление функции ростовых факторов, в первую очередь, TGF- β и VEGF [228, 240, 286].

Следует отметить, что цитокины оказывают, преимущественно, местное действие, редко поступая в общий кровоток. Лишь при большой антигенной нагрузке и выраженной патологии некоторые из них, например, IL-1, IL-8, ФНО- α , могут появляться в крови [13, 184].

В заключение хотелось бы подчеркнуть, что, несмотря на обилие информации, посвященной биологически активным веществам, многое остается неясным. Например, почему существует так много факторов с ангиогенными свойствами, хотя J. Folkman [283] выдвинул постулат о том, что их несомненное изобилие отражает природную сущность ангиогенного ответа. Кроме того, биологически активные вещества выполняют в организме многофункциональную роль, потенцируя влияние друг друга в сложных регуляторных системах с прямыми и обратными связями. Благодаря такому взаимодействию эти факторы отвечают не только за неоваскуляризацию, но и за другие процессы, включая морфогенез, опухолевый рост, развитие воспалительной реакции, регенерацию поврежденной ткани [423].

1.7. Локальные и системные нарушения иммунитета при пролиферативной витреоретинопатии

Экспериментальные и клинические исследования последних лет выявили нарушения системных и локальных иммунорегуляторных механизмов, а также участие аутоиммунных процессов в развитии ПВР.

Установлено, что сетчатка человека содержит 15 антигенов (АГ), наиболее известны из которых S-АГ, 1RBP, 1RP, опсин, U-АГ [65, 169, 226, 315, 373, 381, 382, 383, 438].

Применение метода иммунофлюоресценции позволило определить точную локализацию некоторых из них [71, 315, 381, 438]:

1. S-антиген, полностью окружающий фоторецепторную клетку;
2. антиген, локализованный в самих фоторецепторах, а именно в пределах наружных сегментов палочек;
3. антиген, локализованный между слоем пигментного эпителия сетчатки и сосудистой оболочкой.

Наиболее изученным и патогенетически активным является S-АГ сетчатки, описанный в 1977 году W. Wacker и соавторами [456]. Этот антиген (молекулярная масса 48-52 кД) известен как увеитогенный белок, вызывающий аутоиммунные увеиты у животных и участвующий в патогенезе воспалительных заболеваний сосудистой оболочки и сетчатки у человека [161].

S-АГ состоит из двух компонентов, которые могут быть выделены при иммунодиффузии [71]. S-АГ грубой очистки обладает ограниченной иммунопатогенной активностью для экспериментальных животных. При высокой очистке его активность значительно повышается. Относительная инактивация неочищенного препарата может быть следствием наличия конкурентных антигенов, присутствующих среди белков такого препарата, но возможно и наличие ингибиторов, подавляющих активность S-АГ и тем самым ограничивающим иммунную стимуляцию [24, 169, 382, 438]. Возможно, маскировка увеитоген-

ной способности S-АГ является адаптационным свойством, предохраняющим внутренние оболочки глаза от аутоиммунного повреждения [71, 207].

Антигены сетчатки принадлежат к Т-зависимым антигенам и имеют общие антигенные детерминанты с антигенами сосудистой оболочки [65, 71, 373].

Иммунные особенности стекловидного тела до настоящего времени остаются мало изученными.

Установлено, что, помимо собственных антигенов, стекловидное тело имеет общие характеристики с антигенами плазмы крови, а также обладает высокой анафилактичностью [71]. В нормальном стекловидном теле нет иммуноглобулинов. Предполагается, что корковое вещество стекловидного тела представляет собой своеобразный молекулярный фильтр, не пропускающий иммуноглобулины из передней камеры в витреальную полость [207, 310, 383].

Клетки стекловидного тела – гиалоциты – обладают высокой фагоцитарной активностью. При этом фагоцитоз осуществляется подобно тому, как это происходит в эмбриональных тканях [71].

Стекловидное тело в силу собственной замкнутости и ограниченности «молекулярным фильтром» представляет собой примитивную, незавершенную иммунную систему, в которую включена лишь одна часть иммунного процесса, т. е. фагоцитоз.

Представляется, что наиболее важная для осуществления иммунных реакций в тканях глазного яблока роль стекловидного тела ускользает из поля зрения исследователей. Наличие в составе стекловидного тела гликозаминогликанов может обеспечить ему роль адьюванта, которая реализуется при развитии иммунного ответа в оболочках глаза. Однако, подобное предположение требует специальных исследований.

Повреждение витреоретинальных структур способствует возникновению условий для развития клеточного иммунного ответа и появлению антител к антигенам сетчатки и хориоидеи, т. е. аутоиммунного ответа к внутренним оболочкам глаза [24, 72, 238].

При отслойке сетчатки отмечается увеличение количества S-АГ в субретинальной жидкости, что отражает прогрессирующую дегенерацию фоторецепторов и позволяет судить о давности патологического процесса [427]. В течение первых 2 недель после отслойки сетчатки обнаруживается двукратное увеличение концентрации S-АГ с постоянным уровне впоследствии.

О степени повреждения функциональных элементов сетчатки и давности отслойки можно судить также по количественному содержанию опсина, определяемого в субретинальной жидкости посредством иммуносорбентного метода [238, 420]. Установлено, что по мере увеличения длительности отслойки сетчатки уровень опсина в субретинальной жидкости снижается.

В исследованиях ряда авторов [63, 162] показано, что с увеличением площади отслойки сетчатки в ее патогенезе все большую роль приобретают аутоиммунные реакции к S-АГ. Антитела к S-АГ обнаруживаются в сыворотке крови 60% больных с субтотальной и тотальной отслойкой сетчатки, что свидетельствует о генерализации аутоиммунных реакций к ретинальному антигену [20, 162].

Прогностически неблагоприятным считается накопление тканеспецифических антител к S-АГ, увеопигментных антител в сыворотке крови, субретинальной жидкости и слезной жидкости у больных с дистрофической отслойкой сетчатки [16, 63, 159, 292].

Выявлена корреляция между частотой отслойки сетчатки при миопии с определенными антигенами HLA-системы, например, АГ В7 и В8 [63], что указывает на роль иммуногенетических факторов в патогенезе ПВР.

Иммунологические сдвиги при пролиферативных процессах характеризуются также обнаружением иммуноглобулинов (Ig) классов G, A, M и компонентов комплемента в субретинальной жидкости и стекловидном теле, что свидетельствует о вовлечении аутоиммунного феномена в течение заболевания [241, 242, 367, 411]. Появление Ig происходит, вероятно, за счет пропотевания из сосудов хориоидеи или за счет локальной продукции.

Увеличение содержания Ig G и Ig A в субретинальной жидкости при снижении их содержания в сыворотке крови рассматривается как прогностически неблагоприятный признак [63, 242]. Эти результаты аналогичны заключениям исследователей, изучающих иммунитет у больных с непролиферативной и пролиферативной диабетической ретинопатией [18, 43, 49, 79, 234].

При диабетической ретинопатии существует дисбаланс на уровне системных иммунорегуляторных механизмов с одновременной активизацией локального иммунитета [64, 220]. Повышенное содержание в стекловидном теле Ig, комплементфиксирующих антител и циркулирующих иммунных комплексов служит доказательством того, что главным компонентом интраокулярного воспаления при диабетической ретинопатии являются аутоиммунные реакции [119]. Именно вовлечение специфических аутоиммунных механизмов в сочетании с иммунокомплексным повреждением сосудов микроциркуляторного русла сетчатки способствует развитию васкулитов и прогрессированию пролиферативного процесса [18, 22, 43, 49].

Установлено, что концентрации Ig классов G, A и M в стекловидном теле по мере развития и прогрессирования диабетической пролиферативной ретинопатии существенно увеличиваются [41].

Состояние T-системы иммунитета при ПВР различной этиологии характеризуется, преимущественно, снижением субпопуляций как T-хелперов (CD4+), так и T-супрессоров (CD8+), а также депрессией их функциональной активности [26, 49, 156].

В ряде работ отмечается, что у больных с отслойкой сетчатки в большинстве случаев имеет место сочетание ослабления функциональной активности T-лимфоцитов и специфического к S-АГ клеточного иммунитета при умеренной бактериальной инфицированности и тенденции к развитию аутоаллергических реакций к увеальной ткани [63, 360]. Реже выявляется одновременное ослабление клеточного и гуморального иммунитета или бактериально-вирусная гиперсенсibilизация лимфоцитов с отсутствием сывороточных антител [63, 159].

При изучении вопросов, связанных с участием иммунной системы в патогенезе витреоретинальной пролиферации, особое место занимают исследования локальных и системных нарушений иммунитета у больных с прободными ранениями глазного яблока, а также перенесших повторные хирургические вмешательства [30, 35, 45].

Установлено, что в подавляющем большинстве у таких пациентов имеются более или менее выраженные нарушения различных звеньев иммунитета: сдвиги в содержании общих популяций Т- и В-лимфоцитов и иммунорегуляторных субпопуляций Т-клеток, иммуноглобулинов G, A, M, циркулирующих иммунных комплексов; развитие клеточных и гуморальных аутоиммунных реакций, направленных против тканей глаза (хрусталик, сетчатка), а также – индуцированных межорганными аутоантигенами (ДНК, компоненты коллагена); ослабление специфических и неспецифических факторов противоинфекционного иммунитета [31, 160, 178].

Таким образом, изменения локального иммунитета, выявляемые у больных ПВР различной этиологии, свидетельствуют о формировании и персистенции очага хронического воспаления в заднем полюсе глазного яблока [21, 156, 195]. Однако характер иммунопатологических проявлений, т. е. преобладание аутоиммунного, инфекционного или смешанного факторов, а также их выраженность тесно связаны с природой и сущностью основного заболевания, приведшего к развитию пролиферативного синдрома. Наличие дисбаланса системных иммунорегуляторных механизмов усугубляет течение патологического процесса.

1.8. Некоторые закономерности патогенеза пролиферативной витреоретинопатии

ПВР является общим типом реакции тканей глаза на витреоретинальное повреждение любой этиологии. Последовательность основных патогенетических событий в развитии пролиферативной ткани, по общепризнанному мнению, представляется следующим образом.

Нарушение целостности витреоретинальных структур служит основой для миграции и пролиферации клеток РПЭ и глиальных клеток по обеим поверхностям сетчатки и в стекловидном теле [295, 299, 345, 368, 428]. Одновременно в витреальную полость мигрируют моноциты/макрофаги.

Нарушение гематофтальмического барьера увеличивает хемотаксическую и митогенную активность в стекловидном теле [252]. Известно, что плазма содержит несколько агентов, стимулирующих миграцию и пролиферацию клеточных элементов, а именно фибронектин, интегрин [320, 467]. Плазменные компоненты, высвобождаемые из сосудов, и цитокины, продуцируемые мононуклеарами, вызывают миграцию и адгезию клеток РПЭ и макрофагов на внутренней пограничной мембране сетчатки и волокнах стекловидного тела с формированием клеточных агрегатов [246, 277, 378, 449]. Повышенная продукция макрофагами активированных кислородных метаболитов в условиях окислительного стресса индуцирует повреждение биологических мембран, в том числе и внутренней пограничной мембраны сетчатки [193, 194]. В зоне ее деструкции начинается активная пролиферация клеток РПЭ, глиальных клеток с формированием эпиретинальной и развитием складчатости сетчатки. Образование волокнистой ткани, обладающей тракционными свойствами, вызывает локальную отслойку сетчатки и усиливает нарушение гематофтальмического барьера [252, 306]. Это, в свою очередь, вызывает дополнительную миграцию клеточных элементов (клетки РПЭ, глиальные клетки, фибробласты) в витреальную полость. Попадая в стекловидное тело, эти клетки сами становятся важным источником стимулирующих факторов – PDGF, VEGF, TGF- β , что позволяет привлекать все новые и новые клетки, а также стимулировать пролиферацию уже имеющихся [252, 464, 465].

Таким образом, замыкается порочный патологический круг, и процесс приобретает черты хронического воспаления [6, 464].

Инициацию и саморазвитие хронического воспалительного процесса детерминируют клетки мононуклеарного ряда, создающие в зоне повреждения

микросреду со сложной системой межклеточных контактов [118, 202, 278, 385]. Именно моноклеары, влияя на другие клетки и сами испытывая экзо- и эндогенные влияния, занимают центральное положение в этих клеточных взаимодействиях, т. к. играют ведущую роль в сопряжении воспаления и регенерации.

Следует отметить, что фибропластический процесс, ход которого находится под контролем множества механизмов, зарождается в недрах клеточной инфильтрации в очаге воспаления. Прежде всего фибропластический процесс зависит от структурно-функциональных параметров самих фибробластов, а также от формирующихся сложных каскадов межклеточных взаимодействий. Среди них важная роль принадлежит тандему «макрофаг-фибробласт» [211, 356] и триаде «лимфоцит-макрофаг-фибробласт» [115, 118]. Связующей фигурой в указанных взаимодействиях является макрофаг. С одной стороны, через IL-1 и лимфокины он поддерживает прямые и обратные связи с лимфоцитами, а с другой – связан с фибробластами.

Активированные макрофаги представляют собой источник многочисленных биорегуляторов, в том числе факторов, стимулирующих пролиферацию и другие функции фибробластов [25, 111, 211, 212, 356]. Это обеспечивает один из центральных механизмов подключения фибробластов к репаративным процессам.

Безусловно, кроме монокинов, фибробласты воспринимают продукты лимфоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов, эпителия. Пролиферацию фибробластов запускают тромбин и ряд протеиназ [112, 218]. Однако больше данных за то, что именно макрофаги ведут главный диалог с фибробластами, трансформируя через них часть собственного патогенетического потенциала, а также эффекторные возможности ряда других клеток и гуморальных факторов [117, 118]. Другими словами, активированные макрофаги рассматриваются как важнейшее связующее звено между фибробластами и повреждением, фиброгенезом и гомеостазом.

Морфологически макрофагально-фибробластические взаимодействия ведут к миграции и ускоренной пролиферации фибробластов, их дифференцировке и продукции компонентов экстрацеллюлярного матрикса [25, 210].

Исходя из классических представлений, синтез и секреция коллагена являются прерогативой фибробластов [25, 158, 212]. Биосинтез коллагена представляет собой частный случай процесса биосинтеза белков в биологических системах и полностью подчиняется всем общим закономерностям этого процесса.

Вкратце позволим напомнить, что индивидуальная молекула коллагена состоит из трех полипептидных α -цепей, которые скручены между собой в общую спираль и стабилизированы водородными связями [136, 158, 212]. Вдоль α -цепей чередуются полярные и аполярные области, наличие которых также способствует образованию спирали [98].

Главной отличительной особенностью трехмерной спиральной структуры коллагена является наличие глицина в каждом третьем положении аминокислотной последовательности, высокое содержание оксипролина и оксилизина (химических маркеров коллагена), отсутствие триптофана, низкое содержание тирозина и метионина [117, 118, 158, 212].

Коллаген синтезируется в клетках в виде высокомолекулярного предшественника – проколлагена, имеющего добавочные последовательности на N- и C- концах всех трех α -цепей. Следует отметить, что эти концевые участки (пропептиды) отличаются по аминокислотному составу от основной части. Они не содержат пролина и оксипролина, а также лишены глицина в каждой третьей позиции, вследствие чего пропептиды не образуют трехмерную спираль, а объединяясь друг с другом, формируют глобулярные домены [136, 158]. Оба концевых участка препятствуют внутриклеточной полимеризации молекул, облегчая тем самым секрецию белка.

После выведения проколлагена из клеток во внеклеточной среде происходит так называемая посттрансляционная модификация коллагена [50, 98,

135]. Пропептиды на N- и C- концах молекулы последовательно отщепляются двумя различными эндопептидазами (амино- и карбокси-проколлаген-пептидазами), в результате чего образуется тропоколлаген или собственно коллаген. Далее молекулы тропоколлагена в присутствии фермента лизилоксидазы и ионов меди агрегируют в микрофибриллы за счет образования внутри- и межмолекулярных ковалентных связей [50, 158, 212]. Образуется первичная форма надмолекулярной структуры коллагена.

Процесс фибрилlogenеза включает в себя также сложный комплекс взаимодействий коллагена с гликозаминогликанами. Установлено, что гликопротеины скрепляют между собой первичные агрегаты или микрофибриллы, а протеогликаны – фибриллы [50, 136]. Последующее образование волокон происходит путем взаимодействия фибрилл с гликозаминогликанами посредством относительно слабых электростатических сил.

Рост и ориентация коллагеновых фибрилл, согласно концепции «биомеханического соответствия» [158], осуществляется следующим образом.

Пролиферирующие фибробласты, перемещаясь вдоль фибрилл, достраивают их в длину и формируют тонкие волокна. Затем двигаясь челночно вдоль волокон, клетки производят материал для новых фибрилл, способствуя росту волокон в толщину и их стабилизации за счет цементирующего вещества [158, 200, 212].

Переплетаясь между собой, коллагеновые волокна образуют густую сеть с трехмерной пространственной конфигурацией.

Синхронно с ростом волокон отмечается и рост сосудов. Согласно современной теории ангиогенеза, рост новообразованных капилляров осуществляется с помощью спрутинга, т. е. образования выростов или «почек роста» [95, 417].

В ответ на действие раздражающего фактора эндотелиоциты предсуществующих сосудов после локального разрушения базальной мембраны начинают мигрировать в направлении стимулятора [46, 95, 163]. Одновременно с клеточ-

ным движением в эндотелиальных клетках отмечается повышение митотической активности, что приводит к формированию и удлинению «почек роста». Отпочковывающиеся сосуды представляют собой тяжи эндотелиоцитов, в которых при достижении определенной длины начинают формироваться просветы.

Первоначально рост капилляров происходит в направлении, перпендикулярном предсуществующему сосуду. Однако многократно повторяющееся образование боковых и концевых «почек роста» приводит к формированию ветвящихся структур [46, 95, 149, 268, 269].

При непрекращающемся действии факторов тканевой деструкции в полости глазного яблока в условиях декомпенсированного повреждения возникает гипертрофия репаративной (фибропластической) функции [117, 157].

Следует подчеркнуть, что репаративная регенерация включает в себя как сложный комплекс реконструктивных процессов на клеточном уровне (размножение клеток, их миграция, усиление образования межклеточного вещества), так и перестройку на тканевом уровне. Сюда относится восстановление сосудистой системы на ином, новом уровне в области повреждения, изменение архитектоники и расположения коллагеновых и эластических структур и т. д. [202].

Результатом является формирование периретинальных фиброваскулярных мембран [387].

Таким образом, несовместимость повреждения с компенсаторными возможностями гомеостаза ведет к клинически значимым последствиям. Срыв гомеостатических механизмов на разных уровнях регуляции (межклеточные взаимодействия, гуморальный, иммунный) ведет к утрате процессами воспаления и регенерации защитно-приспособительного характера, что позволяет говорить о дисрегенерации [210].

Хроническое воспаление в ответ на повреждение → дисрегенерация → ПВР – такова последовательность взаимосвязанных событий, находящихся в неразрывном единстве.

В целом процесс выглядит как совокупность реакций, направленных на восстановление нарушенного динамического постоянства внутренней среды, но с аномальным исходом регенерации [59, 133]. Поэтому некоторые авторы склонны рассматривать ПВР как естественный процесс заживления с неадекватным разрастанием фиброваскулярной ткани и нежелательными последствиями для сетчатки [205, 466, 467].

Однако перед исследователями, изучающими механизмы неадекватного фиброгенеза, стоит много вопросов. Прежде всего необходимо выяснить, каким образом происходит формирование массивных периретинальных мембран за столь короткий, согласно клиническим наблюдениям [32, 125, 196, 205, 466], период времени.

Этот общий вопрос разбивается на ряд частных. Например, только ли фибробластическая популяция, являясь ключевой фигурой репаративного процесса, обладает способностью к коллагенообразованию? Каким образом пролиферирующие фибробласты, ультраструктура которых обеспечивает им высокий биосинтетический потенциал, а не активные клеточные движения, способны «челночно перемещаться вдоль волокон» в процессе фибриллогенеза?

Ограничивается ли реализация фиброгенной функции мононуклеаров крови в полости глазного яблока лишь стимуляцией миграции и пролиферации фибробластов при нарушении целостности витреоретинальных структур? Каковы функциональные возможности клеток мононуклеарного ряда после миграции в витреальную полость в отношении синтеза и секреции коллагена? Каковы природа и сущность факторов микроокружения, оказывающих модулирующее влияние на морфофункциональное состояние мононуклеаров?

Безусловно, этим перечнем не ограничивается круг вопросов о патогенетических механизмах ПВР, имеющих сложный и разноплановый характер. Од-

нако поставленные вопросы позволяют с новых позиций подойти к изучению проблемы становления и развития пролиферативной ткани в полости глазного яблока.

ГЛАВА 2

МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Методологическая адекватность как условие научно-рационального исследования патогенеза пролиферативной витреоретинопатии

Проблема патогенеза ПВР, будучи сложной, многомерной и разноплановой по характеру, продолжает постоянно обогащаться новыми дополнительными фактами и положениями. Несмотря на обилие информации, исследователи редко пытаются синтезировать ее для установления ключевых механизмов пролиферативного процесса, выяснения принципов их взаимосвязи и взаимодействия в патологическом очаге. Вместе с тем, как раз данный подход, на наш взгляд, создает предпосылки для перехода от описания отдельных факторов патогенеза ПВР к его концептуальной схеме. Однако, здесь перед исследователями встают большие трудности. Конкретные методы исследования тех или иных механизмов развития и формирования пролиферативной ткани в полости глазного яблока становятся все более узкими, специальными, и, в силу этого, ни один из них не способен охватить проблему в целом. На современном этапе, по нашему мнению, назрела необходимость разработки особого теоретико-методологического направления исследований патогенеза ПВР, позволяющего осуществлять синтез полученных специальных знаний, а также анализ связей и взаимодействий между ними. Основой подобного направления может стать системная методология, способная отразить разные уровни целостного единства, что, в свою очередь, позволяет интегрировать разнородные частные процессы и явления, подводя их к единому знаменателю [97, 137, 209].

Особенностями системной методологии являются [9, 97]: комплексность и междисциплинарность, моделирование, наличие нескольких подходов к проблеме, актуализация общенаучного уровня исследований. Эти особенности

глубоко взаимообусловлены и переходят друг в друга, составляя функциональную целостность.

Тем не менее, комплексность можно считать ключевым методологическим понятием. Оно более емкое, чем междисциплинарность, т. к. относится не только к теории, но и к практике. В понятии «комплекс» речь идет об объединении разнородных компонентов и анализе их динамического взаимодействия [209]. Следует заметить, что в настоящее время поиски решающей, основной причины патогенеза ПВР перестали быть определяющими, больше ссылаются на «комплекс» причин, обуславливающих развитие патологического процесса. Однако нередко комплексность трактуется лишь как многосторонность, что фактически выражается в объединении полученных разными методами результатов, общим отчетом. Преодоление такого рода поверхностной комплексности возможно лишь на основе внутренней интеграции, пронизывающей весь процесс исследования, а не только полученные результаты. Благодаря этому комплексность обретает способность наиболее адекватно выражать синтез разноаспектных знаний, отражать взаимодействие идей и теорий.

Как известно, новое знание нередко рождается на стыках наук. Такие направления как биофизика, биомеханика и тому подобные развиваются быстрее составляющих их дисциплин. В действительности имеет место не просто стык наук – «ничейная земля или образовавшийся зазор между дисциплинами» [97], а ситуация, когда решение задач в одной науке основывается на использовании методов другой. Наглядным примером является интенсивное развитие функциональной патоморфологии, которая, по сути, интегрирует в себе методы физиологии, биохимии, молекулярной биологии, иммунологии. Исследования проводятся, в основном, на культурах клеток.

Преимущество данных методов заключается в том, что лишь в тканевых культурах можно наблюдать клетки в их живом состоянии, в реальном действии и взаимодействии с микроокружением. В связи с этим, культивирование клеток *in vitro* все чаще используется для исследования морфофункциональных

особенностей клеточных компонентов, образующих периретинальные фибро-вазкулярные мембраны при ПВР [300, 324, 337]. Изучение клеточного состава, специфики межклеточных и клеточно-структурных взаимоотношений в ходе развития пролиферативной ткани является необходимым предварительным условием анализа сущности происходящих процессов. При этом формируется единая структура теоретической деятельности, основанная на междисциплинарности [97, 126, 209].

У каждой дисциплины имеются свои методы, свой материал и язык, которые, зачастую, не приемлют иной методологический аппарат непосредственным образом. Однако, на наш взгляд, важно уметь осознавать и признавать возможную уязвимость собственных методов исследования, наличие у них границ действия. Так, например, еще в 1976 году Н. Г. Хрущов, будучи известным и авторитетным морфологом, писал, что анализ фиксированных препаратов не является адекватным для изучения работы клеточных и внеклеточных структур, исследования механизмов подключения макрофагов к фиброгенезу, путей дифференцировки клеточных форм [198]. Установление пределов эффективного функционирования определенного метода, выявление вопросов, которые неразрешимы в его рамках, имеют важное этическое и гносеологическое значение.

Междисциплинарность же предполагает образование познавательного комплекса взаимодействующих методов исследований из различных дисциплин. При этом имеется в виду не использование всех существующих средств, а выбор тех из них, без которых в принципе невозможно решение поставленных задач [97]. Иными словами, методологический аппарат дифференцирован по значению отдельных методов, которые отличаются друг от друга и как таковые, и по роли в нем. Формирующееся единство знаний не ограничено при этом ни смежным положением, ни близостью дисциплин, а является результатом взаимодействий разных подходов [9, 126, 209]. Кроме того, междисциплинарность обеспечивает особую организацию целостности знания, представляя ее динамичной и развивающейся.

Важной особенностью системной методологии является и моделирование, которое на современном этапе наиболее адекватно выражает теоретически содержательный уровень познания. Сама по себе категория модели крайне многозначна, и лишь понимание необходимости актуализации моделирования позволяет свободно ориентироваться в различных контекстах его применения.

В качестве «собственного», «узкого» значения модель рассматривается в виде звена, связывающего изучаемый процесс или явление с теоретическими построениями [144, 152]. Содержательная модель – объемное синтетическое понятие, воплощающее в себе единство теоретического и эмпирического подходов [97, 126]. Решающей характеристикой модели является ее соответствие, подобие оригиналу по определенным, интересующим параметрам. Исследователь как бы концентрирует в модели имеющуюся совокупность информации.

Экспериментальное моделирование широко используется для изучения механизмов становления и развития ПВР. В настоящее время описаны модели ПВР после введения в стекловидное тело культуры клеток дермальных фибробластов, аутологичной крови, тромбоцитов, активированных макрофагов, клеток из культуры РПЭ [191, 197, 236, 257, 312, 318, 319, 446]. Основная задача подобных экспериментов – не только моделирование патологического процесса у животных, относительно сходного с тем, что наблюдается у человека, но и исследование его динамики развития. Главным критерием во всех моделях является формирование тракционной отслойки сетчатки и пролиферативной ткани в полости глазного яблока у экспериментальных животных.

Вполне понятно стремление исследователя воспроизвести в модели возможно большее число свойств оригинала, чтобы полнее постичь его сущность. Однако здесь есть граница: при полном сходстве модели с оригиналом, например, при интравитреальном введении крови [60], теряется смысл моделирования. Исследователь просто получает второй подобный объект, а познавательная задача остается невыполненной.

С другой стороны, модель не должна быть произвольной, не соответствующей объекту. При отсутствии субстратного, структурного или функционального сходства получаются два разных, не связанных друг с другом объекта, и процедура моделирования также утрачивает смысл, что наблюдается в эксперименте с дермальными фибробластами [257, 312]. Поэтому моделирование существует в диапазоне от почти абсолютного до почти нулевого подобия.

В целом же, модель является результатом определенного отбора признаков, происходящего под влиянием конкретной познавательной задачи и в рамках какой-либо научной дисциплины [9, 97, 126, 209].

Познавательные подходы к изучаемой проблеме подразделяются на основные или общенаучные (системно-структурные, субстратно-событийные и т. д.) и специальные (статистические, технические и т. д.) [81, 97, 126].

Общенаучные методы и понятия применяются как на теоретическом, так и на эмпирическом уровнях. Они не просто междисциплинарные, а как бы наддисциплинарные, хотя их нельзя назвать всеобщими [97]. В пределах науки общенаучные понятия и методы используются в большинстве ее отраслей. Понятия «система», «модель» широко применяются в физике, биологии, экономике. Другие понятия имеют более узкий диапазон действия, описывая либо развитие, либо функционирование явлений, но, так или иначе, они шире отдельных, специальных (частнонаучных) методов. Так, например, системно-структурный подход, раскрывая сложное единство компонентов, позволяет проникнуть в механизм функционирования системы [81]. В субстратно-событийных исследованиях внимание концентрируется на фактах и явлениях как таковых с целью постижения их сущностного значения.

Познавательные подходы могут выступать в различных модификациях, но главное в том, что в совокупности они позволяют охватить явления в их принципиальных параметрах – в развитии и функционировании, на теоретическом и эмпирическом уровнях. Благодаря взаимодействию общенаучных и спе-

циальных подходов достигается содержательность знания, определяются условия и закономерности его единства [9, 131].

Понимание общих механизмов взаимодействия различных подходов, являющихся составной частью взаимосвязанных принципов системной методологии, при решении конкретной проблемы позволяет оградить проводимое исследование от «чистого методологизма» с одной стороны, и от описательного эмпиризма с другой.

В заключение хотелось бы отметить, что несмотря на необходимость комплексности и междисциплинарности при изучении проблемы патогенеза ПВР, профессионализм исследователя все-таки заключается: 1. в его специализации, как условия глубокого проникновения в предмет исследования; 2. в его открытой готовности к диалогу, в способности к принятию других теоретических положений как условия целостного видения исследуемой проблемы.

Обсуждая методологические аспекты изучения патогенеза ПВР, подходя к решению конкретных вопросов данной проблемы, мы руководствовались именно этой установкой.

2.2. Экспериментальные исследования

2.2.1. Моделирование пролиферативной витреоретинопатии в условиях нормо- и гипергликемии

Для изучения патогенеза ПВР используется экспериментальное моделирование этого патологического процесса. Описаны модели ПВР после введения в стекловидное тело культуры клеток дермальных фибробластов, активированных макрофагов, тромбоцитов, клеток из культуры РПЭ [191, 196, 236, 257, 312, 318, 319, 446]. Выявление ПВР при этих видах моделирования в отдельных случаях не соответствует патогенетическим особенностям данного процесса, как, например, при моделировании с дермальными фибробластами, в других — результаты весьма нестабильны. Кроме того, в большинстве моделей ПВР в качестве ведущего патогенетического фактора используются клетки, изначально

играющие важную роль в процессах пролиферации (фибробласты, активированные макрофаги) [257, 312, 318, 319].

Следует также отметить, что моделирование ПВР осуществляется на интактных экспериментальных животных. Однако начальные этапы развития фиброваскулярной ткани в полости глазного яблока во многом определяются этиопатогенетическими особенностями основного заболевания, осложнившегося пролиферативным синдромом.

Все это послужило основанием для создания новой экспериментальной модели ПВР, основанной на индукции патологического процесса интравитреальным введением мононуклеаров крови, в условиях нормо- и гипергликемии.

Выполнена серия экспериментов на 60 половозрелых крысах-самцах породы Wistar с первоначальной массой 200-250 г, полученных из вивария Сибирского Государственного Медицинского Университета (СибГМУ). Перед экспериментом всех животных выдерживали на протяжении двухнедельного карантинного срока в условиях вивария на обычном пищевом рационе.

В первой серии экспериментов у животных 1-й группы (n=25) воспроизвели оригинальную модель ПВР посредством одномоментного введения мононуклеаров крови в стекловидное тело (патент РФ на изобретение № 2182369 от 10.05.2002 г.). Под эфирным наркозом каждому животному выполнялись интравитреальные инъекции: через плоскую часть цилиарного тела в один глаз вводилось 0,05 мл изотонического раствора хлорида натрия, содержащего мононуклеары из расчета $3,0 \cdot 10^6 / \text{мм}^3$, во второй глаз для контроля вводилось 0,05 мл изотонического раствора хлорида натрия. Мононуклеары, взятые из крови экспериментального животного, выделяли с помощью градиента фикоколл-верографин [132].

Процедура выделения мононуклеаров проводилась на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) СибГМУ (директор – д.м.н., профессор А. Н. Байков), в отделе иммунологии, в группе культуры тканей.

Предварительно готовилась смесь из 12 частей 9% фиколла и 5 частей 33,9% верографина с плотностью 1,067-1,077 г/мл. Кровь, полученная от животного, разбавлялась в 2 раза физиологическим раствором. Полученная суспензия наслаивалась на 3 мл смеси фиколла-верографина. Соотношение объемов градиента и разделяемой суспензии составляло 1:3 – 1:4. Пробы центрифугировали при комнатной температуре в течение 15 мин при 800 g (2000 об/мин). После центрифугирования интерфазный слой, содержащий моноклеары и располагающийся между плазмой и градиентом, забирался пастеровской пипеткой. Добавлялся 1,0 мл физиологического раствора, и полученная суспензия вновь центрифугировалась в течение 7 мин при 400 g (1500 об/мин) для отмывания полученных моноклеаров. Чистота моноклеаров, полученных на градиенте фиколл-верографин, составила 96-98%.

Во второй серии экспериментов у животных 2-й группы (n=25) предварительно моделировали сахарный диабет. В качестве основного конструкта экспериментальной модели сахарного диабета выбран аллоксан, являющийся уреидом мезоксалевой кислоты и его диабетогенное действие связано с повреждением β -клеток поджелудочной железы [221].

Сахарный диабет воспроизведен после 24 ч голодания путем внутривентрального введения аллоксана в дозе 15,0 мг/100 г веса. Критерием тяжести заболевания служили уровень гипергликемии, потеря массы тела, выраженность полиурии, полифагии. Уровень глюкозы в крови экспериментальных животных определялся орто-толуидиновым методом 1 раз в 1 неделю на базе ЦНИЛ СибГМУ, в отделе биохимии. Инсулин животные не получали. С целью контроля проводилась непрямая офтальмоскопия 1 раз в 2 недели. Общая продолжительность эксперимента составила 9 недель.

Через 6,5 недель после введения аллоксана и развития экспериментального сахарного диабета у животных воспроизводили модель ПВР, аналогичную таковой у животных 1-й группы.

В качестве контроля использовали 10 интактных животных, которых содержали в идентичных с экспериментальными животными условиях вивария. Средний уровень глюкозы в крови у них составил 5,0-6,0 ммоль/л.

В ходе экспериментов проводилась непрямая офтальмоскопия на 1, 3, 5, 7, 14 и 21 сутки после инъекции в условиях медикаментозного мидриаза (инстилляции S. Тropicamidi 1%). После каждой офтальмоскопии, за исключением 1-х суток, под эфирным наркозом декапитировали по 5 животных из экспериментальных групп и по 2 животных из контрольной группы. Выполнялась энуклеация обоих глаз.

Все исследования во время экспериментов и взятие материала осуществляли в одно и тоже время суток – с 10 до 12 часов.

2.2.2. Метод культивирования клеток *in vitro* в изучении патогенеза пролиферативной витреоретинопатии

Методы культивирования клеток *in vitro* в настоящее время все более широко применяются для изучения биологических и структурных особенностей клеток, формирующих периретинальные пролиферативные мембраны [251, 300, 324, 337, 419]. Установлено, что клетки РПЭ экспрессируют хемоаттрактанты и митогенные факторы, которые способствуют миграции и пролиферации как самих клеток РПЭ, так и глиальных клеток, макрофагов, фибробластов [251, 253]. Весьма важным наблюдением в условиях культивирования *in vitro* является также обнаружение способности клеток РПЭ к метоплазии [324, 453].

Культивирование изучаемых клеток осуществляют в культуральной посуде, выполненной из стекла или пластика и заполненной питательной средой [2, 44, 94]. Инкубирование клеточной культуры выполняют при строгом соблюдении температурного режима (37°C), содержания CO₂ (5-7%) и уровня влажности (100%).

Однако возможности такого способа культивирования ограничены, поскольку изучаемые клетки помещают в среду, содержащую все необходимые

для их жизнеобеспечения компоненты, но все же лишь в незначительной степени воспроизводящей естественные условия организма (в данном случае – полость глазного яблока).

Нами впервые разработано оригинальное устройство, позволяющее *in vitro* моделировать движение питательной среды, сходное с движением жидкости в полости глазного яблока (патент РФ на изобретение № 2221039 от 10.01.2004 г.). Устройство (рис.1) представляет собой замкнутую систему с камерой (2), в которой находится полупроницаемый фильтр (3). Система предварительно заполнялась с помощью емкости (1) питательной средой, содержащей 80% среды McCoу 5А, 20% эмбриональной телячьей сыворотки и гентамицин (из расчета 0,02 мл на 10,0 мл среды).

В качестве объекта исследования были выбраны моноклеарные клетки периферической крови человека, обладающие функциональной полипотентностью и играющие важную роль в патогенезе ПВР [118, 185, 235, 270, 278]. Кровь, взятую из локтевой вены здорового донора-добровольца в количестве 4,0-5,0 мл, помещали в стерильную пробирку, содержащую 1,0 мл раствора гепарина. Гепаринизированную кровь разводили в 2 раза физиологическим раствором хлорида натрия. Моноклеары выделяли с помощью градиента фико-колл-верографин по описанной выше методике. Полученные методом фракционирования клетки доводили питательной средой до конечной концентрации $3 \cdot 10^6$ нуклеаров/мл.

Клеточный материал вводили в камеру (2) с помощью шприца через клапанное отверстие (4) в ее боковой части. Камера (2) соединялась с емкостью (1), содержащей питательную среду, через роликовый насос (6), снабженный поддерживающим клапаном (7), например, аппарат «Аспиратор – 01» (5).

После включения роликового насоса (6) в сеть в замкнутой системе благодаря его работе создавалось равномерное направленное движение питательной среды со скоростью 2,1-2,4 мм³/мин.

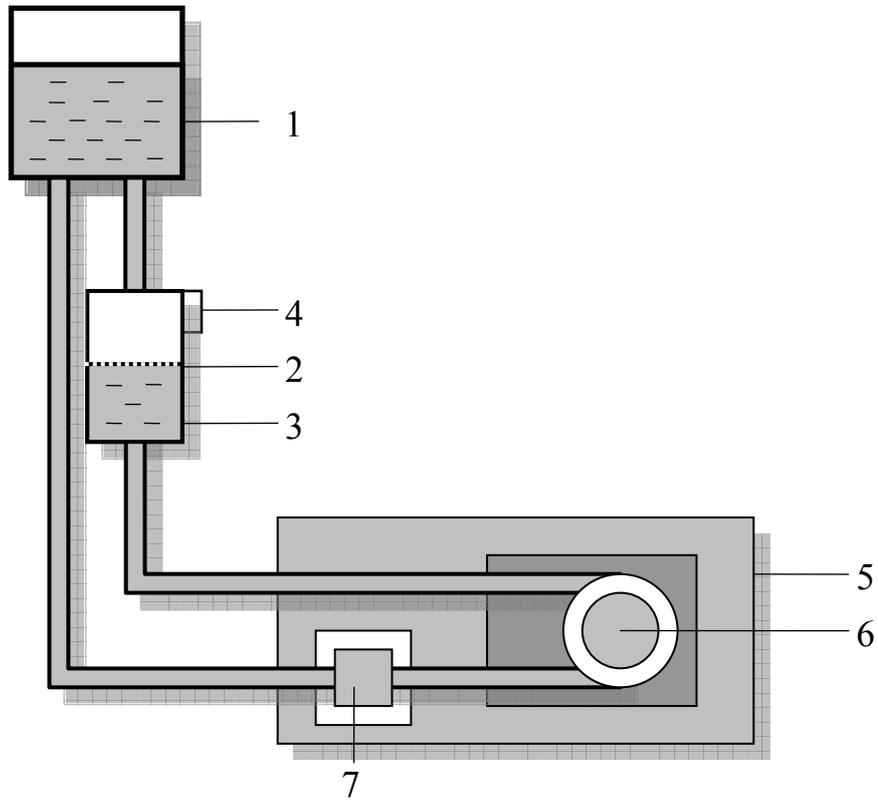


Рис. 1. Устройство для культивирования мононуклеаров крови *in vitro*.

1 – емкость с питательной средой, 2 – камера, 3 – полупроницаемый фильтр, 4 – клапанное отверстие, 5 – аппарат «Аспиратор-01», 6 – роликовый насос, 7 – поддерживающий клапан

Первичную клеточную культуру инкубировали при постоянном движении жидкой питательной среды с соблюдением условий культивирования.

В качестве контроля изучаемые клетки культивировали на полупроницаемом фильтре, помещенном в чашку Петри с необходимой питательной средой, при строгом соблюдении температурного режима (37° С), содержания CO₂ (5-7%) и уровня влажности (100%).

Длительность культивирования составила 24, 48 и 72 часа. По окончании экспериментов клеточный материал, находящийся на полупроницаемом фильтре, исследовали с помощью цитохимических методов. Просмотр и фотографирование клеточного материала производили с помощью рабочего места морфолога, включающего персональный компьютер IBM PC Pentium, цифровой фотоаппарат EPSON и микроскоп фирмы Karl Zeiss-Yena.

2.3. Клинические исследования

Клинический раздел научно-исследовательской работы выполнен на базе офтальмологической клиники СибГМУ. Материалом исследований служили образцы периретинальных мембран, полученные в ходе трансцилиарной витректомии у 65 пациентов с ПВР различной этиологии.

Распределение больных по основным группам заболеваний, течение которых осложнилось развитием фиброваскулярной ткани, представлено следующим образом:

- диабетическая пролиферативная витреоретинопатия – 22 больных. Из них у 14 человек был сахарный диабет I типа, у 8 человек – сахарный диабет II типа. При этом давность заболевания составляла 17-20 лет у больных сахарным диабетом I типа и 20-25 лет у больных сахарным диабетом II типа. Все обследованные пациенты находились в фазе субкомпенсации.
- регматогенная отслойка сетчатки, осложненная ПВР – 22 больных.
- центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия – 21 человек.

Обследование органа зрения всем больным проводили по общепринятой методике. В комплекс обследования входили: визометрия, периметрия, биомикроскопия переднего отрезка глаза, обратная бинокулярная офтальмоскопия, тонография, электроокулография, эхобиометрическое исследование.

Визометрия проводилась по стандартной методике с использованием таблиц Сивцева-Головина, при остроте зрения меньше 0,1 – с помощью счета пальцев на разном расстоянии, при светоощущении – с использованием источника света для определения светопроекции.

Периметрия проводилась на полусферическом периметре объектом белого цвета величиной 1 см в диаметре. Данные, полученные по 8 меридианам, суммировались.

Для осмотра переднего отрезка глаза применялась щелевая лампа ЩЛ-2 и щелевая лампа фирмы Karl Zeiss – Yena. Биомикроскопия проводилась согласно методикам, описанным Н. Б. Шульпиной [219].

Осмотр заднего отрезка глаза проводился с помощью налобного бинокулярного офтальмоскопа с линзой +20,0 Д. Обратная офтальмоскопия выполнялась (при необходимости – со склерокомпрессией) в условиях медикаментозного мидриаза. В качестве мидриатиков использовались: S. Tropicamidi 1%, S. Mesatoni 1%.

В случаях помутнения прозрачных сред глаза и невозможности проведения офтальмоскопии, для оценки состояния внутриглазных структур использовался ультразвуковой эхоофтальмоскоп ЭОС-22.

Электроокулографическое исследование проводилось по стандартной методике [206]. Активные электроды накладывали на кожу височного и носового углов глазной щели. При изменении световых условий и повороте глаз (+/- 20° от центрального положения взора) в горизонтальном направлении при неподвижной голове регистрировали постоянный потенциал сетчатки.

Определяя амплитуду светового подъема (световой пик – A_C) и амплитуду темнового спада (A_T), рассчитывали коэффициент Ардена (КА) по формуле:

$$КА = A_C / A_T \times 100\%$$

Техника витрэктомии

Операция проводилась с помощью офтальмологического операционного микроскопа «МИКОФ» (ЛОМО, с X-Y системой позиционирования). После подготовки глаза к операции (ретробульбарная анестезия 4% раствором новокаина – 5,0 мл; инстилляций в конъюнктивальную полость 0,5% раствора дикаина; субконъюнктивальное введение 1% раствора мезатона до 0,5 мл в области лимба) конъюнктура отрезалась от лимба. При необходимости наложения эписклерального циркуляжа проводилась тотальная отсепаровка конъюнктивы от лимба с послабляющими разрезами на 10 и 4 часах. Для проведения витрэктомии без циркуляжа конъюнктура отрезалась секторально с 10 до 2 часов. На прямые мышцы накладывались уздечные швы. В плоской части цилиарного тела, в 3,5-4 мм от лимба, в косых меридианах в верхне-назальном или в верхне-темпоральном квадранте осколком лезвия проводилась склеротомия. Над разрезом склеры накладывался П-образный шов моноволоконной нитью 6-0 для фиксации инфузионной канюли. Перфорация подлежащей плоской части цилиарного тела и базисных слоев стекловидного тела проводилась с помощью высокочастотного моноэлектродного офтальмокоагулятора отечественного производства прямолинейным наконечником. Вторую склеротомию для введения инструмента осуществляли в другом верхнем косом меридиане.

При выполнении витрэктомии на факичных глазах, в случаях катарактальных изменений проводили удаление хрусталика различными методами, в зависимости от возраста пациента и твердости хрусталикового ядра.

Для проведения витрэктомии использовали витреотом гильотинного типа с пневмоприводом ОСУТОМ 8000 под контролем бинокулярной офтальмоскопии с линзой +20,0 Д. В связи с тяжелыми формами ПВР выполнялась преиму-

щественно тотальная витрэктомия с максимально возможным удалением эпиретинальных мембран. Проведение витрэктомии и расправление сетчатки осуществлялось с инфузией стерильного воздуха под давлением 50-60 мм рт. ст. Субретинальную жидкость выводили сифонной канюлей трансцилиарно, через имеющийся ретинальный разрыв либо через дополнительно выполненное ретинотомическое отверстие в верхне-темпоральном или верхне-назальном квадранте.

Освобождение задних отделов сетчатки от стягивающей ее пролиферативной ткани проводилось с помощью витреотома, для рассечения эпиретинальных мембран использовались цанговые ножницы, пинцеты и инъекционная игла с загнутым под углом 90 градусов концом. С помощью такого микрокрючка в области диска зрительного нерва или в центре фиксированной складки проводился захват мембраны и отделение ее от сетчатки. При повышенной плотности и более прочной фиксации к подлежащей сетчатке проводили расслаивание кончиком инъекционной иглы, располагая его параллельно поверхности сетчатки. При нерасправляемых ретинальных складках, грубо измененной, утолщенной и ригидной сетчатке проводили локальную послабляющую ретинотомию. Протяженность ретинотомии определялась визуально, по степени освобождения натянутой сетчатки. Ретинотомию проводили с помощью диатермокоагулятора.

После достижения прилегания сетчатки, для формирования хориоретинальной спайки проводилась интраокулярная диатермокоагуляция края разрыва, отрыва или ретинотомии либо транссклеральная криопексия криокоагулятором AMOILS OPHTHALMIC CRYO UNIT «ACU-12». После наложения узлового шва на склеротомическое отверстие, через подшивную ирригационную канюлю вводился жидкий силикон до полного выхода воздуха из витреальной полости. На конъюнктиву склеры накладывалось два узловых шва в местах послабляющих разрезов. Субконъюнктивально вводился антибиотик.

2.4. Морфофункциональные исследования

2.4.1. Гистологические методы

Гистологические исследования выполнены на кафедре гистологии и эмбриологии СибГМУ (зав. – д.м.н., профессор С. В. Логвинов).

Подготовка материала для световой микроскопии

В качестве фиксирующей смеси использовалась жидкость Карнуа, которая готовилась непосредственно перед применением. В ее состав входят: спирт 96% – 6 частей, хлороформ – 3 части, ледяная уксусная кислота – 1 часть. Кусочки материала помещались в жидкость Карнуа и фиксировались в течение 2 часов на холоде. Далее материал обезвоживался в спиртах увеличивающейся концентрации: сначала 3 смены в 96% спирте по 2 часа каждая, затем 2 часа в абсолютном спирте. Обезвоженные и уплотненные кусочки материала перекладывались из абсолютного спирта в смесь спирта с толуолом (1:1) на 2-3 часа, а потом в чистый толуол – по 2 смены на протяжении 2-4 часов до просветления материала. Затем объекты помещались в смесь из равных частей толуола и мягкого парафина, где находились при 37° С в течение 2-3 суток. После этого материал переносился в расплавленный чистый парафин и помещался в термостат, где находился при температуре 56° С в течение 2 часов. Далее материал помещался в парафин-воск на 2 часа в термостат при 56° С. По прошествии 2 часов проводили ориентирование препаратов в парафине с помощью подогретого металлического шпателя, а затем помещали в холод на ночь.

На следующий день из затвердевшего парафина скальпелем вырезались четырехугольные блоки, таким образом, чтобы каждый объект со всех сторон был окружен слоем парафина толщиной 1-3 мм. Полученные парафиновые блоки наклеивались на деревянные кубики.

Для приготовления парафиновых срезов использовался санный микротом. Толщина срезов – 5-6 мкм. Парафиновые срезы наклеивались в расправленном положении на предварительно подготовленные предметные стекла. На

тщательно очищенную поверхность предметного стекла стеклянной палочкой помещалась капля раствора белка с глицерином (1:1) и растиралась до получения равномерного слоя.

Расправление и наклеивание парафиновых срезов на предметные стекла осуществлялось влажным способом. На стекло с помощью пипетки наносили несколько капель дистиллированной воды и получали плавающие срезы. Затем стекло осторожно подогревали над спиртовкой, что обеспечивало полное расправление срезов. После этого удаляли излишнюю воду, предметные стекла со срезами перекладывали в термостат при 37°C на 1-2 суток.

Методы окрашивания препаратов

Окрашивание гематоксилин-эозином

Предварительная обработка парафиновых срезов заключалась в депарафинизации, для чего использовался толуол – промывание в течение 10 мин. Затем срезы обрабатывали 96% спиртом – 3-5 капель, после чего предметные стекла с наклеенными срезами промывали в дистиллированной воде. Далее, после удаления излишков влаги вокруг срезов, на них помощью пипетки накапывали раствор гематоксилина до полного покрытия препаратов. Через 5-7 мин. красящий раствор с предметных стекол сливали и помещали их в дистиллированную воду на 30 мин. с целью дифференцировки. После промывки удаляли излишнюю влагу с предметных стекол и наносили раствор эозина – экспозиция 1-2 мин. Затем краситель сливали и срезы вновь обрабатывали 96% спиртом. Для просветления срезов предметные стекла помещали в толуол на 10 мин. После извлечения из толуола на срезы наносили каплю канадского бальзама и закрывали покровным стеклом.

Окрашивание по методу Браше

Перед выполнением реакции готовился рабочий раствор – раствор Унна – Папенгейма, в состав которого входит 0,15 г метиленового зеленого, 0,25 г пи-

ронина, 2,5 мл спирта 96%, 20 мл глицерина в 100 мл 0,5% раствора карболовой кислоты.

Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм депарафинизировали в толуоле в течение 20 мин., затем споласкивали в спирте и помещали в дистиллированную воду на 20 мин. После высушивания фильтровальной бумагой предметные стекла со срезами помещали в раствор Унна-Папенгейма – экспозиция 30 мин. Далее быстро ополаскивали в дистиллированной воде, затем – спирте, и вновь помещали в толуол на 20 мин. После извлечения из толуола на срезы наносили каплю канадского бальзама и закрывали покровным стеклом.

Окрашивание по методу ван Гизона

Гематоксилин Вейгерта готовился непосредственно перед окрашиванием смешиванием равных объемов основных растворов Вейгерта (первого и второго).

Первый раствор Вейгерта: в 100 мл 96% спирта растворялся 1,0 г гематоксилина; второй раствор: 4,0 мл 29% раствора хлорида железа сливали с 1,0 мл крепкой хлористоводородной кислоты и добавляли 95 мл дистиллированной воды. При смешивании растворов приливали второй раствор к первому.

Раствор пикрофуксина: к 100 мл насыщенного водного раствора пикриновой кислоты прибавляли 5-10 мл 1% водного раствора кислого фуксина.

Из дистиллированной воды срезы переносили в гематоксилин Вейгерта на 2-5 мин., затем ополаскивали в дистиллированной воде и помещали в водопроводную воду на 10 мин. После срезы переносили в пикрофуксин на 1-2 мин., быстро (5-10 с) споласкивали в дистиллированной воде и очень быстро проводили их через 96% спирт. Затем срезы просветляли в ксилоле 5-10 мин. и заключали в канадский бальзам.

Подготовка материала для электронной микроскопии

Полученный материал с целью фиксации помещался в 2,5% раствор глутаральдегида, забуференного на 0,2 М какодилатном буфере (pH=7,4) на 4 часа.

Затем материал перекладывали в свежую смесь глутаральдегида и какодилатного буфера и держали на холоду в течение 1 часа. После этого материал отмывали буфером 15 мин и фиксировали в 2% растворе четырехокси осмия на холоду на протяжении 3 часов. Далее материал вновь отмывали в буфере – 2 смены по 10 мин.

Кусочки зафиксированной и промытой ткани проводили через батарею спиртов восходящей концентрации в следующем режиме: спирт 30% – 5 мин., спирт 50% – 10 мин., спирт 70% – на ночь, спирт 80% – 5 мин., спирт 96% – 5 мин.

Далее материал помещали в 100% раствор пропиленоксида – 2 смены по 15 мин.

Для пропитывания кусочки материала помещали в смесь раствора пропиленоксида и эпона в соотношении 1:1 на 1 час, а затем переносили в смесь раствора пропиленоксида и эпона в соотношении 1:3 на 12 часов.

Для заливки готовилась смола по следующей схеме:

смола = смесь А + смесь В (в соотношении 4:1) + 2% раствор катализатора

смесь А = эпон 812 (62 мл) + эпон DDSA (100мл)

смесь В = эпон 812 (100 мл) + эпон MNA (89 мл)

Заливку смолы проводили в капсулы, предварительно просушенные в термостате. Пропитанные смолой кусочки материала с помощью тонкого пинцета раскладывали по одному в каждую капсулу, после чего капсулы помещали в термостат для полимеризации при температуре 56°C на 24 часа.

С помощью ультратома LKB-4 (Швеция) готовили полутонкие и ультратонкие срезы. Просмотр и фотографирование полутонких срезов производили на световом микроскопе «Люмам И1». Ультратонкие срезы помещали на медные сетки, осмированные препараты изучали в электронном микроскопе JEM-7A.

Окрашивание полутонких срезов

Использовался 0,5% водный раствор толуидинового синего. Срезы, помещенные на предметное стекло, покрывали 2-3 каплями 96% раствора этилового спирта и фиксировали в пламени спиртовки до полного его испарения. На фиксированные срезы наносили 2-3 капли толуидинового синего и прогревали над пламенем спиртовки 3-5 секунд, после чего промывали проточной водой.

2.4.2. Цитохимические методы

Цитохимические методы исследования выполнены на базе ЦНИЛ СибГМУ, в отделе гематологии.

Окрашивание на α -Нафтил-AS- ацетатэстеразу

Клеточный материал, находящийся на фильтре, высушивали на воздухе и фиксировали в парах формалина в течение 30 секунд.

Реактив готовился непосредственно перед окрашиванием: в 5,0 мл 50% раствора ацетона растворяли 100 мг α -нафтил-AS-ацетата, и добавляли 5,0 мл дистиллированной воды. Затем в 50 мл дистиллированной воды, содержащей 5,0 мл фосфатного буфера (рН=8,8), добавляли 1,0 мл α -нафтил-AS-ацетата и 25 мг синего прочного. Перемешивали и фильтровали в темноте на холоду.

Несколько капель реактива наносили на просушенный препарат. Фильтр с клеточным материалом помещали на предметное стекло и инкубировали в термостате в течение 2 часов при 37° С и 100% влажности.

После извлечения из термостата препарат осторожно ополаскивали дистиллированной водой, высушивали на воздухе. Затем докрашивали раствором азура в течение 10 секунд и закрывали покровным стеклом.

Окрашивание на α -Нафтил-AS- ацетатэстеразу с ингибированием фторидом натрия

Реактив готовился непосредственно перед окрашиванием: в 5,0 мл 50% раствора ацетона растворяли 100 мг α -нафтил-AS-ацетата, и добавляли 5,0 мл дистиллированной воды. Затем в 50 мл дистиллированной воды, содержащей 5,0 мл фосфатного буфера (рН=8,8), добавляли 1,0 мл α -нафтил-AS-ацетата, 25 мг синего прочного и фторид натрия из расчета 1,5 мг на 1,0 мл буфера. Перемешивали и фильтровали в темноте на холоду.

Клеточный материал, находящийся на фильтре, высушивали на воздухе и фиксировали в парах формалина в течение 30 секунд. Несколько капель реактива наносили на просушенный препарат. Фильтр с клеточным материалом помещали на предметное стекло и инкубировали в термостате в течение 2 часов при 37°C и 100% влажности.

Извлеченный из термостата препарат осторожно ополаскивали дистиллированной водой, высушивали на воздухе. В течение 10 секунд докрашивали раствором азура и закрывали покровным стеклом.

Окрашивание на щелочную фосфатазу

Перед выполнением реакции готовился рабочий раствор – к 10 мл 0,1% раствора нафтол-AS-фосфата добавляли 9,5 мл 0,1 М трис-буфера (рН=8,5), 10 мг гранатового прочного и 0,2 мл 11,9% раствора $MgSO_4$.

Высушенный препарат фиксировали в парах формалина в течение 30 секунд. Рабочий раствор наносили на препарат. Далее фильтр с клеточным материалом помещали на предметное стекло и инкубировали в термостате в течение 50 минут при 28°C.

После извлечения из термостата препарат осторожно ополаскивали дистиллированной водой, высушивали на воздухе. Затем докрашивали раствором азура в течение 15 секунд и закрывали покровным стеклом.

Морфометрический анализ

На полутонких срезах внутренних оболочек глаз экспериментальных животных, окрашенных 0,5% раствором толуидинового синего, производили подсчет нейросенсорных клеток с кариопикнозом на 1000 фоторецепторов с каждой сетчатки. Определяли количество слоев и плотность распределения ядер в наружном ядерном слое сетчатки.

В пролиферативных мембранах производили подсчет фибробластов и новообразованных сосудов. Подсчет производили в окулярной рамке на площади 900 мкм² при увеличении 10×90.

На срезах пролиферативных периретинальных мембран, взятых в ходе оперативного вмешательства у больных ПВР различной этиологии, определяли процент фибробластов, макрофагов, лимфоцитов.

Определение оптической плотности адгезированных клеток методом компьютерной морфометрии цифровых изображений

Методику применяли для выявления количественных параметров адгезированных к фильтру мононуклеарных клеток посредством измерения их оптических характеристик [101, 223].

Вычисляли плотность объекта (условные единицы оптической плотности – у.е.о.п.) при помощи программы Adobe PhotoShop 6.0 согласно статистике серых уровней с выделением области интересов, состоящей из блоков с фиксированной площадью.

Интегральный коэффициент отражения:

$$R_{R,G,B}=S_{R,G,B}/W_{R,G,B},$$

где S – яркость тестируемого участка, W – яркость белого стандарта (255).

Значения нормировали по фону:

$$X_R=R_T/R_\Phi,$$

где R_T – коэффициент отражения ткани, R_Φ – коэффициент отражения фона.

Оптическая плотность объекта:

$$D = 100 \lg (1/X_R)$$

2.5. Статистический анализ

Цифровой материал обработан общепринятыми методами статистики [99]. Поскольку полученные эмпирические данные не соответствовали закону нормального распределения (метод Колмогорова-Смирнова), для оценки достоверности различий при сравнении средних величин были использованы непараметрические критерии: U-критерий Манна-Уитни (p_U) и T-критерий Уилкоксона (p_T). Статистическая обработка проведена при помощи программы STATISTICA for Windows Release 4.3. на компьютере IBM PC Pentium.

ГЛАВА 3

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ В УСЛОВИЯХ НОРМО- И ГИПЕРГЛИКЕМИИ

3.1. Динамика развития пролиферативной витреоретинопатии в эксперименте при интравитреальном введении моноклеаров крови

При проведении непрямой офтальмоскопии у подопытных животных, которым была выполнена интравитреальная инъекция моноклеаров, выявлены следующие изменения. На 3-и сутки после введения клеточной взвеси у всех животных в центральных отделах стекловидного тела отмечены локальные, малоподвижные помутнения серовато-белого цвета, сетчатка не изменена. На 5-7-е сутки офтальмоскопия была затруднена из-за ограниченных фиксированных помутнений в стекловидном теле. На 14-е сутки у 3 животных отмечено помутнение задних отделов хрусталика, препятствующее офтальмоскопии; в глазах остальных животных (подопытных крыс) обширное, грубое, фиксированное помутнение в преретинальных и центральных отделах стекловидного тела, что затрудняло оценку состояния сетчатки. На 21-е сутки у всех животных рефлекс с глазного дна отсутствовал из-за развития катаракты. В контрольных глазах с инъекцией изотонического раствора хлорида натрия изменений не выявлено.

При подготовке материала для гистологических исследований макроскопически в глазах с введенными моноклеарами, начиная с 14-х суток, обнаружены признаки субатрофии органа зрения (у 3 животных передне-задний размер составил 5-6 мм, в норме – 7-8 мм). На 21-е сутки во всех экспериментальных глазах у подопытных крыс отмечена субатрофия (передне-задний размер около 4 мм).

В ходе морфологических исследований глаз с введенными моноклеарами выявлены следующие изменения.

На 3-и сутки после интравитреальной инъекции в стекловидном теле обнаруживаются многочисленные клетки мононуклеарного ряда с типичным строением ядра и цитоплазмы. Многие мононуклеары вступают в контакт с сетчаткой (рис. 2), где они располагаются в большом количестве. В слое нервных волокон, по ходу артерий и вен наблюдается клеточная инфильтрация. В стекловидном теле среди мононуклеаров обнаруживаются клетки веретенообразной формы с овальным или продолговатым ядром. Цитоплазма описываемых клеток обладает умеренной пиронинофилией (рис. 3). Строение стекловидного тела заметно изменено. В нем выявляются оксифильные, фибриллярные структуры, не обладающие фуксинофилией. Вероятно, имеет место денатурация белков стекловидного тела. В некоторых участках стекловидного тела выявляются нейтрофильные лейкоциты. Сетчатка сохраняет связь с хориоидеями, отслойки не обнаружено.

На 5-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров начинаются процессы образования соединительнотканых волокон, наиболее отчетливо выраженные в области слепой части сетчатки. Различной толщины оксифильные волокна формируют сеточку. В ней, наряду с мононуклеарами, обнаруживаются фибробластоподобные клетки отростчатой формы с базофильной цитоплазмой (рис. 4). Формирование интравитреальных шварт, местами контактирующих с сетчаткой, наблюдается и в других отделах заднего полюса. Отмечаются изменения сосудов сетчатки. Они проявляются в виде пролиферации эндотелия артерий и вен, периваскулярной клеточной инфильтрации. Весьма выражены изменения хориоидеи, в которую выселяются многочисленные мононуклеары.

На 7-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови значительная их часть имеет вакуолизированную цитоплазму. Более многочисленными становятся фибробласты, формируются витреоретинальные шварты (рис. 5). Описываемые клетки имеют отростчатую и веретенообразную форму, базофильную и пиронинофильную цитоплазму, крупные ядрышки в кардио-

плазме, то есть типичное строение для фибробласта. В швартax обнаруживаются также мононуклеары и отдельные нейтрофильные лейкоциты. Нарастают дегенеративные изменения в стекловидном теле. Появляются различной толщины оксифильные волокнистые образования (рис. 6). По краю сетчатки выявляются новообразованные гемокапилляры, просвет которых заполнен эритроцитами. Вблизи них идет активное волокнообразование, выявляются клетки фибробластического ряда.

На 14-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови сформированы витреоретинальные шварты, местами с локальной тракционной отслойкой сетчатки (рис. 7). Из клеточных элементов в швартax преобладают зрелые фибробласты со всеми характерными для них морфологическими особенностями (рис. 8). Обнаруживаются также многочисленные клетки мононуклеарного ряда. Наблюдается образование соединительнотканых волокон, встречаются новообразованные сосуды. Обнаруживаются кровоизлияния в стекловидное тело и сетчатку. Имеет место выраженная клеточная пролиферация по ходу артерий и вен сетчатки и явления ретинальной неоваскуляризации.

На 21-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови в стекловидном теле отмечены грубые фиброваскулярные шварты с тракционной отслойкой сетчатки (рис. 9), кровоизлияния в стекловидное тело и сетчатку.

Рис. 2. Макрофаг в наружном ядерном слое сетчатки на 3-и сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови. Электронная микроскопия; ув.6000.

Рис. 3. Многочисленные мононуклеары и единичные клетки фибробластического ряда с пиронинофильной цитоплазмой в стекловидном теле на 3-и сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови. Окраска по Браше; ув. 370.

Рис. 4. Мононуклеары (стрелки) и фибробласт (двойная стрелка) в стекловидном теле вблизи хрусталика, остов стекловидного тела уплотнен на 5-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови. Полу-тонкий срез; окраска толуидиновым синим; ув. 1200.

Рис. 5. Начальная стадия формирования витреоретинальной шварты, явления неоваскулогенеза по внутреннему краю сетчатки на 7-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

Рис. 6. Оксифильные массы, скопления мононуклеаров и соединительноткан-
ные волокна в стекловидном теле вблизи сетчатки на 7-е сутки после
интравитреального введения мононуклеаров крови. Окраска гематок-
силином и эозином; ув. 530.

Рис. 7. Витреоретинальная шварта с локальной тракционной отслойкой сетчатки на 14-е сутки после интравитреального введения моноклеаров крови. Окраска по Браше; ув. 130.

Рис. 8. Многочисленные фибробласты в области витреоретинальной шварты на 14-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

Рис. 9. Грубая соединительнотканная шварта в стекловидном теле на 21-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 300.

3.2. Динамика развития пролиферативной витреоретинопатии при интравитреальном введении моноклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета

Изменения уровня сахара в крови экспериментальных животных после внутрибрюшинного введения аллоксана представлены в табл. 1 и на рис. 10.

Таблица 1

Содержание глюкозы в сыворотке крови после введения аллоксана при моделировании экспериментального сахарного диабета, ммоль/л, \bar{X} , p_U

Группа крыс	Сроки эксперимента, недели			
	1	2	4	6
Экспериментальный сахарный диабет	19,21 p_0 n=25	22,63 p_0 n=25	23,27 p_0 n=25	23,91 p_0 n=25
Интактные животные	5,49 n=10	5,51 n=10	5,48 n=10	5,49 n=10

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,01$) при сравнении с показателями в группе интактных животных; n – количество крыс.

При непрямой офтальмоскопии, проводившейся подопытным животным с экспериментальным сахарным диабетом до интравитреального введения моноклеаров крови, не было отмечено изменений на глазном дне.

После введения клеточной взвеси при непрямой офтальмоскопии у животных с экспериментальным сахарным диабетом выявлены следующие изменения. На 3-и сутки после инъекции у всех крыс в центральных отделах стекловидного тела отмечены локальные помутнения серовато-белого цвета, сетчатка не изменена. На 5-7-е сутки офтальмоскопия была затруднена из-за ограничен

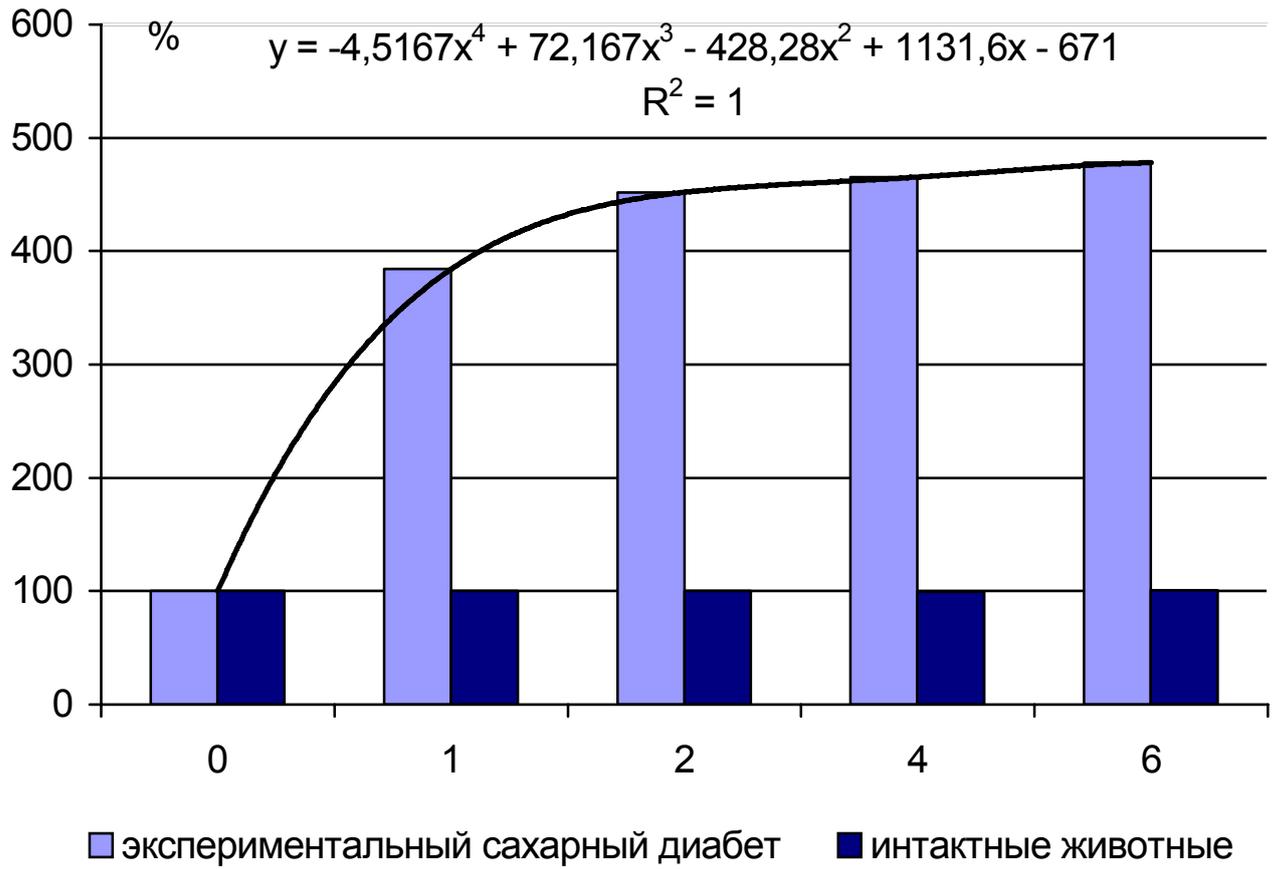


Рис. 10. Уровень гипергликемии в динамике развития экспериментального сахарного диабета.

По оси абсцисс – сроки эксперимента, недели; по оси ординат – уровень гипергликемии в % от фона (точка 0).

ных неподвижных помутнений в стекловидном теле. На 14-е сутки у 4 животных наблюдалось помутнение задних отделов хрусталика, препятствующее офтальмоскопии; в глазах остальных животных имело место обширное, грубое, фиксированное помутнение в преретинальных и центральных отделах стекловидного тела, что затрудняло оценку состояния сетчатки. На 21-е сутки у всех крыс рефлекс с глазного дна отсутствует из-за развития катаракты. В контрольных глазах с инъекцией изотонического раствора хлорида натрия изменений не выявлено. При взятии материала для гистологических исследований макроскопически в глазах с введенными моноклеарами, начиная с 14-х суток, обнаружены признаки субатрофии органа зрения (у 4 животных передне-задний размер составил 5-6 мм, в норме – 7-8 мм). На 21-е сутки – во всех экспериментальных глазах наблюдалась субатрофия (передне-задний размер около 4 мм).

В ходе морфологических исследований глаз у крыс с экспериментальным сахарным диабетом, которым была выполнена интравитреальная инъекция моноклеаров крови, выявлены следующие изменения.

На 3-и сутки после интравитреального введения клеточной взвеси в стекловидном теле обнаруживаются многочисленные элементы моноклеарного ряда с типичным строением ядра и цитоплазмы. Однако, некоторые из них подвержены выраженным изменениям, проявляющимся нарушениями тинкториальных свойств цитоплазмы и пикнозом ядра. Среди моноклеаров встречаются клетки веретенообразной и отростчатой формы. Они имеют овальное или продолговатое ядро и пиронинофильную цитоплазму. В стекловидном теле выявляется оксифильная фибриллярная структура. В сетчатке по ходу артерий и вен наблюдается клеточная инфильтрация. Часть фоторецепторов подвержена пикнотическим изменениям (рис. 11). Сетчатка сохраняет связь с хориоидеей, отслойки не обнаружено.

На 5-е сутки после интравитреального введения моноклеаров в стекловидном теле и преретинально начинаются процессы образования соединительнотканых волокон (рис. 12). Клеточные элементы представлены моноклеа-

рами и фибробластоподобными клетками. Интравитреально обнаруживаются новообразованные сосуды, исходящие из хориоидеи. В самой сетчатке, особенно в слое нервных волокон и ганглиозном слое, наблюдаются деструктивные нарушения в стенках венозных сосудов, сопровождаемые различной величины кровоизлияниями (рис. 13). Как и в предыдущие сроки, часть нейросенсорных клеток характеризуется пикнозом. Отмечается расслоение мембранных дисков в наружных сегментах фоторецепторов (рис. 14). Изменения внутренних сегментов характеризуются набуханием митохондрий, расширением цистерн эндоплазматической сети. В клетках пигментного эпителия наблюдается увеличение базальной складчатости, удлинение и утолщение апикальных отростков, активизация фагоцитарной активности (рис. 15).

На 7-е сутки после интравитреальной инъекции мононуклеаров крови среди обширных клеточных скоплений в стекловидном теле и преретинально значительно увеличивается количество фибробластов с типичной ультраструктурой (рис. 16). Утолщаются коллагеновые волокна, формируются витреоретинальные шварты (рис. 17). Прогрессируют дегенеративные изменения сетчатки. Это проявляется деструкцией нейросенсорных клеток и значительным очаговым истончением наружного ядерного слоя (рис. 18). Весьма интенсивно выражена пролиферация эндотелия ретинальных сосудов.

На 14-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови крысам с экспериментальным сахарным диабетом в результате слияния отдельных, изолированных преретинальных мембран формируется довольно мощная витреоретинальная шварта с локальной тракционной отслойкой сетчатки (рис. 19). Обнаруживаются крупные кровоизлияния в стекловидное тело и сетчатку (рис. 20), что связано с наличием новообразованных сосудов как в самой сетчатке, так и в шварте. Прогрессируют деструктивные изменения в сетчатке. Морфологически это выражается очаговым истончением наружного ядерного слоя и его выпадением (рис. 21), пикнозом сохранившихся нейросенсорных клеток, деструкцией в слое палочек и колбочек (рис. 22), резким расширением

субретинального пространства с отслойкой сетчатки. Наряду с указанным наблюдаются деструктивные процессы и в других слоях сетчатки, но они менее выражены.

На 21-е сутки после интравитреального введения моноклеаров крови обнаруживаются грубые изменения в виде массивных интравитреальных мембран, а также развитие преретинальной и интраретинальной фиброваскулярной ткани (рис. 23, 24). Хориоидея фиброзно изменена.

Рис. 11. Пикноз нейросенсорных клеток на 3-и сутки после интравитреального введения моноклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Электронная микроскопия; ув. 6000.

Рис. 12. Волокнообразование в стекловидном теле вблизи цилиарных отростков на 5-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

Рис. 13. Локальная деструкция стенки вены и кровоизлияние (стрелка) в слое нервных волокон сетчатки на 5-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

Рис. 14. Дискомплексация мембранных дисков наружных сегментов нейросенсорных клеток на 7-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Электронная микроскопия; ув. 5000.

Рис. 15. Гипертрофия отростков пигментных эпителиоцитов, увеличение количества фагосом на 5-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Электронная микроскопия; ув. 4000.

Рис. 16. Фибробласты отростчатой формы, образующие шварту в стекловидном теле вблизи слепой части сетчатки, на 7-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

Рис. 17. Общий вид соединительнотканной шварты в области слепой части сетчатки на 7-е сутки после интравитреального введения моноклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 130.

Рис. 18. Выраженное очаговое истончение наружного ядерного слоя (стрелки), клеточная инфильтрация по ходу сосудов сетчатки на 7-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

Рис. 19. Выраженная витреоретинальная шварт, состоящая из многочисленных клеток фибробластического ряда и соединительнотканых волокон, на 14-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 370.

Рис. 20. Массивное кровоизлияние в стекловидное тело и сетчатку, резкое истончение наружного ядерного слоя, пикноз фоторецепторов, расширение субретинального пространства на 14-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 300.

Рис. 21. Очаговое выпадение наружного ядерного слоя сетчатки, неоваскулогенез на 14-е сутки после интравитреального введения моноклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 370.

Рис. 22. Полная деструкция и выпадение слоя нейросенсорных клеток, гипертрофия пигментного эпителия (ПЭ) на 14-е сутки после интравитреального введения моноклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Полутонкий срез; окраска толуидиновым синим; ув. 1200.

Рис. 23. Грубая интравитреальная шварт на 21-е сутки после интравитреального введения моноклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 300.

Рис. 24. Массивная фиброваскулярная шварт в стекловидном теле на 21-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 300.

3.3. Сравнительный анализ морфогенеза экспериментальной пролиферативной витреоретинопатии в условиях нормо- и гипергликемии

Сравнительный анализ результатов непрямой офтальмоскопии у здоровых животных и крыс, больных сахарным диабетом, не выявил существенной разницы в динамике развития ПВР после интравитреальной инъекции моноклеаров крови.

При подготовке материала для гистологических исследований макроскопически отмечена субатрофия глаз с введенными моноклеарами у животных обеих групп (табл. 2).

Таблица 2

Выявление субатрофии глаз экспериментальных животных при моделировании пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) в условиях нормо- или гипергликемии

Группа крыс	Сроки эксперимента, сутки	
	14	21
ПВР в условиях нормогликемии	3 (60%)	5 (100%)
ПВР в условиях гипергликемии	4 (80%)	5 (100%)

Анализ результатов морфологических исследований позволил установить важные отличительные особенности ПВР в условиях нормо- и гипергликемии.

В первую очередь, обращает на себя внимание развитие деструктивных изменений в сетчатке у животных с экспериментальным сахарным диабетом до интравитреальной инъекции клеток. Спустя 6 недель после введения аллоксана (день 0), приводящего к развитию сахарного диабета, количество нейросенсорных клеток с пикнозом возрастает до 6,38% (контроль 2,0%; $p_U < 0,05$) (табл. 3).

В последующем, после интравитреального введения моноклеаров крови, деструктивные изменения в фоторецепторах прогрессируют как по скорости, так и по амплитуде (табл. 3, рис. 25).

Таблица 3

Динамика содержания (%) деструктивно измененных нейросенсорных клеток сетчатки в 1 мм² среза при моделировании пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) в условиях нормо- или гипергликемии, X, p_U

Группа крыс	Сроки эксперимента, сутки					
	0	3	5	7	14	21
ПВР в условиях нормогликемии	2,0	2,03	2,17	2,66	9,31	14,12
	n=25	n=25	n=25	n=25	n=25	n=25
ПВР в условиях гипергликемии	6,38	19,87	25,88	38,97	52,35	68,75
	n=25	n=25	n=25	n=25	n=25	n=25

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,05$) при сравнении с фоном (день 0); ($p_1 < 0,05$) при сравнении с показателями в группе крыс с ПВР в условиях нормогликемии; n – количество срезов сетчаток глаз, энуклеированных у подопытных животных.

Введение мононуклеаров крови в полость глазного яблока животных с экспериментальным сахарным диабетом статистически значимо ($p_T < 0,05$) увеличивает число деструктивных нейросенсорных клеток сетчатки (по сравнению со здоровыми крысами) на протяжении всего периода наблюдений. Более того, резко нарастает скорость и амплитуда накопления признака, особенно в ранние сроки (в 3-6 раз на 3-7-е сутки) по сравнению с данными у животных без диабета и фоном (до введения мононуклеаров) (табл. 3, рис. 25).

Наряду с изменениями нейросенсорных клеток, обнаруживаются прогрессирующее на протяжении всего эксперимента ($p_T < 0,05$) истончение наружного ядерного слоя (табл. 4, рис. 26) и его выпадение, гипертрофия и отек отростков радиальной глии (рис. 27), деструкция в слое палочек и колбочек (рис. 28).

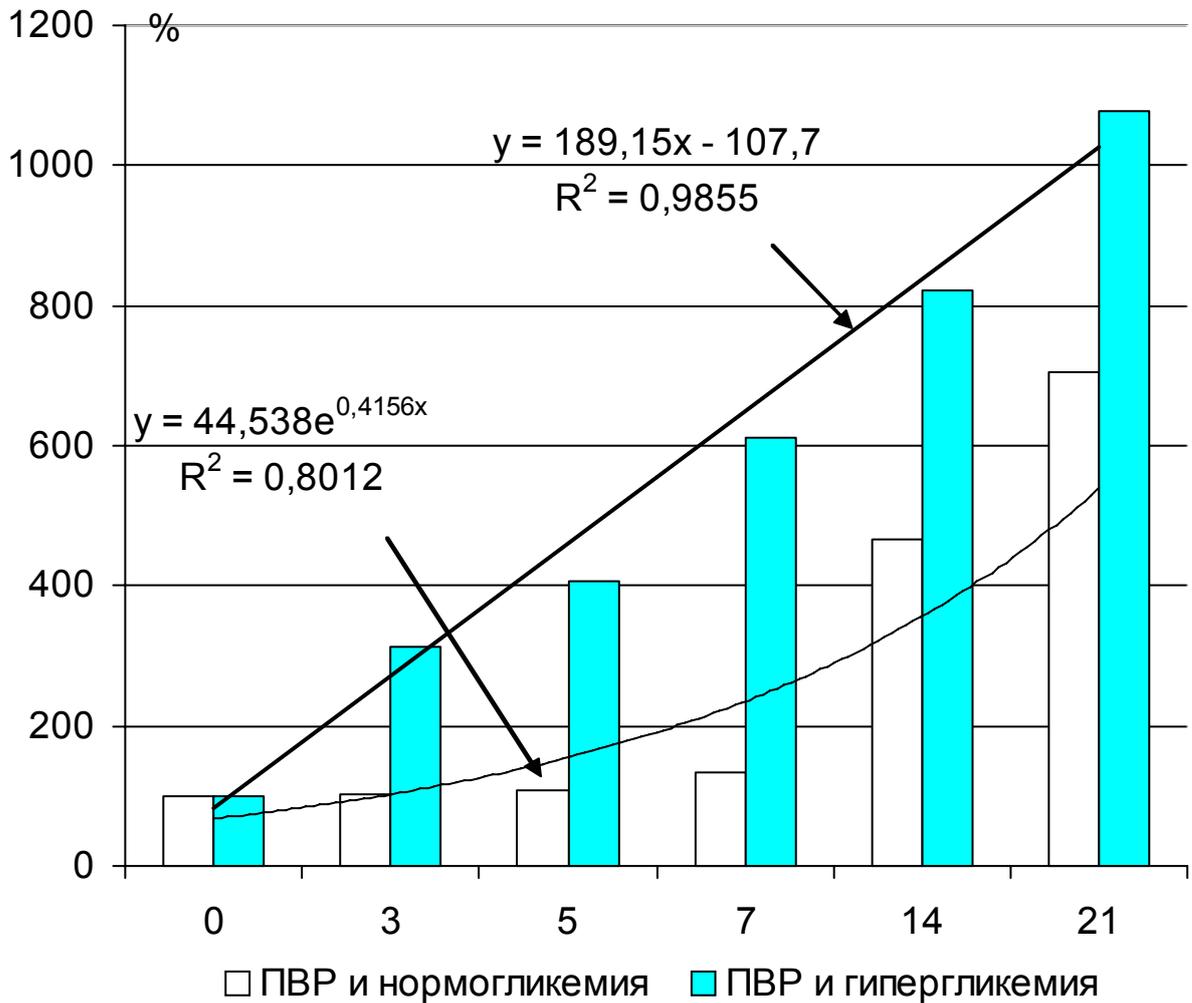


Рис. 25. Количество деструктивно измененных нейросенсорных клеток сетчатки в динамике развития пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) у здоровых животных и крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

По оси абсцисс – сроки эксперимента, сутки; по оси ординат – количество клеток в % от фона (день 0).

Отмечается резкое расширение субретинального пространства с локальной отслойкой сетчатки.

Таблица 4

Плотность ядер в наружном ядерном слое сетчатки в 1 мм² среза при моделировании пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) в условиях нормо- или гипергликемии, X, p_U

Группа крыс	Сроки эксперимента, сутки					
	0	3	5	7	14	21
ПВР в условиях нормогликемии	3491	3207	3101	3009	2829	2157
	n=25	p ₀ n=25				
ПВР в условиях гипергликемии	3032	2756	2423	2057	1554	1245
	n=25	p ₀ p ₁ n=25				

Примечание: статистически значимые различия отмечены (p₀<0,05) при сравнении с фоном (день 0); (p₁<0,05) при сравнении с показателями в группе крыс с ПВР в условиях нормогликемии; n – количество срезов сетчаток глаз, энуклеированных у подопытных животных.

Деструктивные процессы наблюдаются и в других слоях сетчатки, но они менее выражены, чем в нейросенсорных клетках.

У животных контрольной группы слои сетчатки имели обычную толщину (рис. 29). Пикнозу были подвержены лишь единичные нейросенсорные клетки (2,0%), ядра которых при этом смещены в субретинальное пространство. Численная плотность ядер в наружном ядерном слое сетчатки составляет 3491 в 1 мм² среза.

В ранние сроки после интравитреального введения мононуклеаров крови у животных обеих групп обнаруживаются также дегенеративные изменения стекловидного тела с образованием оксифильных фибриллярных структур. В них выявляются мононуклеары и фибробластоподобные клетки отростчатой и

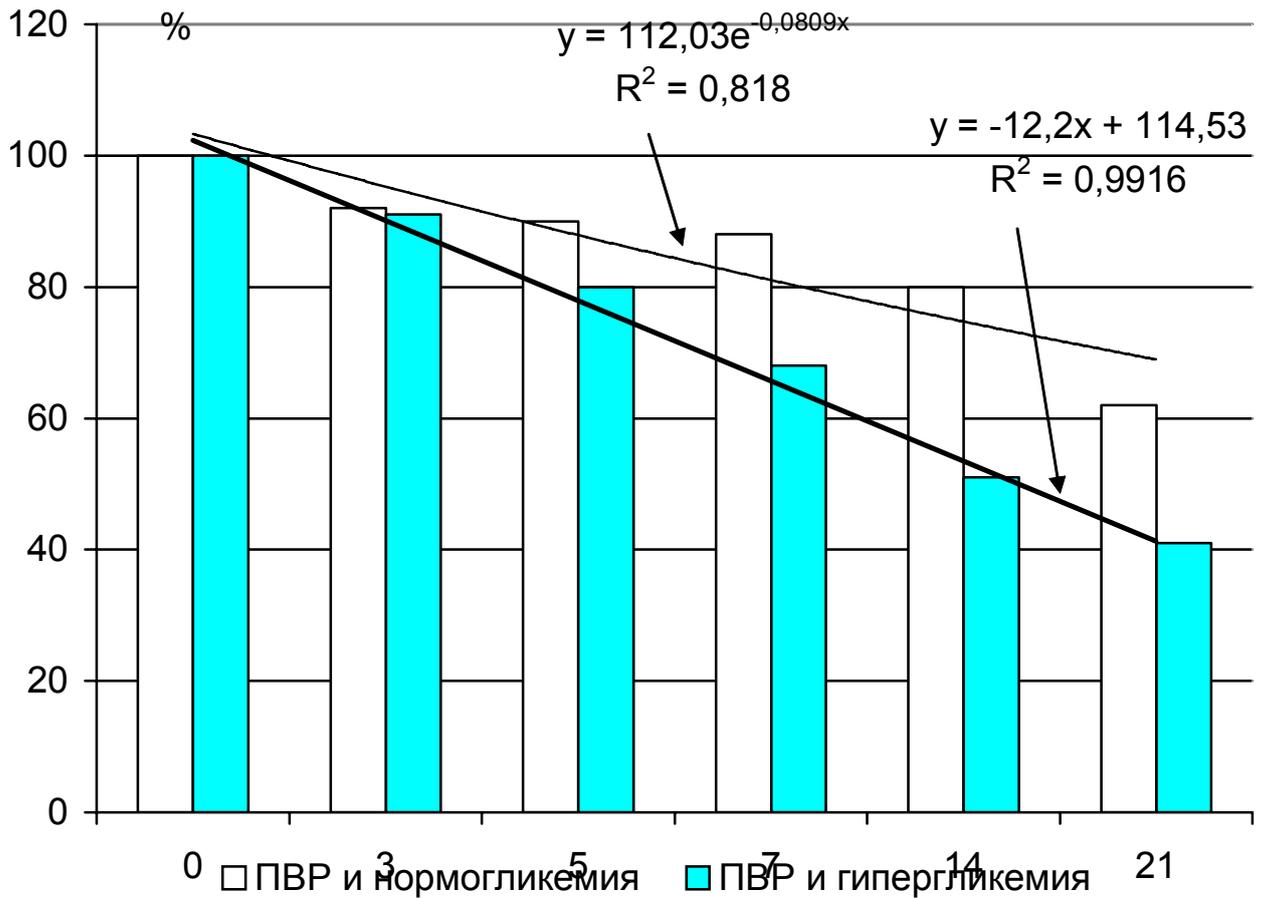


Рис. 26. Плотность наружного ядерного слоя сетчатки в динамике развития пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) у здоровых животных и крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

По оси абсцисс – сроки эксперимента, сутки; по оси ординат – плотность наружного ядерного слоя в % от фона (день 0).

Рис. 27. Гипертрофия и отек отростков радиальной глии в наружном ядерном слое сетчатки на 7-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Электронная микроскопия; ув. 4000.

Рис. 28. Полная деструкция слоя нейросенсорных клеток, неоваскулогенез в слое пигментного эпителия (стрелки) на 14-е сутки после интравитреального введения мононуклеаров крови на фоне экспериментального сахарного диабета. Полутонкий срез; окраска толуидиновым синим; ув. 1200.

Рис. 29. Сетчатка имеет обычное строение и толщину на светооптическом уровне у животных контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

веретенообразной формы. Со стороны ретинальных сосудов отмечается пролиферация эндотелиоцитов, периваскулярная клеточная инфильтрация.

Однако, выраженность и объем дегенеративных изменений существенно больше у животных с экспериментальным сахарным диабетом. Формирующиеся в дальнейшем интравитреальные и периретинальные пролиферативные мембраны у животных обеих групп характеризуются сходным морфологическим строением. Клеточные элементы представлены фибробластами, макрофагами, лимфоцитами. Внеклеточный матрикс состоит из коллагеновых волокон различной толщины. По мере разрастания и организации соединительнотканного компонента происходит слияние отдельных, изолированных пролиферативных мембран. Наличие витреоретинальных фиброзных шварт, обладающих контракильными свойствами, обуславливает появление тракционной отслойки сетчатки. Необходимо отметить, что объем и выраженность пролиферативных процессов в полости глазного яблока оказались более выраженными у животных с аллоксановым диабетом (табл. 5, 6).

Таблица 5

Количество фибробластов в пролиферативных мембранах в 1 мм² среза в динамике развития пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) в условиях нормо- или гипергликемии, X, p₀

Группа крыс	Сроки эксперимента, сутки				
	3	5	7	14	21
ПВР в условиях нормогликемии	3,31 n=25	7,83 n=25	37,72 n=25	107,91 n=25	168,93 n=25
ПВР в условиях гипергликемии	5,54 p ₀ n=25	15,27 p ₀ n=25	72,95 p ₀ n=25	206,68 p ₀ n=25	347,97 p ₀ n=25

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,01$) при сравнении с показателями в группе крыс с ПВР в условиях нормогликемии; n – количество срезов внутренних оболочек глаз, энуклеированных у подопытных животных.

В течение всего периода наблюдений число фибробластов в пролиферативных мембранах в 2 раза превышало ($p_T < 0,05$) таковое у здоровых крыс.

Таблица 6

Количество фибробластов в динамике развития пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) у здоровых животных и крыс с экспериментальным сахарным диабетом

Группа крыс	Сроки эксперимента, сутки				
	3	5	7	14	21
ПВР в условиях нормогликемии	100%	236,55%	1139,57%	3260,12%	5103,62%
ПВР в условиях гипергликемии	100%	275,63%	1316,78%	3730,68%	6281,04%

Весьма интенсивно у них выражены и явления неоваскулогенеза (табл. 7, рис. 30).

Таблица 7

Количество новообразованных сосудов в пролиферативных мембранах в 1 мм² среза в динамике развития пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) в условиях нормо- или гипергликемии, X, p₀

Группа крыс	Сроки эксперимента, сутки			
	5	7	14	21
ПВР в условиях нормогликемии	0 n=25	0,41 n=25	1,43 n=25	3,52 n=25
ПВР в условиях гипергликемии	0,72 p ₀ n=25	1,15 p ₀ n=25	2,83 p ₀ n=25	6,24 p ₀ n=25

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,01$) при сравнении с показателями в группе крыс с ПВР в условиях нормогликемии; n – количество срезов внутренних оболочек глаз, энуклеированных у подопытных животных.

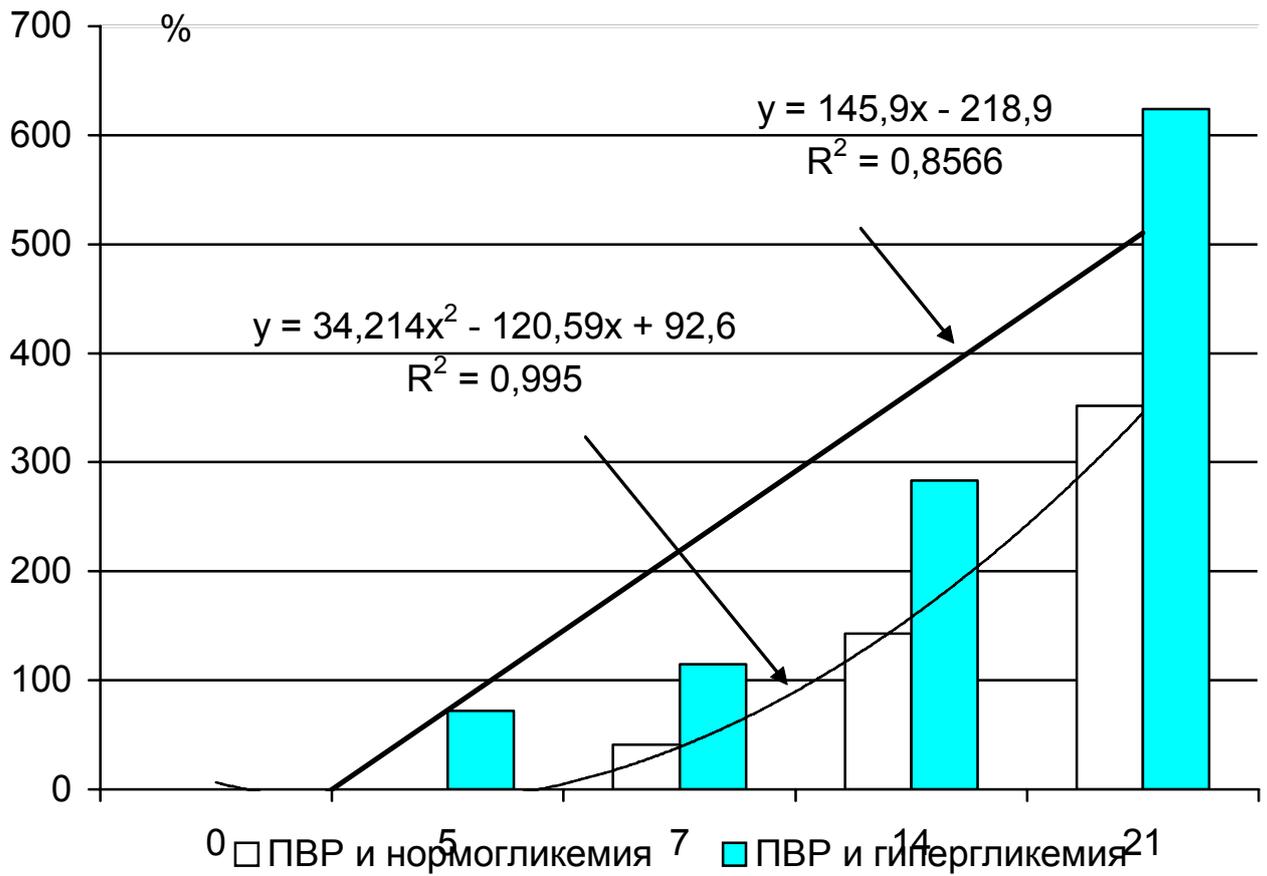


Рис. 30. Количество новообразованных сосудов в динамике развития пролиферативной витреоретинопатии (ПВР) у здоровых животных и крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

По оси абсцисс – сроки эксперимента, сутки; по оси ординат – количество новообразованных сосудов в % от фона (точка 0).

Новообразованные сосуды в сетчатке обнаруживаются уже на 5-е сутки после интравитреального введения моноклеаров крови, и статистически значимо ($p_T < 0,01$) превышают показатели у здоровых крыс на протяжении всего периода наблюдений. Как следствие, рано выявляются различной величины кровоизлияния в стекловидное тело и сетчатку.

Выявленные в ходе морфологических исследований деструктивные изменения в сетчатке у животных с аллоксановым диабетом соответствуют имеющимся литературным данным о ранних гистологических изменениях в тканях глазного яблока на фоне индуцированного сахарного диабета [244, 332, 333, 444]. Согласно сообщениям ряда авторов [229, 244], уже в ранние сроки развития экспериментального сахарного диабета в сетчатке обнаруживаются деструктивные изменения на уровне нейросенсорных клеток и глии.

Предполагается, что пусковым механизмом нейральной дегенерации является нарушение метаболизма глутамата [349, 359]. Поражение радиальной глии влечет за собой нарушение нейро-глиальных взаимоотношений и способствует деструкции нейронов внутреннего ядерного и ганглионарного слоев сетчатки [27]. Патоморфологические изменения микроциркуляторного русла сетчатки характеризуются утолщением базальных мембран, пролиферацией эндотелиальных клеток и перицитов, явлениями плазматического пропитывания [332, 333, 444]. По мере прогрессирования основного процесса описанные изменения нарастают и ведут к развитию диабетической ретинопатии [12, 229, 400].

Выявленные в ходе морфологических исследований отличия в выраженности и объеме фиброваскулярных пролиферативных мембран у животных с индуцированным сахарным диабетом, вероятно, также обусловлены патогенетическими особенностями данного заболевания. Аллоксановый диабет характеризуется первичной абсолютной недостаточностью инсулина, и у животных отмечаются соответствующие специфические изменения метаболизма: нарушается гликолитический путь окисления глюкозы, усиливается гликогенолиз, уве

личивается использование свободных жирных кислот в качестве источника энергии [221]. Характерны также нарушения липидного и белкового обмена веществ, изменения реологических свойств крови с гиперкоагуляционными сдвигами в системе гемостаза.

Качественные и количественные нарушения метаболизма с развитием окислительного стресса, являющегося важным патогенетическим фактором заболевания, усиливают деструктивные изменения в ткани сетчатки и микроциркуляторном русле.

Многофакторность и полиорганность повреждения вызывают, по-видимому, истощение адаптационных возможностей организма. Следствием этого является нарушение и разобщение локальных (межклеточных, тканевых, органных) и общих (гуморальной, иммунной, нейротрофической) регуляторных систем. Формируется порочный патологический круг, в котором имеется сложный комплекс патохимических дефектов в общей системе контроля уровня сахара в крови, инсулиносекреции, гормональной рецепции и контринсулярных гормонов [221, 288, 289]. Декомпенсация процесса усугубляет патоморфологические изменения в органах и тканях, способствуя прогрессированию заболевания и развитию осложнений.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, сложные биохимические и патофизиологические нарушения на фоне экспериментального сахарного диабета обуславливают развитие выраженных деструктивно-пролиферативных изменений в полости глазного яблока. Интравитреальное введение мононуклеаров крови диабетическим животным значительно увеличивают темп и амплитуду патологических процессов.

ГЛАВА 4

МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ В УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МОНОНУКЛЕАРОВ КРОВИ IN VITRO

В процессе культивирования *in vitro* мононуклеаров периферической крови, взятых от здоровых доноров-добровольцев, в условиях направленного движения питательной среды получены следующие результаты.

Спустя 24 ч от начала эксперимента культура мононуклеаров на фильтре представлена прочно адгезированными к субстрату клетками округлой формы, с базофильной цитоплазмой, крупным (бобовидным или круглым) ядром, имеющим иногда зубчатое впячивание. Ядерно-цитоплазматическое отношение составляет около 1. Цитохимически (табл. 8, 9) в клетках отмечается высокая активность α -нафтилацетатэстеразы (рис. 31), которая блокируется фторидом натрия. Это соответствует характеристике клеток моноцитарно-макрофагальной линии [186, 189]. Щелочная фосфатаза в культивируемых клетках не выявляется.

Спустя 48 ч от начала эксперимента (табл. 8, 9) в описываемых клетках отмечается повышение активности α -нафтилацетатэстеразы ($p_U < 0,01$). При проведении реакции с фторидом натрия на фильтре обнаружены единичные элементы (5-6 клеток на $2,5-3,0 \cdot 10^6$), в которых активность неспецифической эстеразы не подавляется (рис. 32). Исследование на щелочную фосфатазу выявило ее умеренную активность в некоторых клетках (рис. 33). По большинству морфологических параметров (форма клетки, форма и объем ядра, ядерно-цитоплазматическое отношение около 1) указанные клетки относятся к молодым формам фибробластической популяции.

Таблица 8

Цитохимическая активность мононуклеаров крови при культивировании *in vitro* в условиях направленного движения жидкости (у.е.о.п.), X, p_U

Цитохимическая реакция	Сроки культивирования, часы		
	24	48	72
Неспецифическая эстераза	63,81	69,17 p ₀	73,39 p ₁
Фторид резистентная неспецифическая эстераза	0	64,93	71,45 p ₀
Щелочная фосфатаза	0	40,17	69,07 p ₀

Примечание: статистически значимые различия отмечены (p₀<0,01) при сравнении с исходными показателями; (p₁<0,01) при сравнении показателей в динамике.

Таблица 9

Уровень ферментативной активности мононуклеаров крови при культивировании *in vitro* в условиях направленного движения жидкости

Цитохимическая реакция	Сроки культивирования, часы		
	24	48	72
Неспецифическая эстераза	100%	108%	115%
Фторид резистентная неспецифическая эстераза	0	100%	110%
Щелочная фосфатаза	0	100%	172%

Спустя 72 ч от начала эксперимента культуры клеток на фильтре состоят, главным образом, из макрофагов с пенистой, содержащей вакуоли цитоплазмой, и лимфоцитов. Ядро почковидной или округлой формы с зубчатым впячиванием. Ядерно-цитоплазматическое отношение составляет менее 1. Среди лимфоцитов и макрофагов обнаруживаются единичные (6-7 клеток на 2,0-2,5·10⁶), крупных размеров клетки неправильной, преимущественно, веретенообразной формы. Они разобщены друг от друга по поверхности фильтра прочими клеточными элементами.

Цитохимически в указанных клетках отмечается более высокая активность α -нафтилацетатэстеразы по сравнению с показателями через 48 ч культивирования ($p_U < 0,01$; табл. 8, 9).

Активность неспецифической эстеразы не подавляется фторидом натрия (рис. 34). В подобных клетках отмечено также повышение активности щелочной фосфатазы (рис. 35, 36) по сравнению с данными через 48 ч от начала эксперимента ($p_U < 0,01$; табл. 8, 9).

Морфологические и цитохимические параметры указанных клеток соответствуют активно синтезирующим фибробластам. При исследовании полупрозрачного фильтра, на котором культивировались клетки, в его структурах выявлены соединительнотканые волокна в виде тонких длинных тяжей (рис. 37, 38). В процессе культивирования мононуклеаров периферической крови здоровых доноров-добровольцев в стандартных (статических) условиях получены следующие результаты.

На протяжении всей серии экспериментов (24, 48, 72 ч) клеточная культура на фильтре представлена клетками округлой формы, с бобовидным или круглым ядром с зубчатым впячиванием. Ядерно-цитоплазматическое отношение около или менее 1. Это соответствует характеристике клеток лимфоцитарной и моноцитарно-макрофагальной линий.

Цитохимически в клетках отмечается умеренная активность α -нафтилацетатэстеразы, которая постепенно повышается в процессе культивирования ($p_U < 0,05$; табл. 10), что связано с дифференцировкой моноцитов в макрофагальные клетки. Активность неспецифической эстеразы ингибируется фторидом натрия. Щелочная фосфатаза в культивируемых клетках не выявляется.

Таблица 10

Цитохимическая активность мононуклеаров крови при культивировании *in vitro* в статических условиях (у.е.о.п.), X, p_U

Цитохимическая реакция	Сроки культивирования, часы		
	24	48	72
Неспецифическая эстераза	62,38 n=25	63,95 p ₀ n=25	64,08 p ₀ n=25
Щелочная фосфатаза	0	0	0

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,05$) при сравнении с исходными показателями; n – количество подсчитанных клеток.

Величайшее открытие XIX века – открытие клетки в живом организме послужило стимулом для интенсивного изучения различных видов патологии с позиции клеточного строения органов и тканей. Р. Вирхов в своем классическом труде «Die cellular Pathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre» [455], систематизируя огромный фактический материал, впервые дал представление о сложном организме как о совокупности клеток, своеобразном «клеточном государстве».

Однако на протяжении всего периода световой микроскопии в морфологии клетка представлялась настолько стабильным компонентом тканевой и органной конструкции, что ее функциональные и морфологические изменения, доступные для наблюдения в световой микроскоп, казалось, не имели отношения к динамике клеточных структур. Господствовало убеждение, что клетка является универсальной и неизменной единицей строения тканей и органов.

Лишь внедрение в морфологию новых методов исследования, и в первую очередь электронной микроскопии, коренным образом изменило представление

Рис. 31. Активность α -нафтилацетатэстеразы. Сильно выраженная активность фермента в мононуклеарах крови, блокируемая фторидом натрия, через 24 ч культивирования *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды; ув. 800.

Рис. 32. Активность α -нафтилацетатэстеразы, не ингибирующаяся фторидом натрия, в единичных клетках через 48 ч культивирования мононуклеаров крови *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды; ув. 800.

Рис. 33. Умеренная активность щелочной фосфатазы в единичных клетках через 48 ч культивирования мононуклеаров крови *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды; ув. 800.

Рис. 34. Выраженная активность α -нафтилацетатэстеразы, не подавляемая фторидом натрия, в единичных клетках неправильной формы через 72 ч культивирования мононуклеаров крови *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды; ув. 800.

Рис. 35. Высокая активность щелочной фосфатазы в единичных клетках неправильной формы через 72 ч культивирования мононуклеаров крови *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды; ув. 800.

Рис. 36. Высокая активность щелочной фосфатазы в единичных клетках неправильной формы через 72 ч культивирования мононуклеаров крови *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды; ув. 800.

Рис. 37. Тонкие соединительнотканые волокна на фильтре через 72 ч культивирования мононуклеаров крови *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды. Окраска по Ван-Гизону; ув. 600.

Рис. 38. Тонкие соединительнотканые волокна на фильтре через 72 ч культивирования мононуклеаров крови *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды. Окраска по Ван-Гизону; ув. 800.

о клеточной конструкции и динамике ее изменений. Существенную помощь в понимании единства и взаимопроникновения структуры и функций оказал метод культуры клеток [2, 134], позволяющий изучать клетки в их живом состоянии, реальном действии и взаимодействии с микроокружением.

Благодаря современным техническим (методическим) приемам клетка в настоящее время рассматривается в качестве элементарной живой системы с собственными закономерностями организации и функционирования [139, 147]. Внутриклеточные структуры и происходящие в них биохимические процессы, а также непрерывный поток энергии в клетке глубоко и тесно взаимосвязаны друг с другом, дополняя тем самым целостную картину единой структурно-функциональной системы – клетки.

Говоря о взаимопроникновении структур и функций, необходимо помнить о сложной иерархии устройства человеческого организма [202], поскольку любой патологический процесс первоначально реализуется на клеточном уровне, сопровождаясь изменениями ультраструктуры и метаболизма клеток. В дальнейшем это ведет к нарушению функций тех или иных органов, тканей или систем организма. Именно через клетки, их взаимосвязи и взаимодействия опосредуются инициация, развитие и исход патологического процесса.

Известно, что развитию и прогрессированию пролиферативного процесса в заднем полюсе глаза способствуют интравитреальные и периретинальные кровоизлияния [11, 37, 54, 299]. Среди форменных элементов крови, поступающих при этом в полость глазного яблока, наибольший интерес, по нашему мнению, представляют мононуклеары.

Это генетически единая клеточная популяция, обладающая, однако, гетерогенностью по морфологическим, биохимическим и функциональным критериям [67, 167, 415]. Одним из главных факторов подобной разнородности мононуклеаров является то, что процесс их созревания и дифференцировки осуществляется не одномоментно, а через дискретные этапы. Вследствие этого в

организме наряду с дифференцированными клетками присутствуют и незрелые [118, 185].

Важнейшим свойством мононуклеаров, отличающим их от конечных элементов дифференцировки других гемопоэтических линий, является функциональная полипотентность [179, 384].

Попадая в определенное микроокружение, мононуклеары адаптируются к среде их будущего обитания, факторы которой оказывают модулирующее влияние как на поверхностные свойства клеток, так и на процессы их жизнедеятельности. Возможно, одним из подобных локальных факторов является направленное движение внутриглазной жидкости в полости глазного яблока, создаваемое градиентом давления [66, 120, 128, 166].

Новый способ культивирования мононуклеаров крови *in vitro* характеризуется значительным сходством с природой и сущностью происходящих при кровоизлияниях в полость глазного яблока процессов, когда после адгезии к фибриллам стекловидного тела мононуклеары оказываются на пути движения внутриглазной жидкости.

При культивировании в разработанном устройстве (рис. 1) мононуклеары крови после введения в камеру (2) адгезируют к волокнам полупроницаемого фильтра (3) и находятся на пути движения питательной среды, циркулирующей в одном направлении.

Естественно, что в культуре клеток *in vitro* межклеточные взаимоотношения и характер взаимодействия с субстратом до некоторой степени упрощены. Тем не менее, данная модель позволяет изучать морфофункциональные особенности мононуклеаров крови в зависимости от модулирующего влияния факторов микроокружения.

Как известно, структурные и функциональные возможности клеток реализуются в их метаболизме [102, 180]. На основании показателей внутриклеточного обмена можно судить о состоянии клеток, направлении и интенсивности их деятельности. Кроме того, каждая стадия дифференцировки неразрывно

связана с активацией дополнительных ферментных систем, налаживанием новых механизмов биосинтеза.

В связи с этим представляют интерес результаты цитохимических исследований на α -нафтилацетатэстеразу (группа неспецифических эстераз) и щелочную фосфатазу, полученные в динамике культивирования мононуклеаров крови *in vitro*.

Реакция на α -нафтилацетатэстеразу является специфичной для мононуклеаров и позволяет идентифицировать эти клетки [189]. Согласно литературным данным, большинство моноцитов демонстрируют сильноположительную реакцию, и лишь около 20% – слабую; из лимфоцитов Т-клетки дают положительную реакцию, а В-клетки – слабоположительную или отрицательную.

Однако в монобластах, моноцитах и макрофагах активность α -нафтилацетатэстеразы, в отличие от других клеточных популяций, например, эритроцитарной, мегакариоцитарной, фибробластической, ингибируется фторидом натрия [186, 189].

Реакция на щелочную фосфатазу в моноцитоидных клетках, напротив, отрицательна, а в фибробластах усиливается по мере дифференцировки клеток и становится максимальной во время коллагенообразования [158, 189].

Следовательно, указанные цитохимические реакции, определяющие внутриклеточную ферментативную активность, могут применяться для идентификации моноцитоидных и фибробластических клеток.

Так, через 24 ч после эксплантации и культивирования клеток *in vitro* в различных условиях (направленного движения питательной среды и стандартных) результаты цитохимических исследований клеточного материала, независимо от условий эксперимента, соответствуют характеристике клеток моноцитарно-макрофагальной линии. Активность неспецифической эстеразы в клетках одинаково высокая (табл. 11, рис. 39).

Однако через 48 ч в мононуклеарах, культивируемых в условиях направленного движения питательной среды, отмечено повышение активности

α -нафтилацетатэстеразы по сравнению с клетками, находящимися в стандартных условиях ($p_U < 0,01$; табл. 11, рис. 39). Кроме того, среди мононуклеаров, культивируемых в разработанном устройстве, выявлены единичные клетки, характер цитохимических реакций в которых, отражая перестройку ферментативного профиля, указывает на их принадлежность к молодым элементам фибробластической популяции.

Таблица 11

Сравнительная характеристика активности α -нафтилацетатэстеразы мононуклеаров крови при культивировании *in vitro* в различных условиях (у.е.о.п.), X, p_U

Условия культивирования	Сроки культивирования, часы		
	24	48	72
Направленное движение	63,81 n=25	69,17 p_0 n=25	73,39 p_0 n=25
Стандартные условия	62,38 n=25	63,95 n=25	64,08 n=25

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,01$) при сравнении с результатами культивирования в стандартных условиях; n – количество подсчитанных клеток.

Через 72 ч от начала эксперимента активность α -нафтилацетатэстеразы в мононуклеарах, культивируемых в динамических условиях, также выше, чем в клетках, выращиваемых в стандартных (статических) условиях ($p_U < 0,01$; табл. 11, рис. 39). При этом выявлены единичные клетки, морфофункциональные особенности которых соответствуют активно синтезирующим фибробластам (активность неспецифической эстеразы, не блокируемая фторидом натрия; высокая активность щелочной фосфатазы). Подтверждением их функциональной активности служит и обнаружение на фильтре тонких соединительнотканых волокон.

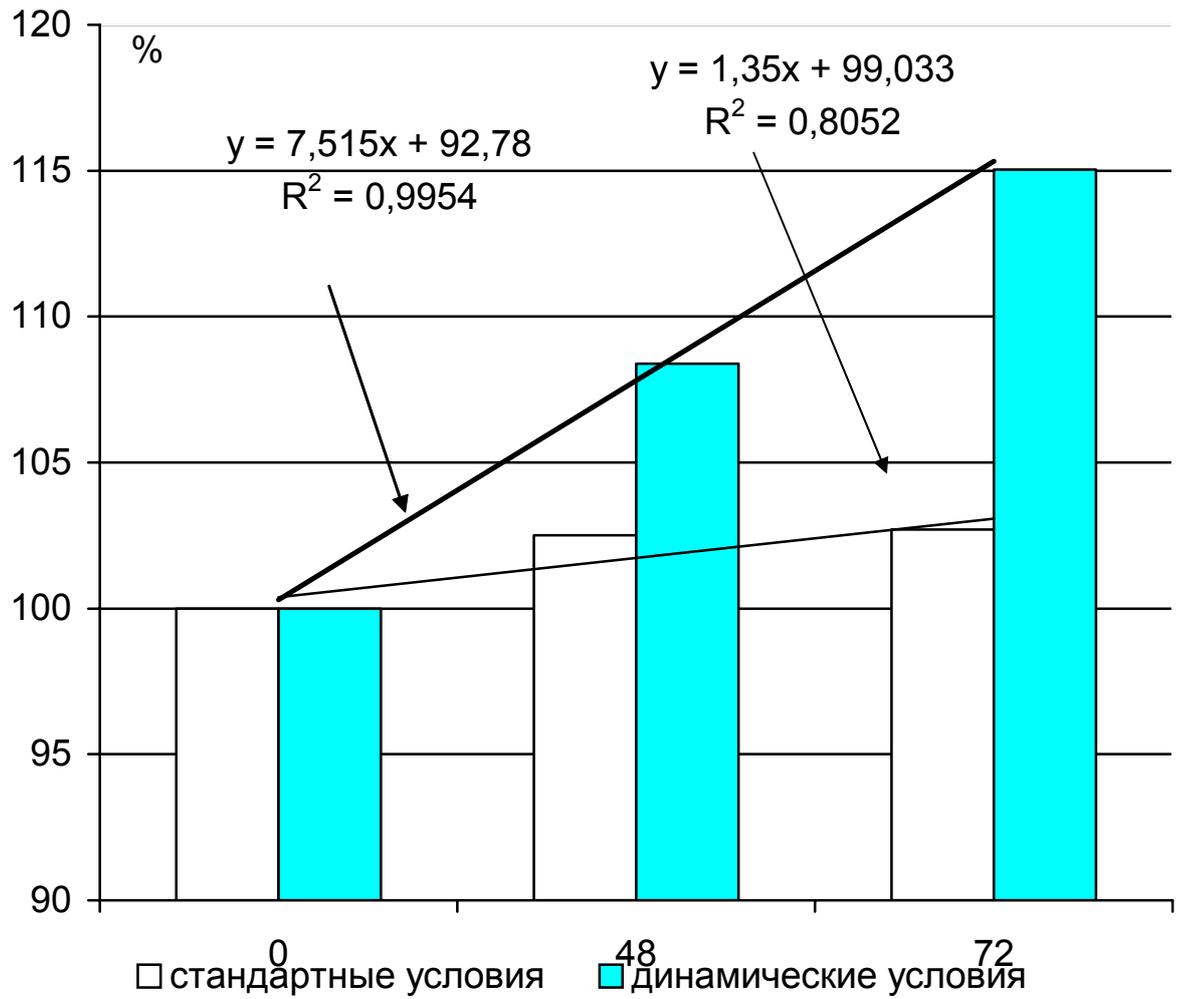


Рис. 39. Динамика уровня α -нафтилацетатэстеразы в мононуклеарах крови в различных условиях культивирования *in vitro*.

По оси абсцисс – сроки культивирования, часы; по оси ординат – уровень α -нафтилацетатэстеразы в % от фона (точка 0).

При культивировании мононуклеаров крови в стандартных условиях цитохимически в них отмечена только высокая активность α -нафтилацетатэстеразы (табл. 10), сохранявшаяся практически на одном уровне в течение всей серии экспериментов (табл. 11, рис. 39).

Таким образом, результаты культивирования мононуклеаров крови *in vitro* в динамических и статических условиях подтверждают предположение о влиянии направленного движения жидкости на морфофункциональное состояние (дифференцировку) данных клеток и позволяют предложить следующий механизм его реализации.

Важное значение для анализа и интерпретации полученных фактов имеют представления о циркуляции среди мононуклеаров крови клеток мезенхимальной природы, изложенные еще в теориях «мезенхимального резерва» А. А. Максимова [104] и «клеточного камбия» А. А. Заварзина [62]. Генез мезенхимального дифферона до настоящего времени остается менее изученным, нежели процесс кроветворения. Тем не менее, по аналогии с клеточной организацией кроветворной ткани предполагается наличие в костном мозге и крови нескольких типов клеток – стволовых, коммитированных и клеток-предшественников [158, 187, 199].

Исходя из этого, можно предположить, что источником фибробластических клеток, обнаруженных на фильтре при культивировании мононуклеаров крови *in vitro* в разработанном устройстве, являются циркулирующие в крови мезенхимальные клетки различной степени дифференцировки.

Согласно литературным данным [36], 60-80% циркулирующих стволовых клеток находится в состоянии покоя или периоде G_0 . Вступление в митотический цикл обусловлено сопряжением между воздействующими на клетки сигналами, состоянием клеточной поверхности и внутренним ответом клеток. В качестве сигналов могут действовать факторы роста, гормоны, а также факторы микроокружения.

Одной из основных функций клеточной поверхности и плазматической мембраны является восприятие и передача внешних регуляторных сигналов внутрь клетки [188, 201, 430]. Именно благодаря этому во многом реализуется взаимосвязь между функцией клеточной мембраны, ее проницаемостью и степенью активности процессов внутриклеточного метаболизма. Установлено, что модулирующие факторы внеклеточной среды действуют как экзогенные регуляторные сигналы, контактируя с рецепторами клеточной поверхности [58]. В условиях проводимых нами экспериментов подобным экзогенным сигналом для адгезированных к фильтру мононуклеаров крови может быть постоянное направленное движение питательной среды и внеклеточный матрикс.

Можно предположить, что после взаимодействия внешнего сигнала с клеточными рецепторами инициируется каскадный механизм определенных внутриклеточных процессов. Так, например, происходят изменения в структуре связанных с рецепторами мембранных ферментов, катализирующих синтез эндогенных регуляторных молекул [58]. Вследствие этого происходит сдвиг в их концентрации, и клеточная проницаемость изменяется [321]. Важная роль, вероятно, принадлежит и колебаниям мембранного потенциала [202, 468].

Далее в родоначальной мезенхимальной клетке, находящейся в периоде G_0 , происходят координированные метаболические и морфологические изменения, в результате чего она приобретает компетентность к прохождению митотического цикла и вступает в период G_1 . В процессе деления стволовая клетка коммитируется, т. е. становится детерминированной. Коммитирование клеток мезенхимальной природы, как и стволовых кроветворных клеток, по всей видимости, имеет стохастический (вероятностный) характер. Осуществляется оно либо постепенным ограничением дифференцировочных потенциалов, либо путем выбора одного из возможных направлений дифференцировки [199].

Детерминированное состояние необратимо, и образующиеся клетки-предшественники не способны переходить в период покоя. Данные клетки об-

ладают морфологическими, цитохимическими или иными признаками превращения в зрелые клеточные формы.

Так, через 48 ч от начала эксперимента цитохимическая маркировка выявила в культуре мононуклеаров клетки фибробластической популяции, являющиеся, вероятнее всего, клетками-предшественниками фибробластов. Полученные результаты согласуются с данными А. Я. Фриденштейна с соавт. [187] о том, что клетки-предшественники фибробластов вступают в синтетический период между 28 и 60 ч после эксплантации.

Однако через 72 ч от начала культивирования в разработанном устройстве на фильтре обнаруживались клетки, фенотипически соответствовавшие зрелым фибробластам. По данным А. Я. Фриденштейна [187] колонии фибробластов в стационарной культуре появляются только на 4-5 день клонирования.

В связи с этим возникает вопрос. Почему при культивировании в условиях направленного движения питательной среды клетки-предшественники фибробластов, обладая высоким пролиферативным потенциалом, переходят к дифференцировке уже через 72 ч после эксплантации?

Поставленный вопрос затрагивает один из аспектов проблемы участия микроокружения в процессе дифференцировки и определения фенотипа клеток. В связи с этим представляет интерес мнение Ю. Б. Вахтина [29] о том, что наиболее благоприятным окружением для клеток является то, в котором максимально полно реализуются потенции клеток к дифференцировке, а не их способность пролиферировать.

На современном этапе микроокружение рассматривается как полифункциональный комплекс, обладающий способностью модулировать различные клеточные события: 1. адгезия клеток; 2. коммитирование стволовых клеток; 3. пролиферация клеток-предшественников; 4. морфологическая и функциональная дифференцировка [58, 138, 199].

Можно предположить, что в условиях проводимых нами экспериментов реализация, преимущественно, дифференцировочных возможностей клеток-

предшественников *in vitro* в значительной степени опосредуется: 1. наличием направленного движения питательной среды; 2. полупроницаемым фильтром – субстратом, к которому адгезируются клетки; 3. высокой плотностью первоначальной культуры; 4. бедным составом питательной среды.

Прикрепление клеток к субстрату является необходимым условием для дальнейшего действия модулирующих факторов внеклеточной среды [58, 199]. Кроме того, обеспечивая динамическое напряжение и архитектуру цитоскелета, а также пространственно-временную ориентацию клеток, субстрат тем самым оказывает формообразующее влияние на морфофункциональные особенности культивируемых клеток.

Возможно, адгезированные к фильтру клетки-предшественники, находясь на пути движения питательной среды, претерпевают серию модификационных трансформаций, в ходе которых проявляется активность разных ферментных систем. Изменения внутриклеточного гомеостаза и гомеокинеза, в свою очередь, сопряжены с процессами блокирования-деблокирования различных наборов генов на субклеточном уровне.

Как известно, дифференцировка – это качественный процесс, связанный с изменением экспрессии генов, репрограммированием генома [199]. Возможно, активация генов, кодирующих образование клеточных структур, специфичных для фибробластической популяции, и обеспечивает переход к цитодифференцировке. Естественно, что происходящие в клетках процессы составляют сложную комбинацию взаимосвязанных явлений, где преобладают не линейные, а вероятностные закономерности.

Таким образом, клетки-предшественники фибробластов при постоянном модулирующем влиянии факторов микроокружения (направленный поток жидкости и наличие внеклеточного матрикса) быстро дифференцируются в зрелые формы, продуцирующие коллаген. Терминальной дифференцировке способствует и минимальное количество факторов роста в питательной среде.

Однако согласно публикациям последних лет [114, 124, 210] синтез и секреция коллагена не является исключительно прерогативой фибробластов. Установлено, что *in vitro* другие клетки мононуклеарного ряда (макрофаги, лимфоциты) также обладают способностью к коллагенообразованию [117, 351, 408].

На наш взгляд, это имеет важное значение, поскольку открывает дополнительные возможности для интерпретации результатов экспериментов. Реализация коллагенсинтезирующей функции мононуклеаров крови при культивировании *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды может быть представлена следующим образом.

Известно, что в клетках все биохимические процессы происходят в организованных определенным образом и тесно связанных друг с другом структурах, обеспечивая тем самым клеточный гомеостаз и гомеокинез [124, 147, 202, 245].

Более того, все мембранные структуры находятся в состоянии динамического равновесия. На основании этого некоторые авторы [3, 147, 188] склонны говорить о существовании некоей основной мембранной организации, которая в разное время и в разных отделах клетки модифицируется в соответствии с выполняемыми функциями. Клеточным мембранам не свойственна статичность. Белки и липиды, входящие в состав мембраны, обладают известной степенью мобильности в пределах этой мембраны, что позволяет говорить о ее динамичной природе [147, 185, 468]. Данный факт особенно важен, т. к. он лежит в основе понимания сущности структурно-функциональных реакций клеток в зависимости от условий микроокружения.

По мнению некоторых авторов [8, 145] в плазматической мембране, являющейся сложноорганизованной и многофункциональной клеточной структурой, могут локализоваться морфогенетические детерминанты, определяющие ранние ступени развития клетки.

Можно предположить, что в плазмалемме адгезированных мононуклеаров в условиях направленного движения питательной среды изменяется локализация отдельных морфогенетических детерминант. Происходит это, вероятно, в один из периодов клеточного цикла, последовательность развития которого определяется специфическими условиями клеток.

Как известно, в клетках поддержание постоянства внутренней среды осуществляется путем непрерывного регулирования работы многих генов [28, 29, 86, 168]. При этом одно из них находится в активном состоянии, другие – в репрессированном. При воздействии факторов микроокружения, по видимому, возникает своего рода модификационная изменчивость клеток, связанная с репрессией и активизацией уже иных, в отличие от исходной, «запланированной» детерминации генов.

Результатом подобной модуляторной изменчивости могут быть глубокие и радикальные сдвиги в физиологии мононуклеаров, касающиеся их биохимии, морфологии и функций [38, 129, 146]. Благодаря включению новых биохимических путей синтеза веществ мононуклеарные клетки начинают продуцировать компоненты экстрацеллюлярного матрикса, в частности, коллаген.

Изложенные выше предположения о механизмах влияния направленного движения жидкости на морфофункциональное состояние и дифференцировку мононуклеарных клеток не являются взаимоисключающими, скорее их нужно рассматривать как дополняющие друг друга – выделяющие, подчеркивающие разные аспекты общей сложной проблемы.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, при культивировании мононуклеаров крови *in vitro* в условиях направленного движения питательной среды отмечается повышение их внутриклеточной ферментативной активности. При модулирующем влиянии факторов микроокружения (направленный поток жидкости, внеклеточный матрикс) обнаруживаемые среди мононуклеаров молодые мезенхимальные клетки дифференцируются в зрелые формы, продуцирующие коллаген.

Полученные данные позволили существенно расширить представления о влиянии микроокружения на морфофункциональное состояние мононуклеаров крови и реализацию их фиброгенного потенциала. Это дает возможность с новых позиций подойти к изучению клеточных механизмов развития фиброваскулярной пролиферации в полости глазного яблока.

ГЛАВА 5
КЛИНИЧЕСКАЯ ПАТОМОРФОЛОГИЯ
ПЕРИРЕТИНАЛЬНЫХ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ
МЕМБРАН РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Одной из основных причин инвалидности по зрению является развитие ПВР у больных с заболеваниями заднего отдела глаза, такими как диабетическая ретинопатия, дистрофическая отслойка сетчатки и т. д.

Лечение ПВР на современном этапе осуществляется с помощью трансклиарной витрэктомии [40, 110, 151, 183, 215], которая в нашей работе была выполнена 65 пациентам, составившим 3 группы наблюдения (табл. 12).

Таблица 12

Распределение больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) по нозологическим формам, полу и возрасту

Нозологическая форма	Количество больных	Пол		Возраст, лет	
		М	Ж	М	Ж
Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия	22 (33,9%)	7 (31,81%)	15 (68,19%)	23,6	54,5
Регматогенная отслойка сетчатки с ПВР	22 (33,9%)	14 (63,6%)	8 (36,4%)	36,2	40
Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия	21 (32,2%)	4 (19%)	17 (81%)	66,3	69,3

Целью операции было отделение эпиретинальных мембран от сетчатки и удаление пролиферативной ткани, сегментация оставшихся мембран и расправление сетчатки с последующей диатермокоагуляцией или криопексией. Объем хирургического вмешательства в каждом конкретном случае определялся инди-

видуально в зависимости от выраженности фиброваскулярной пролиферации, наличия тракционной отслойки сетчатки и сопутствующего гемофтальма, а также от степени нарушения прозрачности преломляющих сред глаза.

Динамика зрительных функций (до и после оперативного вмешательства) у больных обследованных групп представлена в табл. 13, 14, 15. Уровень внутриглазного давления находился в пределах нормы (табл. 16).

Таблица 13

Динамика остроты зрения у больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) различной этиологии до и после операции, X , p_U

Группа больных	До операции	Сроки после операции, дни		
		5	10	15
Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия	0,02 n=22	0,04 p_0 n=22	0,06 p_0 n=22	0,08 p_0 n=22
Регматогенная отслойка сетчатки с ПВР	0,03 n=22	0,06 p_0 n=22	0,08 p_0 n=22	0,15 p_0 n=22
Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия	0,015 n=21	0,02 p_0 n=21	0,03 p_0 n=21	0,04 p_0 n=21

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,01$) при сравнении показателей в каждой группе с исходными данными (до операции); n – количество обследованных пациентов.

В послеоперационном периоде у больных всех 3 групп отмечалось постепенное повышение остроты зрения и суммарной величины поля зрения по сравнению с показателями до оперативного лечения ($p_U < 0,01$). Низкие зрительные функции у больных центральной атеросклеротической хориоретинопатией, по сравнению с пациентами других групп, как до, так и после операции (табл. 13, 14, 15, рис. 40), обусловлены поражением сетчатки макулярной области.

Динамика показателей периметрии (суммарная величина поля зрения в градусах по 8 меридианам) у больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) различной этиологии до и после операции, X , p_U

Группа больных	До операции	Сроки после операции, дни		
		5	10	15
Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия	394 n=22	411 p_0 n=22	425 p_0 n=22	440 p_0 n=22
Регматогенная отслойка сетчатки с ПВР	374 n=22	395 p_0 n=22	414 p_0 n=22	455 p_0 n=22
Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия	126 n=21	129 p_0 n=21	132 p_0 n=21	135 p_0 n=21

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,01$) при сравнении показателей в каждой группе с исходными данными (до операции); n – количество обследованных пациентов.

Послеоперационный период у большинства больных протекал гладко, со слабо выраженной воспалительной реакцией в виде легкой или умеренной инъекции сосудов конъюнктивы склеры в области операционных разрезов. Клиническая картина нормализовалась к 3-7 дню после хирургического вмешательства.

Одним из важных критериев, позволяющих оценить тяжесть патологического процесса в заднем полюсе глаза, является электроокулография (ЭОГ). Показатели ЭОГ, отражая функционирование пигментного эпителия, изменяются при различных заболеваниях сетчатки и хориоидеи [206]. Электрофизиологические исследования, выполненные до операции, указывали на снижение ($p_U < 0,01$) коэффициента Ардена у больных диабетической ПВР до субнормального уровня (табл. 17).

Таблица 15

Относительные показатели периметрии у больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) различной этиологии в послеоперационном периоде

Группа больных	До операции (точка 0)	Сроки после операции, дни		
		5	10	15
Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия	100%	104%	108%	112%
Регматогенная отслойка сетчатки с ПВР	100%	106%	111%	122%
Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия	100%	102%	104%	107%

Таблица 16

Состояние гидродинамики глаза у больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) различной этиологии, X

Группа больных	Гидродинамические показатели			
	P_0	C	F	K_B
Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия	18,0	0,27	1,97	64
Регматогенная отслойка сетчатки с ПВР	13,5	0,25	0,84	53
Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия	14,7	0,31	1,43	47

Примечание: P_0 – истинное внутриглазное давление; C – коэффициент легкости оттока внутриглазной жидкости; F – минутный объем влаги; K_B – коэффициент Беккера.

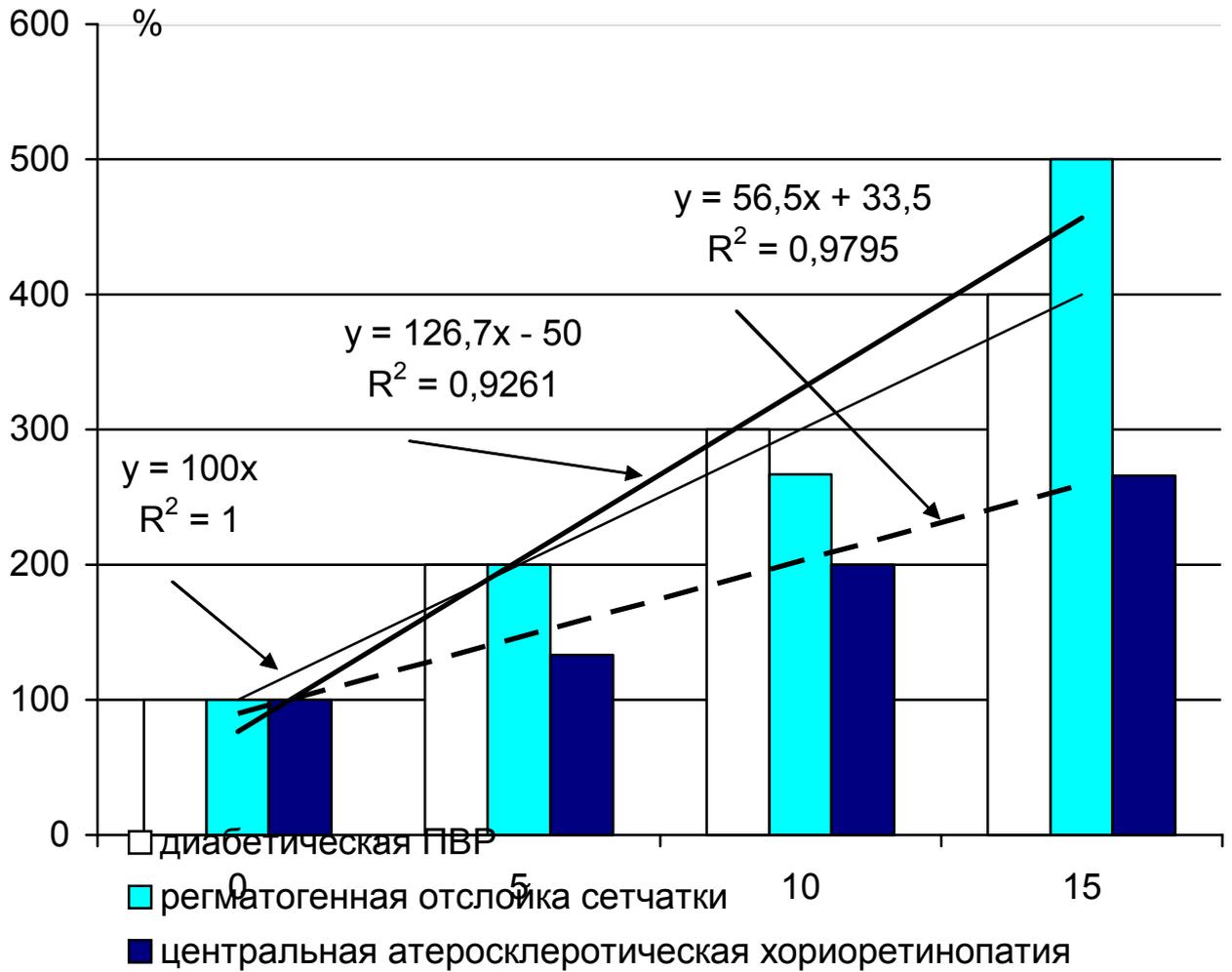


Рис. 40. Состояние остроты зрения у больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) различной этиологии в послеоперационном периоде.
 По оси абсцисс – сроки исследования, дни; по оси ординат – острота зрения, % от фона (точка 0).

У больных с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной ПВР, отмечено затухание светотемновых колебаний в ЭОГ ($p_U < 0,01$; табл. 17), обусловленное отсутствием контакта между слоем фоторецепторов и пигментным эпителием. У больных с центральной атеросклеротической хориоретинопатией коэффициент Ардена соответствовал аномальному уровню ($p_U < 0,01$; табл. 17), что свидетельствует о диффузном поражении пигментного эпителия и мембраны Бруха.

Таблица 17

Динамика электроокулографических показателей у больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) различной этиологии до и после операции, X, p_U

Группа больных	Коэффициент Ардена (%)	
	До операции	После операции (через 15 дн.)
Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия	150 n=22	158 p_0 n=22
Регматогенная отслойка сетчатки с ПВР	110 n=22	119 p_0 n=22
Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия	130 n=21	135 p_0 n=21

Примечание: статистически значимые различия отмечены ($p_0 < 0,05$) при сравнении показателей в каждой группе с исходными данными (до операции); n – количество обследованных пациентов; коэффициент Ардена в норме не ниже 185%.

В послеоперационном периоде у больных с диабетической ПВР и центральной атеросклеротической хориоретинопатией отмечено повышение показателей ЭОГ ($p_U < 0,05$; табл. 17, рис. 41), не выходящее, однако, за субнормаль

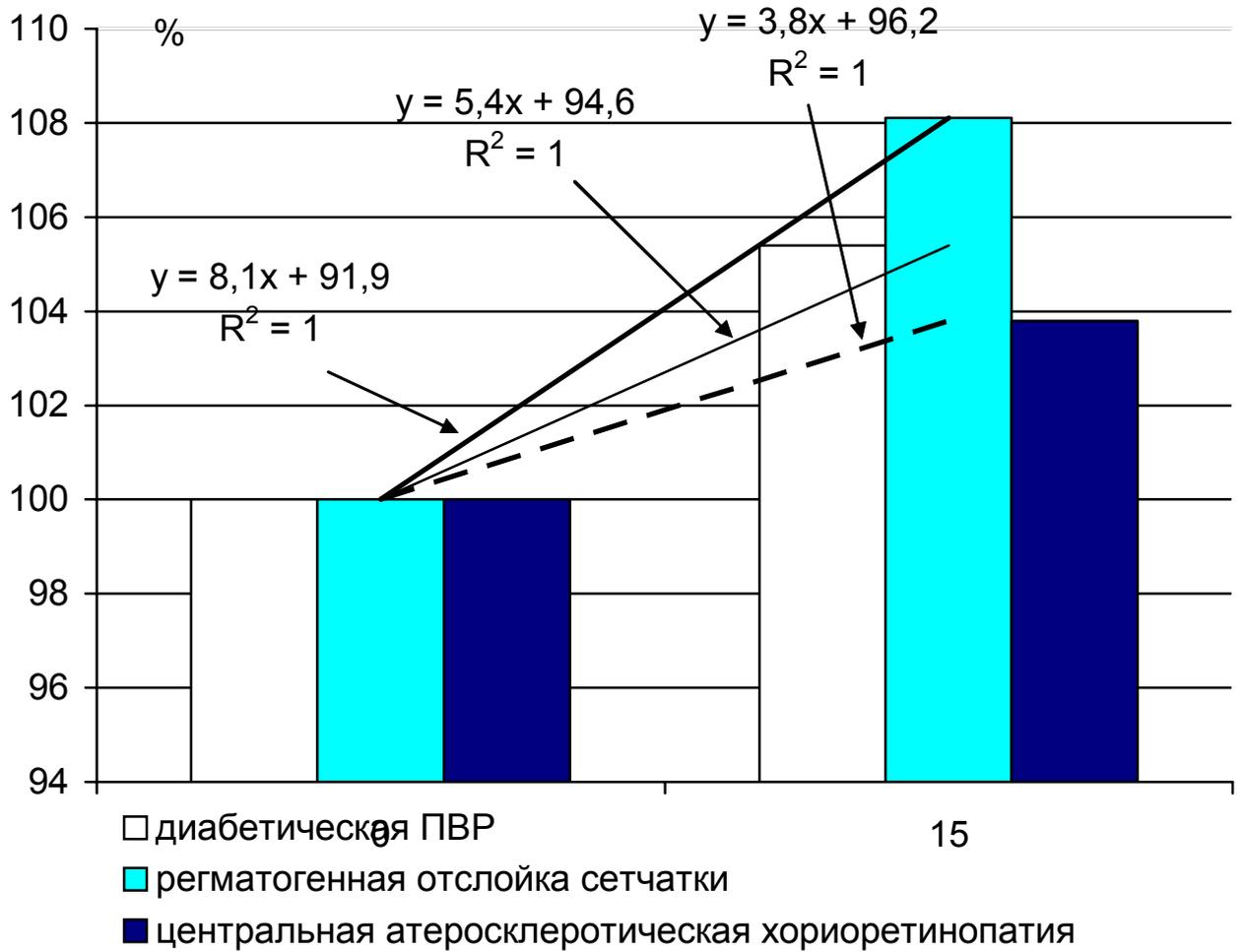


Рис. 41. Показатели электроокулографии у больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) различной этиологии в послеоперационном периоде.

По оси абсцисс – сроки исследования, дни; по оси ординат – коэффициент Ардена % от фона (точка 0).

ные значения (135-180%). У больных регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной ПВР, коэффициент Ардена по сравнению с исходными данными увеличился ($p_U < 0,05$; табл. 17, рис. 41) до аномального уровня (110-130%).

Восстановление нормальных характеристик ЭОГ, согласно литературным данным [206], наблюдается редко.

5.1. Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия

Преретинальные пролиферативные мембраны, взятые в ходе витрэктомии у больных сахарным диабетом I-II типа, представлены фиброваскулярной тканью различной плотности (рис. 42). Межклеточное вещество состоит из рыхлых или грубых и плотных коллагеновых волокон. Из клеточных элементов выявляются в значительном количестве зрелые фибробласты, многочисленные круглоклеточные элементы, а также макрофаги и небольшое количество лимфоцитов. Обнаруживаются различной давности кровоизлияния, с чем связано наличие в швартках довольно многочисленных сидерофагов, содержащих в цитоплазме пигментные гранулы.

Особенности сосудистых элементов пролиферативных мембран зависят от плотности соединительнотканного компонента. В рыхлых фиброваскулярных мембранах обнаруживаются пролиферативные изменения клеточных элементов в адвентиции. В некоторых сосудах имеет место выраженная пролиферация эндотелия. По мере увеличения плотности пролиферативных мембран количество новообразованных сосудов в них уменьшается. Усугубляются и морфологические изменения стенок сосудов. Помимо утолщения базальной мембраны, в некоторых из них отмечается отек эндотелиоцитов с обеднением цитоплазмы органеллами, резким набуханием митохондрий. В цитоплазме эндотелиальных клеток обнаруживаются фибриллярные структуры, что свидетельствует о повышении проницаемости эндотелия. Увеличивается количество

цитоплазматических выростов и микроворсин на люминальной поверхности эндотелиоцитов. Набухшие эндотелиальные клетки местами обтурируют просвет сосудов (рис. 43).

Одновременно определяются участки некроза эндотелиоцитов с обнажением базальной мембраны. При этом отмечается повреждение органелл и выход их в просвет капилляров. Наблюдается выпадение нитеобразного фибрина. Накопление клеточного детрита в просвете капилляров (рис. 44) приводит к более выраженной деструкции эндотелиоцитов.

Разрастание и организация фиброзного компонента пролиферативных мембран сопровождается регрессией микроциркуляторного русла (рис. 52). При этом новообразованные сосуды, окруженные плотно расположенными коллагеновыми волокнами, представляют собой неспадающиеся тонкостенные сосуды с запустевшим просветом.

Рис. 42. Фрагмент преретинальной шварты больной Ш., 27 л. Диагноз: сахарный диабет I типа, средней степени тяжести, фаза субкомпенсации. Проллиферативная диабетическая витреоретинопатия.

В поле зрения пролиферативные изменения клеточных элементов сосудистой стенки, сидерофаги, малодифференцированные клеточные элементы, толстые коллагеновые волокна. Окраска гематоксилином и эозином; ув.530.

- Рис. 43. Фрагмент преретинальной шварты больной Н., 25 л. Диагноз: сахарный диабет I типа, средней степени тяжести, фаза субкомпенсации. Пролиферативная диабетическая витреоретинопатия. Обтурация просвета кровяного капилляра микроворсинами (стрелки). Электронная микроскопия; ув. 6000.

- Рис. 44. Фрагмент преретинальной шварты больной Ш., 27 л. Диагноз: сахарный диабет I типа, средней степени тяжести, фаза субкомпенсации. Проллиферативная диабетическая витреоретинопатия.
Скопление фибрина, клеточного детрита (стрелка) в просвете кровеносного капилляра. Электронная микроскопия; ув. 9000.

5.2. Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия

Субретинальные шварты, взятые в ходе оперативного вмешательства у больных с далеко зашедшей стадией центральной атеросклеротической хориоретинопатии, варьируют по форме, размерам и плотности. Однако во всех образцах обнаруживаются различной степени изменения мембраны Бруха, выраженность которых, вероятно, отражает глубину и тяжесть патологического процесса.

В ряде препаратов эта структура отечна, неравномерно утолщена, местами в ней выявляются дефекты и участки расслоения. Характерным признаком других фрагментов является образование многочисленных мембраноподобных структур (рис. 45). Они умеренно оксифильны, гомогенны и относительно равномерны по толщине. При этом их слои, прилежащие к пигментному эпителию сетчатки, состоят из рыхло расположенных коллагеновых волокон и немногочисленных фибробластоподобных клеток. Наружные же слои, обращенные к хориокапиллярам, представлены грубой фиброзной тканью (рис. 46). Отмечается расширение субретинального пространства с локальной отслойкой сетчатки (рис. 47).

Из клеток в пролиферативных мембранах представлены, преимущественно, фиброциты и макрофаги. Наблюдаются очаговые скопления сидерофагов, содержащих в цитоплазме гранулы коричневого цвета. В сосудистых элементах отмечается пролиферация эндотелиоцитов. Весьма интенсивно протекают процессы неоваскулогенеза. Источником новообразованных сосудов является хориокапиллярный слой собственно сосудистой оболочки. При этом вырастающие через дефекты мембраны Бруха новообразованные сосуды доходят до пигментного эпителия сетчатки. В просвете отдельных капилляров обнаруживаются деструктивно измененные клетки, клеточный детрит, смешанные агрегаты (рис. 48).

В образцах пролиферативных мембран с плотно организованным фиброзным компонентом новообразованные сосуды истончены, с запусевшим просветом, что отражает процесс их редукции.

Дегенеративные изменения выражены и в ткани сетчатки. Они характеризуются некротическими изменениями нейросенсорных клеток, ассоциативных и ганглиозных нейронов. Наблюдается очаговое разрежение и выпадение клеточных элементов во внутреннем и наружном ядерных слоях.

Рис. 45. Фрагмент субретинальной фиброваскулярной мембраны больной М., 68 л. Диагноз: центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия.
Выраженная пролиферация мембраноподобных структур. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

Рис. 46. Фрагмент субретинальной фиброваскулярной мембраны больной М., 68 л. Диагноз: центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия.

В поле зрения многочисленные эритроциты, фиброциты, толстые коллагеновые волокна, явления пролиферации мембраноподобных структур, неоваскулогенез. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

Рис. 47. Фрагмент субретинальной фиброваскулярной мембраны больной К., 71 г. Диагноз: центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия.
Расширение субретинального пространства, прорастание отростков радиальной глии. Электронная микроскопия, ув. 6000.

Рис. 48. Фрагмент субретинальной фиброваскулярной мембраны больной К., 71 г. Диагноз: центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия.

Эритроцитарнотромбоцитарная агрегация в просвете капилляра. Электронная микроскопия, ув. 5000.

5.3. Регматогенная отслойка сетчатки, осложненная пролиферативной витреоретинопатией

Пролиферативные мембраны, взятые в ходе витрэктомии у больных с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной ПВР, представлены фиброзной тканью (рис. 49). Составляющие ее коллагеновые волокна имеют различную толщину и плотность расположения. Среди клеточных элементов выявляются клетки фибробластического ряда с отростчатой или веретенообразной формой и базофильной цитоплазмой. В швартках обнаруживаются также многочисленные макрофаги, имеющие типичное строение, и сидерофаги с гранулами пигмента в цитоплазме. Встречаются лимфоциты.

Рыхлые пролиферативные мембраны достаточно тонкие, с повышенной эозинофилией межклеточного вещества. Со стороны немногочисленных сосудистых элементов отмечается пролиферация эндотелия.

Организация и уплотнение фиброзного компонента сопровождаются утолщением пролиферативных мембран. Среди немногочисленных клеток в таких мембранах преобладают фиброциты. Одновременно отмечается уменьшение плотности новообразованных сосудов. Часть из них сохраняет типичные форму и строение, в других – обычное строение нарушается: обнаруживаются отек и десквамация эндотелиальной выстилки, гиалиноз базальной мембраны.

В случаях кровоизлияния в стекловидное тело отмечается наличие эритроцитов, агрегированных в сгустки (рис. 50). Среди них выявляются также скопления макрофагов и лимфоцитов. Структура эритроцитов при этом отличается большим полиморфизмом, от полностью сохранных форм до гемолизированных, в которых сохраняется лишь цитоплазматическая мембрана. Обнаруживаются также сидерофаги.

Рис. 49. Фрагмент преретинальной шварты больного К., 33 л. Диагноз: ретинальная отслойка сетчатки, осложненная ПВР.

В поле зрения пролиферация эндотелия сосуда, многочисленные клетки фибробластического ряда, толстые коллагеновые волокна. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530

Рис. 50. Фрагмент преретинальной шварты больного Д., 42 л. Диагноз: регматогенная отслойка сетчатки, осложненная ПВР.

В поле зрения многочисленные эритроциты, клетки фибробластического ряда, макрофаги, коллагеновые волокна. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 370.

5.4. Морфогенез периретинальных пролиферативных мембран

Проблема развития и формирования пролиферативной ткани в полости глазного яблока находится в центре внимания современной офтальмологии. Актуальность изучения вопросов патогенеза фиброваскулярной пролиферации обусловлена развитием данного осложнения, приводящего к необратимым структурным и функциональным изменениям сетчатки и стекловидного тела, при различных видах патологии в заднем отрезке глаза. В связи с этим патогенетические аспекты проблемы пролиферации разрабатываются преимущественно с акцентом на отдельные нозологические формы [6, 92, 196, 281, 288, 302].

Несомненно, разные варианты фиброваскулярной пролиферации, осложняющей течение того или иного патологического процесса в заднем полюсе глазного яблока, во многом определяются особенностями его этиологии и патогенеза. Однако результаты проведенных морфологических исследований периретинальных мембран позволяют по иному взглянуть на проблему развития пролиферативной ткани.

Основными клеточными элементами, образующими фиброваскулярные мембраны, являются фибробласты, макрофаги, лимфоциты. Межклеточное вещество представлено коллагеновыми волокнами различной толщины и плотности расположения. Количественное соотношение тех или иных типов клеток в швартax варьирует (табл. 18), равно как и выраженность самих пролиферативных мембран. Морфологические особенности новообразованных сосудов и их численная плотность в пролиферативных мембранах зависят от выраженности и организации соединительнотканного компонента.

Тем не менее, существенных различий в строении эпи- и субретинальных швартax у больных ПВР, развившейся на фоне принципиально различных заболеваний (диабетическая ретинопатия, атеросклеротическая хориоретинопатия, регматогенная отслойка сетчатки), не выявлено.

Количественное соотношение клеточных элементов в пролиферативных мембранах в 1 мм² среза у больных пролиферативной витреоретинопатией (ПВР) различной этиологии, X

Группа больных	Количество клеток		
	Фибробласты	Макрофаги	Лимфоциты
Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия	475,89 (87%) n=25	43,73 (8%) n=25	27,35 (5%) n=25
Регматогенная отслойка сетчатки с ПВР	449,86 (83%) n=25	65,04 (12%) n=25	27,12 (5%) n=25
Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия	478,72 (88%) n=25	43,52 (8%) n=25	21,76 (4%) n=25

Примечание: n – количество срезов пролиферативных мембран.

Это патоморфологическое сходство позволяет думать об общем генезе формирования пролиферативной ткани в полости глазного яблока.

Различные этиологические и патогенетические факторы, определяя своеобразие картины на этапе инициации пролиферативного процесса, в дальнейшем ведут к близким морфологическим проявлениям. Сущность морфогенеза, как известно, заключается в пролиферации и дифференцировке клеточных элементов с последующей их пространственно-временной организацией в трехмерных структурах [158, 163, 202].

Реализуется это за счет реакций, имеющих воспалительную и регенераторную направленность и являющихся по существу неразрывными компонентами единой системы гуморально-клеточных взаимодействий, нацеленных на стабилизацию внутренней среды [59, 210, 218]. При этом указанные реакции находятся в реципрокных отношениях, влияя на интенсивность и продолжительность реализации друг друга.

Необходимо также отметить условность разделения воспаления и регенерации во времени. Так, например, уже в течение первых 2-х суток после регма-тогенной отслойки сетчатки отмечается миграция и пролиферация клеток РПЭ на поверхности сетчатки, а в стекловидном теле обнаруживаются фибробласто-подобные клетки [32, 255]. Клетки же, ответственные за воспалительную реакцию, выявляются на протяжении всего процесса формирования пролиферативных мембран [258, 311, 462]. Кроме того, в разных участках патологического очага воспаление и регенерация происходят с различной скоростью, вследствие чего они могут протекать одновременно [210].

Сущность отношений между воспалительной и регенераторной реакциями (рис. 51) определяется кооперативными взаимодействиями различных видов клеток (клетки РПЭ, моноциты, лимфоциты, фибробласты, эндотелий микрососудов) между собой и с межклеточным матриксом (коллаген, протеогликаны, фибронектин и др.) посредством прямых и обратных связей [112, 118, 157, 466]. Клеточные взаимодействия оказывают регулирующее индуктивное или ингибирующее влияние на поведение и функции клеток, определяя характер клеточного кооперирования в конкретно сложившейся ситуации. При различных видах патологии в заднем полюсе глазного яблока клеточная кооперация моноцитов, лимфоцитов и фибробластов, постоянно меняющаяся, в итоге направлена на репарацию тканевого дефекта с минимальными в данных условиях функциональными потерями [205, 210, 218, 466].

Реализация гомеокинетических механизмов, а именно, воспалительной и регенераторной реакций, во многом определяется величиной и длительностью действия повреждающих факторов в патологическом очаге. При непрекращающемся действии факторов тканевой деструкции нарушаются взаимосвязи между воспалением и регенерацией, вследствие чего утрачивается их защитно-



Рис. 51 Сущность воспалительной и регенераторной реакций в патогенезе пролиферативной витреоретинопатии (ПВР)

приспособительный характер [111, 118]. Воспаление становится хроническим, а фибропластический процесс, являющийся неотъемлемой частью репаративной регенерации, ведет к неадекватному фиброгенезу.

Как следствие, в ходе воспалительно-репаративного процесса в заднем полюсе глаза формируется особая, богатая новообразованными сосудами, рыхлая соединительная ткань, напоминающая грануляционную. Вновь образованные сосуды характеризуются повышенной проницаемостью, очень хрупки и легко кровоточат, что объясняет обнаружение в исследуемых образцах признаков кровоизлияний как в самих пролиферативных мембранах, так и в периретинальном пространстве. Согласно исследованиям ряда авторов [46, 95, 268, 269], в стенках новообразованных сосудов нередко отмечается чередование эндотелиоцитов различной величины, наличие плохо развитых межклеточных соединений, а также участки практически полного отсутствия базальной мембраны. Совокупность этих признаков и обуславливает повышенный диapedез.

По мере созревания ткани в полости глазного яблока изменяется и ее клеточный состав: среди клеток начинают преобладать синтезирующие фибробласты, межклеточное вещество уплотняется за счет соединительнотканых компонентов.

Одновременно происходит перекалибровка новообразованной сосудистой сети с регрессией большинства капилляров. При этом новообразованные сосуды, окруженные плотными соединительноткаными волокнами, представляют собой неспадающиеся тонкостенные структуры с запустевшим просветом (рис. 52), приобретая вид «псевдокавернозной» ткани [91, 182]. По сути, данная картина представляет собой конечную стадию процесса фиброваскулярной пролиферации. Наличие фиброзных мембран, обладающих контрактивными свойствами, обуславливает появление тракционных деформаций сетчатки.

Динамика развития пролиферативной ткани, осложняющая течение различных патологических процессов в заднем полюсе глазного яблока, свидетельствует о срыве гомеостатических механизмов в условиях декомпенсиро

Рис. 52. Фрагмент преретинальной шварты больного К., 35 л. Диагноз: сахарный диабет I типа, средней степени тяжести, фаза субкомпенсации. Диабетическая пролиферативная витреоретинопатия. В поле зрения плотно расположенные коллагеновые волокна, немногочисленные клетки и запустевшие сосуды. Окраска гематоксилином и эозином; ув. 530.

ванного повреждения. Несовместимость повреждения с компенсаторными возможностями гомеостаза на разных уровнях регуляции (клеточном, тканевом, органном) ведет к клинически значимым последствиям с развитием периретинальных пролиферативных мембран и необратимыми функциональными изменениями витреохориоретинальных структур.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, морфологическое изучение фиброваскулярной пролиферации при различных видах патологии в заднем отрезке глаза, наряду с этиологической и патогенетической спецификой, позволяет установить общую последовательность пространственно-временных изменений при формировании пролиферативной ткани в полости глазного яблока. Это, в свою очередь, дает полную возможность рассматривать в неразрывном единстве клинические, функциональные и морфологические проявления патологического процесса.

ГЛАВА 6

ПРОБЛЕМА СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ВИТРЕОРЕТИНОПАТИИ С ПОЗИЦИЙ СИСТЕМНОГО ПОДХОДА

Проблема патогенеза ПВР привлекает внимание ученых различных медико-биологических специальностей. Благодаря развитию и применению принципиально новых методических подходов за последние годы накоплено большое число важных фактов и представлений, касающихся различных сторон этиологии и патогенеза данного процесса. Современные сведения многочисленны, однако недостаточно сопряжены в понимании целостной картины патогенеза ПВР.

В связи с этим назрела необходимость изучения закономерностей становления и развития фиброваскулярной пролиферации в полости глазного яблока на основе системного подхода, поскольку он «помогает четче фиксировать познание на различных объектах ..., изучении интегральных свойств и закономерностей целостных явлений и их комплексов, анализе многомерных ситуаций и зависимостей» [93]. Такой подход предполагает также обязательный анализ функциональных связей системы, координации функций.

Ведущими моментами системного исследования в отношении данной конкретной проблемы можно назвать: выявление среди большого числа разнородных факторов главных, детерминирующих развитие пролиферативного процесса; установление взаимосвязей и взаимодействий между отдельными факторами, а также выяснение природы и сущности механизмов, опосредующих и модулирующих данные взаимосвязи и взаимодействия; определение влияния установленных взаимосвязей как на последовательность основных патогенетических событий в патологическом очаге, так и на исход процесса.

Изучение и обобщение имеющихся в научной литературе многочисленных данных о патогенезе ПВР, сопряжение результатов собственных экспери-

ментальных исследований и клинических наблюдений с базисными положениями учения о воспалении и регенерации, а также использование принципов системности позволяют исследовать проблему становления и развития пролиферативной ткани в полости глазного яблока с общих позиций.

Нарушение целостности витреоретинальных структур при развитии патологических процессов в заднем полюсе глазного яблока сопровождается миграцией форменных элементов крови, включая мононуклеары, в стекловидное тело. Подобные механизмы выхода клеток крови в разные ткани описаны при различной патологии [10]. Возникающие при этом изменения способствуют инициации ряда патогенетических событий, которые наслаиваются друг на друга. В стекловидном теле создается микросреда со сложными межклеточными и клеточно-структурными взаимоотношениями и взаимодействиями.

В общем клеточном ансамбле, помимо эритроцитов, присутствуют тромбоциты, моноциты/макрофаги, различных классов лимфоциты, кроветворные и стромальные родоначальные клетки. При наличии ретинальных дефектов существенно возрастает роль клеток РПЭ и глиии, оказывающих важное модулирующее влияние на поведение и функции других клеточных популяций [192, 194, 251, 253, 337, 378, 457]. Развитие пролиферативного процесса сопряжено с усложнением клеточного состава, обязательным участием в формировании периретинальных мембран фибробластов различной степени зрелости, а также коллагена, фибронектина и других компонентов внеклеточного матрикса.

Иными словами, в полости глазного яблока формируется сложная, многокомпонентная система с клеточными и внеклеточными элементами, определяющая развитие и последовательность основных событий в патологическом очаге. Однако реализация патогенетического потенциала указанной системы — это не суммирование числа и возможностей ее компонентов, а их тесная взаимосвязь и активное взаимодействие.

Необходимо отметить, что взаимодействие — процесс, в ходе которого причина и следствие постоянно меняются местами. Однако, во всяком взаимо-

действию следует искать ведущую сторону – ту, с которой начинается новый круг развития. Поэтому анализ межклеточных и клеточно-структурных взаимодействий на этапах инициации и развития фиброваскулярной пролиферации в полости глазного яблока является необходимым условием понимания сущности происходящих процессов.

Межклеточные взаимодействия оказывают регулирующее (индуктивное или ингибирующее) влияние на хемотаксис, дифференцировку и функции клеток в патологическом очаге. Осуществляются взаимодействия, преимущественно, через клеточные медиаторы (локальные и циркулирующие), а также посредством прямых межклеточных контактов и через внеклеточный матрикс [157, 158].

Среди медиаторов в межклеточных взаимодействиях наибольшее значение имеют локальные или короткодистантные, которые секретируются клеткой в малых количествах (цитокины). На современном этапе цитокины рассматриваются в качестве единой системы регуляции клеточных функций [87]. Их действие реализуется по сетевому принципу, т. е. передаваемая клеткой информация содержится не в индивидуальном пептиде, а в наборе регуляторных цитокинов. Эффект их действия быстро убывает, поэтому ограничен небольшим клеточным окружением. При этом цитокины действуют в отношениях синергизма или антагонизма каскадно, индуцируют выработку друг друга, регулируют численность популяции продуцирующих их клеток, а также оказывают влияние на другие клеточные популяции [87, 88].

Так, через большое число монокинов (известно более 40) моноциты/макрофаги влияют на миграцию, пролиферацию и функции лимфоцитов, гранулоцитов, эндотелиальных клеток и клеток РПЭ, индуцируют хемотаксис и пролиферацию фибробластов, влияют на продукцию коллагена (рис. 53) [111, 118, 185, 208]. Наличие двусторонних функциональных связей с различными (клеточными и внеклеточными) элементами позволяет говорить об интегратив

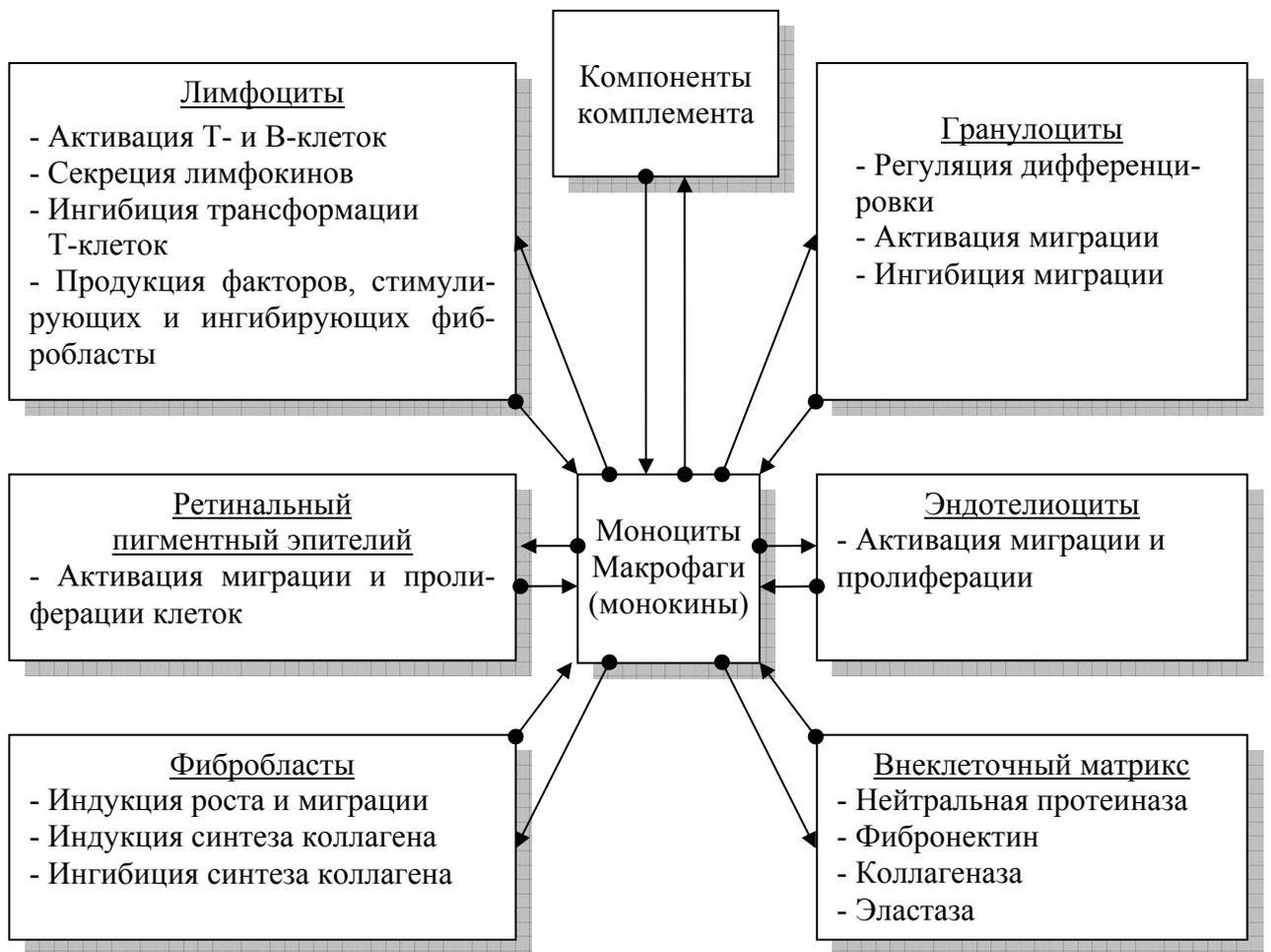


Рис. 53. Интегративная роль моноцитов/макрофагов в клеточной кооперации.

ной роли моноцитов/макрофагов в системе клеточно-гуморальной кооперации в патологическом очаге.

Не менее важное значение имеют и лимфокины, способные, например, угнетать или усиливать миграцию макрофагов [10, 259, 291, 458]. Среди них обнаружены также Т-клеточный фактор роста фибробластов, лимфоцитарный хемотаксический фактор для фибробластов и фибробластингибирующий фактор, тормозящий хемотаксис этих клеток, коллагенпродуцирующий фактор и В-клеточный ингибитор продукции коллагена [210, 218].

В то же время медиаторы, секретлируемые фибробластами, способны влиять на функции других клеток, особенно, макрофагов. Среди них важное значение имеют колониестимулирующий фактор, фактор роста макрофагов, фактор угнетения миграции макрофагов [96, 118, 158, 210].

Помимо локальных медиаторов, рассматриваемые клетки являются также источником циркулирующих в крови биологически активных веществ – PDGF, VEGF, TGF- β [253, 280, 283, 380, 423, 454, 474]. Благодаря потенцирующему влиянию друг на друга в сложных регуляторных системах, эти ростовые факторы способствуют привлечению в полость глазного яблока все новых и новых клеток, стимулируют пролиферацию уже имеющихся, а также инициируют неоваскулогенез.

Клеточная медиация, а затем и специфическая рецепция определяют характер клеточного кооперирования и взаимодействия, зависящий от условий, меняющихся по ходу патологического процесса.

Важную роль в клеточных взаимодействиях играют и прямые межклеточные контакты [157, 210]. Контактная регуляция имеет место в тех случаях, когда факторы, несущие информацию, не секретруются клеткой, а остаются на ее поверхности, и «предъявляются» при контакте рецепторам клеток-мишеней. Благодаря этому осуществляется целенаправленная и точная передача информации при минимальной затрате эффекторных веществ, причем возможно как направленное действие, так и обмен информацией.

Взаимодействия между клетками обеспечиваются также внеклеточным матриксом [138], который является не просто инертной массой, поддерживающей и амортизирующей клетки. В настоящее время внеклеточный матрикс рассматривается в качестве супрамолекулярного комплекса, образующего клеточное окружение и оказывающего влияние на адгезию клеток, их пролиферацию и дифференцировку [124, 180].

Для мигрирующих в полость глазного яблока клеток роль внеклеточного матрикса выполняет стекловидное тело. Образующие его фибриллярный остов, структурные гликопротеины, протеогликаны и коллаген участвуют в передаче информационных сигналов внутрь клетки, влияют на организацию цитоскелета, а также обеспечивают клеточный рост. Это позволяет говорить об участии фибриллярных структур стекловидного тела в механизмах морфогенеза.

Таким образом, анализ межклеточных взаимодействий в полости глазного яблока при развитии пролиферативного процесса свидетельствует о формировании целостной многокомпонентной системы (рис. 54), интегративные патогенетические свойства которой определяются спецификой связей и отношений между составляющими ее элементами. Целью данной системы является устранение повреждения в заднем полюсе глазного яблока, т. е. максимальное анатомическое восстановление тканей с минимальными в данных условиях функциональными потерями. Реализуется это за счет механизмов воспаления и репаративной регенерации [10, 133, 210].

Наличие связей и взаимодействий между элементами системы обеспечивает также относительно самостоятельное ее функционирование, основанное на принципах обратной связи, необходимого разнообразия, дублирования и антагонизма.

После установления клеточных коопераций дальнейшая динамика патогенетических событий определяется взаимодействиями клеток со структурными элементами оболочек в заднем полюсе глазного яблока (рис. 55). Происходит адгезия клеток на волокнах стекловидного тела и на поверхности сетчатки

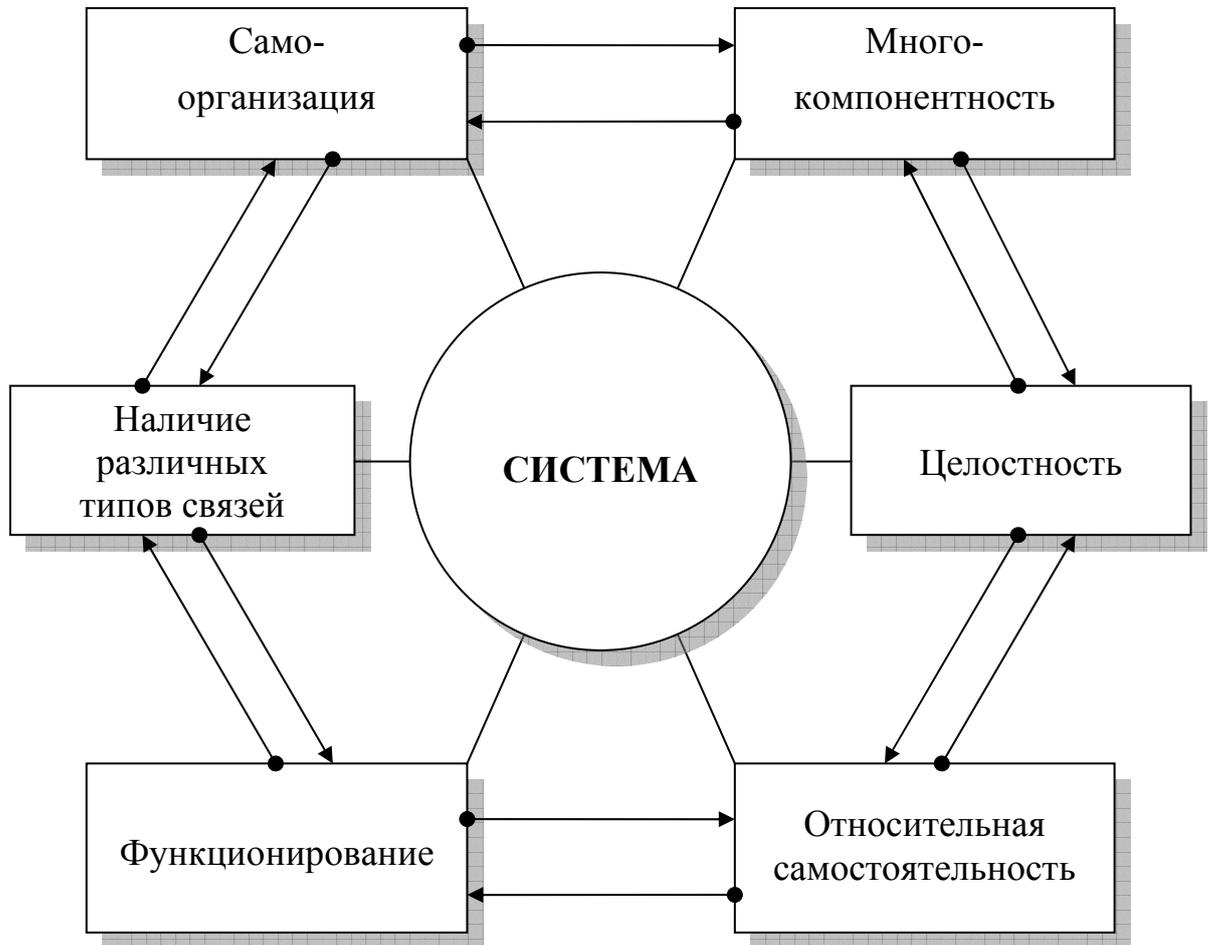


Рис. 54. Кардинальные признаки системы.

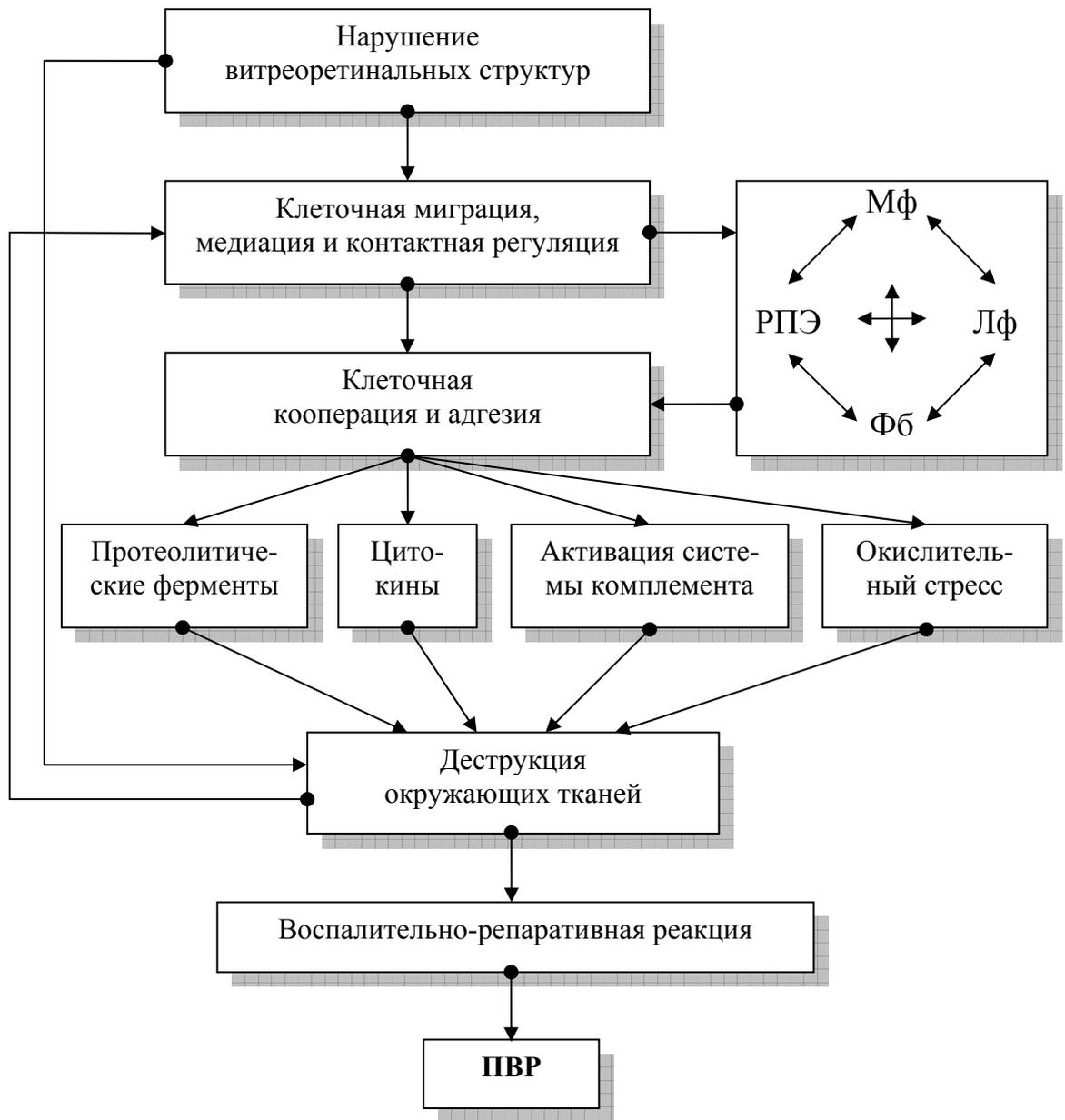


Рис. 55. Система клеточной кооперации – как главное звено патогенеза ПВР. (Мф – макрофаги, РПЭ – ретинальный пигментный эпителий, Лф – лимфоциты, Фб – фибробласты, ПВР – пролиферативная витреоретинопатия).

[194, 246, 378]. Однако содержание адгезивного процесса не ограничивается формированием физического контакта с субстратом и образованием клеточных агрегатов [193]. Адгезия – это динамический процесс между клетками и внеклеточным окружением, в ходе которого многие адгезивные молекулы (семейство интегринов, кадгеринов) обеспечивают также межклеточную сигнализацию [180]. Адгезия сопровождается функциональной перестройкой клеток, интенсивность которой имеет отношение к реализации их эффекторного заряда [111]. Секретируемые клетками цитокины, протеолитические ферменты (коллагеназа, эластаза, кислые гидролазы, катепсины) оказывают повреждающее действие на ткань сетчатки, коллагеновые волокна стекловидного тела как непосредственно, так и через активацию кининогенолиза и системы комплемента

Кроме того, клетки, преимущественно, макрофаги в процессе утилизации кислорода способствуют его частичному восстановлению с образованием свободных радикалов ($O_2^{\cdot -}$ – супероксиданион, OH^{\cdot} – гидроксирадикал, $\uparrow O_2$ – синглетный кислород) и перекиси водорода H_2O_2 . Биоокислители оказывают цитотоксическое действие, инициируя реакции перекисного окисления липидов в биологических мембранах [111, 112, 328]. Повышенный уровень синтеза свободных радикалов O_2 индуцирует также повреждение белков и нуклеиновых кислот. Модификации белков вызывают появление у них антигенных свойств, а образующиеся при этом иммунные комплексы, в свою очередь, стимулируют продукцию активированных форм кислорода.

Накопление биоокислителей, помимо повреждения биологических мембран, вызывает также разрушение коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса, провоцирует освобождение лизосомальных ферментов из разрушенных клеток в среду [118].

Все вышеизложенное позволяет рассматривать активированные формы кислорода как универсальные биотоксины, деструктивные эффекты которых обобщенно можно представить следующим образом:

- I. Прямая агрессивность.
 1. Перекисное окисление липидов
 2. Повреждение структурных белков и протеогликанов
 3. Повреждение нуклеиновых кислот
- II. Опосредованная агрессивность
 1. Повышение чувствительности к гидролазам
 2. Образование вторичных биотоксинов (гипохлорит, хлорамины)
 3. Активация коллагенолитических ферментов

В результате замыкается порочный патологический круг, и развивается состояние, обозначаемое как «хронический окислительный стресс» [68]. Иными словами, активированные формы кислорода включают дополнительные каналы реализации деструктивного потенциала (рис. 56).

На ранних этапах в участках локальной деструкции ткани сетчатки, образующихся вследствие повреждающего действия протеолитических ферментов и свободных радикалов O_2 , начинается активная пролиферация клеток РПЭ и глии с образованием эпиретинальной мембраны и появлением складчатости сетчатки [52, 194, 252, 254]. Продукты распада (мембраны разрушенных клеток, обрывки фибрилл в стекловидном теле) подключают мононуклеары (макрофаги) к фибропластическому процессу. В результате фагоцитоза продуктов деградации макрофаги активируются и начинают секретировать факторы роста фибробластов и индукторы синтеза коллагена.

Как известно, многоходовые макрофагально-фибробластические взаимодействия обеспечивают один из центральных механизмов подключения фибробластов к репаративным процессам [111]. Это способствует миграции и пролиферации фибробластов, их дифференцировке, синтезу и секреции коллагена и других компонентов матрикса, активному фибриллогенезу [25, 210].



Рис. 56. Роль свободнорадикальных окислительных процессов на начальных этапах развития пролиферативной витреоретинопатии

Однако, в зависимости от меняющихся по ходу воспалительного процесса условий, мононуклеары благодаря коллагенолитическим ферментам и другим гидролазам могут также участвовать и в резорбции межуточного вещества, способны секретировать факторы, стимулирующие продукцию коллагеназы в фибробластах, и факторы, усиливающие фагоцитоз фибрилл фиброкластами [111, 118, 210].

Все выше изложенное позволяет в настоящее время рассматривать мононуклеары в качестве истинных регуляторов фиброгенеза, оказывающих как индуцирующее, так и ингибирующее влияние на хемотаксис и функции фибробластов.

Современные представления о биологической роли мононуклеаров основываются на их функциональной гетерогенности, включающей фагоцитарные, регуляторные и эффекторные свойства, способности секретировать многочисленные продукты метаболизма, опосредующих функции данных клеток [67, 113]. Подтверждением этому служит возможность разделения клеточной популяции на фракции и субклассы, отличающиеся по своим свойствам [111, 112, 118, 235]. Кроме того, среди мононуклеаров периферической крови присутствуют клетки гемопоэтической и мезенхимальной линий различной степени дифференцировки [36, 187, 199]. В связи с этим уместно вспомнить мнение Н. Д. Стражеско и Д. Н. Яновского [167], полагавших, что «мононуклеар – это понятие не однородной клеточной формы, а собирательное понятие для различных, близких по внешним морфологическим признакам, но неоднородных по происхождению клеток».

Однако, несмотря на гетерогенность мононуклеарных клеток, неизменным остается их свойство функциональной полипотентности, т. е. способности реализовывать разные потенции генома в зависимости от регуляторных воздействий микроокружения [185, 235, 270, 384]. Термин «функциональная полипотентность» объединяет в себе высокую пластичность мононуклеаров, способность легко адаптироваться к любому микроокружению и меняющимся услови-

ям среды, а также возможность различных путей дифференцировки и специализации функций [74, 179]. В пользу подобной трактовки служат многочисленные данные об активации этих клеток под влиянием различных стимулов, вследствие чего у них могут появляться новые свойства, а также существенно меняться весь функциональный статус [113, 179, 185, 384].

Секреторный потенциал в сочетании с синтетическими ресурсами и функциональной полипотентностью значительно расширяют эффекторные возможности мононуклеаров, и способны внести существенные коррективы в систему клеточной кооперации и взаимодействий.

Так, после миграции в витреальную полость моноциты превращаются в макрофаги, которые, в свою очередь, адаптируются к среде их будущего обитания. Дифференцировка моноцитов в макрофагальные клетки осуществляется не одномоментно, а через дискретные этапы [111, 118]. Ход дифференцировочного процесса, равно как и степень активации клеток на каждом из его этапов, в значительной мере зависят от модулирующего влияния факторов микроокружения [67, 88].

Микроокружение в полости глазного яблока, по нашему мнению, складывается из взаимодействующего комплекса анатомо-физиологических особенностей и внестромальных компонентов регуляции.

Анатомо-физиологические особенности определяются наличием направленного движения внутриглазной жидкости и фибриллярным строением стекловидного тела. Внестромальные компоненты представлены как клеточными элементами, мигрирующими в витреальную полость (клетки РПЭ, глия, лимфоциты и т. д.), так и гуморальными факторами (цитокины, факторы роста). При подобном рассмотрении само понятие «микроокружение», на наш взгляд, приобретает более конкретное содержание.

После попадания в стекловидное тело, моноциты адгезируются к волокнам его фибриллярного остова, причем в данном случае, по всей видимости, имеет место гиперадгезивность – не новое качество, а усиление физиологиче-

ской функции, сопряженное с реактивной перестройкой клеток под влиянием флогогенных стимулов из микроокружения [111, 112].

Адгезированные к фибриллярному остову моноциты оказываются на пути движения внутриглазной жидкости от цилиарного тела к ретинальным сосудам. Помимо собственно внутриглазной жидкости, в направленном движении принимают участие также потоки различных ионов, продуктов метаболизма и многих других факторов.

Наличие направленного движения жидкости способно вызвать биохимические, морфологические и функциональные сдвиги в моноцитарных клетках, ускоряя процесс их дифференцировки в макрофаги. Подтверждением этому служат результаты культивирования *in vitro* мононуклеаров крови в динамических условиях: в ходе эксперимента отмечено повышение внутриклеточной ферментативной активности (α -нафтилацетатэстераза из группы неспецифических эстераз) в культивируемых клетках (табл. 8, 11, рис. 39), и макрофаги выявлялись через 72 часа после эксплантации. При культивировании в стандартных условиях макрофагальные клетки обнаруживаются на 7-е сутки [88].

В последующем макрофаги различной степени зрелости способны через IL-1, M-KCF или через влияние на лимфоциты регулировать привлечение в полость глазного яблока новых моноцитарных клеток, их дифференцировку и активацию.

Как отмечалось ранее, гетерогенность мононуклеаров крови в определенной степени обусловлена и присутствием в популяции клеток мезенхимальной природы различной степени дифференцировки [36, 199]. По данным А. Я. Фриденштейна [187], в крови среди мононуклеаров циркулируют клетки-предшественники фибробластов ($10^{-4} - 10^{-5}$), обладающие высоким пролиферативным потенциалом.

В связи с этим можно предположить, что вместе с мононуклеарами в витреальную полость поступают и молодые мезенхимальные (стромальные) клетки. Согласно современным представлениям [199, 266], микроокружение по от-

ношению к недифференцированным клеткам выполняет лишь перmissive роль. После клеточной адгезии оно способствует пролиферации уже коммитированных к определенной линии дифференцировки клеток-предшественников.

Однако при культивировании *in vitro* мононуклеаров крови в условиях направленного движения питательной среды уже через 72 часа после эксплантации в культуре обнаружены клетки, фенотипически соответствующие зрелым фибробластам. При культивировании в стандартных условиях фибробласты в культуре выявляются на 4-5-е сутки [187].

Полученные результаты, на наш взгляд, позволяют расширить представления о влиянии факторов микроокружения на реализацию пролиферативного и дифференцировочного потенциала клеток-предшественников фибробластов.

Как известно, цитодифференцировка – это процесс формирования у клеток при соответствующих (благоприятных) условиях окружения специализированных структур и функций [28, 29].

Возможно, такой благоприятной для реализации дифференцировочных потенциалов молодых мезенхимальных клеток средой и является микроокружение в полости глазного яблока. При постоянном влиянии направленного движения жидкости в адгезированных клетках-предшественниках происходит серия модификационных трансформаций, связанных с активацией дополнительных ферментных систем и новых механизмов биосинтеза. Так, при культивировании в динамических условиях отмечено повышение активности α -нафтилацетат-эстеразы, не ингибируемой фторидом натрия, и выявлена щелочная фосфатаза, активность которой постепенно возрастала (табл. 8).

Изменения внутриклеточных биохимических процессов сопряжены с активацией и инактивацией различных наборов генов, обеспечивающих клеточный гомеостаз и гомеокинез [124, 180]. Более того, переход метаболизма клеток на качественно новый уровень неразрывно связан с определенной стадией их дифференцировки, каждая из которых в настоящее время рассматривается как компонент единой дифференцировочной программы [199].

Изменение экспрессии генов, обусловленное внутриклеточными биохимическими сдвигами, по всей видимости, инициирует реализацию дифференцировочной программы в соответствующем направлении. В результате клетки-предшественники фибробластов при модулирующем влиянии факторов микроокружения (направленный поток жидкости, фибриллярный остов стекловидного тела) быстро дифференцируются в зрелые формы, продуцирующие коллаген (рис. 37, 38).

Далее в патологическом очаге, в соответствии с влиянием микроокружения и гуморальных стимулов макрофагов и лимфоцитов, фибробласты начинают процесс фиброгенеза, включающий продукцию гликозаминогликанов, биосинтез коллагена, активный фибриллогенез [158, 211, 212]. Модулирующее влияние на функции фибробластов оказывают также тромбоциты, клетки РПЭ [111, 251].

Синхронно с ростом фиброзных волокон отмечается и рост новообразованных сосудов, поскольку факторы секретируемые макрофагами, лимфоцитами и другими клетками, не только воздействуют на фибробласты, но и стимулируют неоваскулогенез [46, 95, 252, 307, 422].

Таким образом, клеточно-гуморальная кооперация в полости глазного яблока обуславливает быстрое развитие периретинальных пролиферативных мембран. В этом патологическом процессе, наряду с резидентными клетками, участвуют мононуклеары крови (рис. 51, 55), резко ускоряющие динамику заболевания.

С позиций системного подхода рассмотренная выше динамика основных патогенетических событий при формировании пролиферативной ткани отражает проблему развития и функционирования образующейся в полости глазного яблока сложной многокомпонентной системы. Движение, развитие данной системы находит различные проявления.

Так, в процессе развития система активно воздействует на составляющие ее компоненты, преобразует их и интегрирует. Наглядным примером этому

служат регулирующие влияния межклеточных взаимодействий на миграцию, пролиферацию и функции клеток в патологическом очаге.

Сложные изменения претерпевают присущие системе внутренние связи и внешние взаимодействия. Развиваются формы и способы связи между компонентами системы. При этом возникают новые связи, дифференцируются существующие. Происходит перегруппировка имеющихся компонентов, что отражает меняющиеся по ходу патологического процесса условия.

Функционирование системы осуществляется в определенном микроокружении, что непосредственно влияет на характер взаимосвязей и взаимодействий составляющих ее компонентов. Необходимо учитывать, что чем сложнее, организованнее целостная система, тем разнообразнее ее взаимодействие со средой, тем более она чувствительна к внешним условиям.

Микроокружение – тот необходимый фон, на котором и при участии которого разворачивается функционирование системы. Под воздействием микроокружения происходит та или иная перестройка отдельных компонентов и системы в целом. Так, при модулирующем влиянии факторов микроокружения молодые клетки фибробластической популяции, обладая высокими пролиферативными способностями, более полно реализуют дифференцировочный потенциал.

Благодаря новым компонентам и их связям, новым свойствам имеющихся компонентов и их взаимодействиям целостная система обретает новые функции. По отношению к пролиферативному процессу в полости глазного яблока таковой является фибропластическая функция.

От условий микроокружения в значительной мере зависит и общее направление развития системы.

В условиях длительного или, преимущественно, перманентного действия агрессивных факторов адаптивный характер миграции мононуклеаров крови в задний полюс глазного яблока, имеющий целью стабилизировать внутреннюю среду, утрачивает защитно-приспособительный характер и способствует хрони-

зации воспаления. Сопряженная с воспалением репаративная реакция также теряет защитно-приспособительные свойства, с помощью которых фибропластические процессы осуществляются при минимальной затрате гомеостатических ресурсов.

Происходит разобщение между воспалительной и репаративной реакциями, что значительно усложняет систему межклеточных взаимодействий, меняя масштабы фиброгенеза в сторону неадекватного разрастания фиброваскулярной ткани в полости глазного яблока.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, изучение механизмов ПВР с позиций системного подхода указывает на формирование в полости глазного яблока целостной относительно самостоятельной системы, главным патогенетическим фактором которой являются мигрирующие из крови мононуклеарные элементы (моноциты, фибробластоподобные клетки). Целью системы является восстановление нарушенного динамического постоянства внутренней среды с минимальными функциональными потерями. Однако, развитие системы при модулирующем влиянии микроокружения сопровождается увеличением количества ее компонентов, усложнением их взаимосвязей и взаимодействий, способствуя тем самым прогрессированию патологического процесса. Возможно, подобная негативная динамика событий является общебиологической закономерностью, поскольку описана при других патологических процессах и в других системах организма [10].

Динамика основных патогенетических событий включает качественные преобразования системы и в дальнейшем характеризуется формированием в полости глазного яблока фиброваскулярных пролиферативных мембран.

Фундаментальные исследования патогенеза ПВР, имеющего сложный и разноплановый характер, на современном этапе проводятся в нескольких направлениях.

Традиционным, однако, не менее актуальным и интересным, является изучение биологически активных веществ, установление их роли в молекуляр-

ных механизмах регуляции пролиферативного процесса в полости глазного яблока. Открываются новые факторы роста, изучаются их свойства и структура. Вместе с тем, исследуется строение специфических рецепторов для различных факторов на мембранах клеток, изучается кинетика взаимодействия лигандов с рецепторами, эндоцитоз и внутриклеточные превращения лиганд-рецепторных комплексов.

Существенную роль в изучении патогенетических механизмов фиброваскулярной пролиферации играет экспериментальное моделирование ПВР. Основная задача экспериментов заключается не только в моделировании патологического процесса у животных, относительно сходного с тем, что наблюдается у человека, но и исследование его в динамике развития.

Главным критерием модели ПВР является обнаружение тракционной отслойки сетчатки и развитие фиброваскулярных пролиферативных мембран в полости глазного яблока у экспериментальных животных. При этом наиболее точные критерии основываются на результатах морфологических исследований, позволяющих не только верифицировать отслойку сетчатки, но и обнаружить начальные стадии развития пролиферативной ткани.

Экспериментальное моделирование открывает также перспективы для разработки патогенетически ориентированных методов лечения и профилактики ПВР.

Значительному прогрессу в изучении патогенеза ПВР способствует применение методов функциональной патоморфологии для исследования биологических и структурных особенностей клеток, формирующих периретинальные пролиферативные мембраны.

Поскольку основные научно-исследовательские задачи нашей работы связаны с изучением клеточных механизмов развития фиброваскулярной пролиферации в полости глазного яблока, то именно экспериментальное моделирование и функциональная патоморфология послужили основой для их решения.

Результатом работы стало создание двух новых экспериментальных моделей ПВР путем интравитреального введения моноклеаров крови в условиях нормо- и гипергликемии. Это позволило получить дополнительные данные о патогенезе пролиферативного процесса. Следует отметить, что начальные стадии развития витреоретинальной пролиферации в значительной степени обусловлены межклеточными и клеточно-структурными взаимодействиями в патологическом очаге.

В дальнейшем полученные результаты, исходя из представлений о клеточных механизмах развития ПВР, могут послужить основой для создания системы медикаментозного лечения и профилактики данного заболевания.

На наш взгляд кажется оправданным подход к изучению патогенеза витреоретинальной пролиферации с учетом роли микроокружения в развитии патологического процесса.

Микроокружение – тот фон, на котором и при участии которого разворачиваются основные патогенетические события. В полости глазного яблока микроокружение складывается из взаимодействующего комплекса анатомо-физиологических особенностей (направленное движение внутриглазной жидкости, фибриллярное строение стекловидного тела) и внестромальных компонентов регуляции (клеточных и гуморальных).

Нами разработан новый способ культивирования *in vitro* моноклеаров периферической крови человека с помощью устройства, позволяющего моделировать движение питательной среды, сходное с движением жидкости в полости глазного яблока. Результаты культивирования моноклеаров крови в динамических условиях позволили расширить представления о влиянии факторов микроокружения на морфофункциональное состояние изучаемых клеток. Полученные данные, на наш взгляд, могут также внести коррективы в существующую систему знаний о фиброгенной функции моноклеаров и их участии в фибропластическом процессе.

В дальнейшем перспективным путем исследований может стать изучение влияния направленного движения жидкости на морфофункциональное состояние других клеточных элементов, образующих пролиферативные мембраны.

Гистологические исследования периретинальных пролиферативных мембран у больных ПВР различной этиологии (диабетическая пролиферативная витреоретинопатия; центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия; регматогенная отслойка сетчатки) позволили установить их сходное морфологическое строение. Полученные данные подтверждают предположение о том, что развитие и формирование пролиферативной ткани в полости глазного яблока, а также осложнения, вызванные ее ростом, происходят по общему плану.

Изучение клеточного состава, анализ клеточно-структурных взаимодействий в патологическом очаге при развитии ПВР является, на наш взгляд, необходимым условием понимания сущности происходящих процессов. Смысл системного рассмотрения проблемы патогенеза ПВР заключается в интеграции разнородных частных явлений, установлении связей и отношений между ними, определении фазовых смен основных патогенетических событий. Подобный подход создает основу для построения концептуальной схемы изучаемой проблемы с тем, чтобы в дальнейшем перейти к разработке практических рекомендаций.

ВЫВОДЫ:

1. Периретинальные фиброваскулярные мембраны у больных с различной патологией в заднем отрезке глаза (диабетическая пролиферативная витреоретинопатия; центральная атеросклеротическая хориоретинопатия, далеко зашедшая стадия; регматогенная отслойка сетчатки, осложненная пролиферативной витреоретинопатией) характеризуются сходным морфологическим строением, что свидетельствует об общем патогенезе пролиферативных изменений в полости глазного яблока.
2. Развитие экспериментальной пролиферативной витреоретинопатии, проявляющейся фиброваскулярной пролиферативной реакцией и тракционной отслойкой сетчатки с последующей субатрофией глазного яблока, индуцируется интравитреальным введением моноклеарных клеток крови.
3. На фоне экспериментального сахарного диабета моноклеары крови способствуют резкому прогрессированию некроза нейросенсорных клеток с очаговым выпадением соответствующих слоев сетчатки и разрастанием радиальной глии. При этом отмечается увеличение скорости и амплитуды пролиферативных изменений в полости глазного яблока, формирование массивных фиброзных шварт, тракционная отслойка сетчатки, интенсивный неоваскулогенез.
4. Культивирование *in vitro* моноклеаров периферической крови человека в условиях направленного движения питательной среды, моделирующих движение внутриглазной жидкости, вызывает последовательное повышение внутриклеточной ферментативной активности и ускорение (по сравнению со стационарной культурой) процесса дифференцировки моноцитов в макрофагальные клетки.
5. При проточном культивировании *in vitro* моноклеаров периферической крови человека, в отличие от стационарной культуры, выявлены клетки, цитохимический профиль которых соответствует молодым элементам

фибробластической популяции. При этом молодые стромальные клетки быстро, в течение 3 суток, дифференцируются в зрелые формы, синтезирующие коллаген.

6. Системный анализ механизмов пролиферативной витреоретинопатии указывает на формирование в полости глазного яблока сложной системы, главным патогенетическим фактором которой являются мигрирующие из крови мононуклеарные элементы (моноциты, фибробластоподобные клетки), способные инициировать и усиливать развитие фиброваскулярной ткани.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью ограничения миграции мононуклеаров крови в полость глазного яблока и уменьшения их негативного влияния на витреоретинальные структуры у больных с различной патологией заднего отрезка глаза, патогенетически обоснованно назначение ангиопротекторов, антиоксидантов и противовоспалительных средств.

2. При кровоизлияниях в стекловидное тело необходимо проведение своевременной, по возможности, ранней, трансклиарной витрэктомии.

3. При появлении эпиретинальной пролиферативной ткани на начальной стадии развития ПВР целесообразно интравитреальное введение коллагенолитических препаратов с последующей витрэктомией и удалением пролиферативных мембран.

4. Вариант клеточной терапии заболеваний с местным введением сингенных мононуклеарных лейкоцитов может иметь негативные последствия, связанные с инициацией и ускорением фиброваскулярных пролиферативных реакций.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Агафонов В. А Морфологические исследования стекловидного тела при диабетической ретинопатии / В. А. Агафонов, Н. С. Барабаш // Вестн. офтальмологии.- 1986.- Т. 102, № 5.- С. 61-65.
2. Адамс Р. Методы культуры клеток для биохимиков / Р. Адамс / Пер. с англ.- М.: Мир, 1983.- 264 с.
3. Александров В. Я. Поведение клеток и внутриклеточных структур / В. Я. Александров.- М.: Знание, 1975.- 65 с.
4. Алиева З. А. О возможной роли антиоксидантной системы стекловидного тела в задержке развития диабетической ретинопатии / З.А Алиева // Офтальмол. журн.- 1985.- № 3.- С. 142-143.
5. Альбанский В. Г. Ретролентальная фиброплазия / В. Г. Альбанский, А. И. Медведев // Вестн. офтальмологии.- 1983.- № 2.- С. 65-68.
6. Антелава Н. Д. Клиника и лечение пролиферативной витреоретинопатии при регматогенной отслойке сетчатой оболочки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н. Д. Антелава.- М., 1998. – 22 с.
7. Антелава Н. Д. Электроретинографическая характеристика пролиферативной витреоретинопатии при регматогенной отслойке сетчатки / Н. Д. Антелава, М. В. Зуева, И. В. Цапенко // Вестн. офтальмологии.- 1999.- № 6.- С. 27-29.
8. Архипов С. А. Эпителиоидная клетка. Новая концепция происхождения и дифференцировки / С. А. Архипов.- Новосибирск: Наука, 1997.- 88 с.
9. Афанасьев В. Г. Системность и общество / В. Г. Афанасьев.- М.: Политиздат, 1980.- 368 с.
10. Бабаева А. Г. Иммунологические механизмы регуляции восстановительных процессов / А. Г. Бабаева.- М.: Медицина, 1972.- 159 с.
11. Багров С. Н. Локализация гемопротеидов сетчатки при интравитреальных кровоизлияниях / С. Н. Багров, Я. И. Глинчук // Вестн. офтальмологии.- 1978.- № 1.- С. 69-71.

12. Байтерякова Л. С. Клинико-морфологические исследования органа зрения при аллоксановом диабете в эксперименте / Л. С. Байтерякова, Ю. М. Корецкая // Офтальмол. журн.- 1980.- № 5.- С. 306-309.
13. Балашова Л. М. Антитела к коллагену II и IV типов, фактор некроза опухоли альфа и циркулирующие иммунные комплексы в слезе и сыворотке крови у больных с различными стадиями диабетической ангиоретинопатии / Л. М. Балашова, Н. С. Зайцева, Л. Е. Теплинская // Вестн. офтальмологии.- 2000.- № 3.- С. 31-34.
14. Балашова Л. М. Биологически активные вещества в регуляции витреоретинальной пролиферации / Л. М. Балашова // Вестн. офтальмологии.- 1995.- Т. 111, № 3.- С. 31-33.
15. Балашова Л. М. Задняя гиалоидная мембрана: анатомо-физиологические особенности, роль в развитии витреоретинальной пролиферации / Л. М. Балашова, Н. С. Борзун, М. Н. Ажугим // Российский мед. журн.- 2002.- Т. 3, № 2.- С. 78-80.
16. Балашова Л. М. Иммунологические факторы в патогенезе витреохориоретинальных дистрофий и дистрофической отслойки сетчатки, осложненной пролиферативной витреоретинопатией / Л. М. Балашова, В. Ю. Евграфов // Офтальмохирургия.- 1995.- № 4.- С. 48-53.
17. Балашова Л. М. Морфологические особенности витреоретинальной пролиферации, осложняющей дистрофическую отслойку сетчатки, и экспериментальное моделирование / Л. М. Балашова, В. Ю. Евграфов // Вестн. офтальмологии.- 1995.- Т. 111, № 2.- С. 37-39.
18. Балашова Л. М. Морфологические особенности и иммуногемостатические механизмы развития диабетической ретинопатии / Л. М. Балашова // Вестн. офтальмологии.- 1999.- № 5.- С. 45-48.
19. Балашова Л. М. Отслойка задней гиалоидной мембраны у больных диабетической ретинопатией / Л. М. Балашова, А. П. Нестеров, В. В. Новодежкин // Клиническая геронтология.- 2001.- № 8.- С. 51-57.

20. Балашова Л. М. Патогенетические факторы развития пролиферативной витреоретинопатии при дистрофической отслойке сетчатки / Л. М. Балашова, Н. С. Зайцева, Е. О. Саксонова // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 12-13.
21. Балашова Л. М. Роль взаимосвязанных иммунологических и гемостатических факторов в развитии пролиферативных процессов различной этиологии / Л. М. Балашова, Н. С. Зайцева, Л.Е Теплинская // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 6.
22. Балашова Л. М. Роль иммунологических факторов в развитии пролиферативной диабетической ретинопатии / Л. М. Балашова, Н. С. Зайцева, Л. Е. Теплинская // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 16.
23. Безпальчий А. Н. Кислотно-щелочное состояние внутриглазных сред у больных сахарным диабетом / А. Н. Безпальчий, Я. И. Глинчук // Вестн. офтальмологии.- 1986.- Т. 102, № 5.- С. 59-61.
24. Беликова Т. В. Иммунологическое изучение водорастворимых органоспецифических антигенов сетчатой оболочки глаза / Т. В. Беликова, В. А. Терентьев // Иммунология.- 1985.- № 2.- С. 24-27.
25. Бобро Л. И. Фибробласты и их значение в тканевых реакциях / Л. И. Бобро // Арх. патологии.- 1990.- Т. 52, № 12.- С. 65-68.
26. Ваничкин А. А. Нарушения иммунореактивности и их коррекция у больных с регматогенной отслойкой сетчатки, осложненной витреоретинальной пролиферацией / А. А. Ваничкин, А. И. Ковалев, Т. П. Михайлова // Офтальмол. журн.- 1990.- № 7.- С. 393-396.
27. Варакута Е. Ю. Структурные изменения сетчатки глаза на ранней стадии аллоксанового диабета при воздействии света высокой интенсивности (экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е. Ю. Варакута.- Томск, 2002.- 21 с.

28. Вахтин Ю. Б. Генетика соматических клеток / Ю. Б. Вахтин.- Л.: Наука, 1974.- 258 с.
29. Вахтин Ю. Б. Генетическая теория клеточных популяций / Ю. Б. Вахтин.- Л.: Наука, 1980.- 168 с.
30. Винькова Г. А. Влияние повторных прободных травм на состояние некоторых биохимических показателей слезной жидкости и тканей глаза у экспериментальных животных / Г. А. Винькова // II Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии / Екатеринбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Екатеринбург, 2001.- С. 196-197.
31. Винькова Г. А. Изменения показателей системного и местного иммунитета под влиянием повторных вмешательств на глазах, перенесших прободные ранения / Г. А. Винькова // Вопросы офтальмологии / Красноярская гос. мед. академия.- Красноярск, 2001.- С. 56-57.
32. Войно-Ясенецкий В. В. Разрастание и изменчивость тканей глаза при его заболеваниях и травмах / В. В. Войно-Ясенецкий.- Киев: Вища школа, 1979.- 224 с.
33. Войтенок Н. Н. Интерлейкин-1: закономерности синтеза, биологическая активность / Н. Н. Войтенок // Успехи совр. биологии.- 1988.- Т. 106, № 3.- С. 102-104.
34. Волков В. В. Новые аспекты патогенеза, лечения и профилактики отслойки сетчатки / В. В. Волков, Р. Л. Трояновский // Актуальные проблемы офтальмологии / Под ред. М. М. Краснова, А. П. Нестерова, С. Дыбова.- М.: Медицина, 1981.- С. 140-171.
35. Гаврилова Т. В. Анализ эффективности иммунокорректирующей терапии при проникающих ранениях глаза различной степени тяжести / Т. В. Гаврилова, М. В. Черешнева, В.Н Бусырева // II Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии / Екатеринбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Екатеринбург, 2001.- С. 197-198.

36. Гаврилов О. К. Клетки костного мозга и периферической крови / О. К. Гаврилов, Г. И. Козинец, Н. Б. Черняк.- М.: Медицина, 1985.- 288 с.
37. Гаджиев Р. В. Отслойка стекловидного тела в патогенезе диабетической ретинопатии / Р. В. Гаджиев // Офтальмохирургия.- 1992.- № 2.- С. 48-52.
38. Глебов Р. Н. Эндоцитоз и экзоцитоз / Р. Н. Глебов.- М.: Высш. школа, 1987.- 95 с.
39. Глинчук Я. И. Клинические результаты применения жидких перфторорганических соединений в комплексном хирургическом лечении тракционных отслоек сетчатки с захватом макулярной области при пролиферативной диабетической ретинопатии / Я. И. Глинчук, С. А. Метаев, А. И. Саркисян // Офтальмохирургия.- 1996.- № 2.- С. 7-12.
40. Глинчук Я. И. Роль витрэктомии в лечении заболеваний глаз травматической, дегенеративной и воспалительной этиологии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Я. И. Глинчук.- М., 1987.- 44 с.
41. Глинчук Я. И. Содержание иммуноглобулинов в стекловидном теле и антител к антигенам стекловидного тела в сыворотке крови больных с пролиферативной диабетической ретинопатией / Я. И. Глинчук, Л. Ф. Лазаренко, В. И. Емец // Вестн. офтальмологии.- 1987.- Т. 103, № 2.- С. 46-49.
42. Глинчук Я. И. Хирургическое лечение гемофтальмов и помутнений стекловидного тела методом закрытой витрэктомии: Дис. ... канд. мед. наук / Я. И. Глинчук.- М., 1975.- 346 с.
43. Гогина И. Ф. Аутоаллергические и аутоиммунные аспекты патогенеза не-пролиферативной и пролиферативной диабетической ретинопатии / И. Ф. Гогина // Офтальмол. журн.- 1991.- № 5.- С. 286-290.
44. Гольдберг Е. Д. Методы культуры ткани в гематологии / Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. П. Шахов.- Томск: Изд-во ТГУ, 1992.- 264 с.
45. Гундорова Р. А. Травмы глаза / Р. А. Гундорова, А. А. Малаев, А. М. Южаков.- М.: Медицина, 1986.- 368 с.

46. Гурина О. Ю. Механизмы неоваскулогенеза и его регуляция во взрослом организме / О. Ю. Гурина, В. В. Куприянов, А. А. Миронов // Арх. анатомии.- 1985.- № 1.- С. 9-23.
47. Даниличев В. Ф. Патология глаз. Ферменты и ингибиторы / В. Ф. Даниличев.- СПб: Стройлеспечать, 1996.- 240 с.
48. Даниличев В. Ф. Травмы и заболевания глаз: Применение ферментов и пептидных регуляторов / В. Ф. Даниличев, И. Б. Максимов.- Минск: Наука и техника, 1994.- 223 с.
49. Дегтяренко Т. В. Особенности иммунологического состояния организма и сенсибилизация к антигенам глаза и инсулину у больных с пролиферирующей диабетической ретинопатией / Т. В. Дегтяренко // Офтальмол. журн.- 1981.- № 2.- С. 95-98.
50. Джаксон С. Строение коллагеновых волокон / С. Джаксон, Ф. С. Стевен // Современные биохимические и морфологические проблемы соединительной ткани / Новосибирский гос. мед. ин-т.- Новосибирск, 1971.- С. 13-22.
51. Должич Г. И. Клинико-биохимические параллели при геморрагических осложнениях пролиферативной диабетической ретинопатии / Г. И. Должич, Л. М. Хасаулова, С. Н. Черкашин // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2002.- С. 38-39.
52. Думброва Н. Е. Современные данные о структуре и функциях пигментного эпителия сетчатки / Н. Е. Думброва, Н. И. Нестерук // Офтальмол. журн.- 1991.- № 4.- С. 243-246.
53. Дыбов С. Аблационная болезнь / С. Дыбов // Актуальные проблемы офтальмологии / Под ред. М. М. Краснова, А. П. Нестерова, С. Дыбова.- М.: Медицина, 1981.- С. 123-139.
54. Евграфов В. Ю. Внутриглазные кровоизлияния диабетического генеза: современные представления о патогенезе и ферментотерапия / В. Ю. Евграфов, Ж. Ю. Алябьева // Вестн. офтальмологии.- 1995.- Т. 111, № 4.-

- графов, Ж. Ю. Алябьева // Вестн. офтальмологии.- 1995.- Т. 111, № 4.- С. 35-37.
55. Евграфов В.Ю. Методы коррекции гемостаза в лечении пролиферативной диабетической ретинопатии и ее осложнений / В. Ю. Евграфов // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 54-55.
56. Евграфов В. Ю. Некоторые подходы к лечению диабетического гемофтальма / В. Ю. Евграфов, О. А. Крутенков, Ю. Е. Батманов // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 85-91.
57. Евграфов В. Ю. О тактике консервативного лечения диабетического гемофтальма / В. Ю. Евграфов, О. А. Крутенков // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 55-56.
58. Епифанова О. И. Покоящиеся клетки. Свойства и функции в организме / О. И. Епифанова, В. В. Терских., В. А. Полуновский.- М.: Наука, 1983.- 176 с.
59. Ерохин И. А. Воспаление как общебиологическая проблема / И. А. Ерохин, В. Я. Белый, В. К. Вагнер.- Л.: Наука, 1989.- 262 с.
60. Ефендиев Н. М. Некоторые биохимические изменения стекловидного тела после фракционного введения в него аутокрови / Н. М. Ефендиев // Актуальные проблемы офтальмологии: Сб. науч. трудов / Азербайджанский гос. мед. ин-т.- Баку, 1978.- С. 1-7.
61. Ефимов А. С. Диабетические ангиопатии / А. С. Ефимов.- М.: Медицина, 1989.- 288 с.
62. Заварзин А. А. Избранные труды: В 4 т. / А. А. Заварзин / Под ред. Д. Н. Насонова.- М.: Изд-во АН СССР, 1952.- 4 т.
63. Зайцева Н. С. Иммунологические нарушения при отслойке сетчатки / Н. С. Зайцева, Е. О. Саксонова, О. С. Слепова // Патология глазного дна / НИИ глазных болезней им. Гельмгольца.- М., 1986.- С. 86-87.

64. Зайцева Н. С. Проявления иммунопатологии и обоснование иммунотерапии диабетической ретинопатии / Н. С. Зайцева, Л. К. Дудникова // Вестн. офтальмологии.- 1997.- Т. 113, № 1.- С. 27-31.
65. Зайцева Н. С. Увеиты / Н. С. Зайцева, Л. А. Кацнельсон.- М.: Медицина, 1984.- 320 с.
66. Запускалов И. В. Роль венозных сосудов в регуляции периферического кровообращения / И. В. Запускалов.- Томск: Изд-во ТГУ, 1994.- 160 с.
67. Земсков В. М. Гетерогенность мононуклеарных фагоцитов / В. М. Земсков, Е. Н. Николаева, С. В. Родионов // Успехи совр. биологии.- 1993.- Т. 113, вып. 3.- С. 336-350.
68. Зенков Н. К. Свободнорадикальные окислительные процессы в хроническом воспалении / Н. К. Зенков, Е. Б. Меньщикова // Фундаментальные и клинические аспекты хронического воспаления / Научный центр клинической и экспериментальной медицины.- Новосибирск, 2000.- С. 91-91.
69. Иванов В. В. Морфологическая картина тканей глаз при экспериментальном замещении стекловидного тела высокомолекулярным поливинилпирролидоном / В. В. Иванов, И. А. Алексеева, Г. Ф. Шестакова // Современные технологии в хирургии глаза и оптической коррекции зрения / Всероссийский центр глазной и пластической хирургии.- Уфа, 1999.- С. 57-59.
70. Игнатьев С. Г. К вопросу о классификации клинического состояния стекловидного тела / С. Г. Игнатьев // II Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии / Екатеринбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Екатеринбург, 2001.- С. 316-317.
71. Иммунология глазной патологии / Н. А. Пучковская, Н. С. Шульпина, Н. Г. Минев, Р. К. Игнатов.- М.: Медицина, 1983.- 208 с.
72. Казанец Л. И. Состояние местного и системного гуморального иммунитета у лиц с близорукостью / Л. И. Казанец, Л. А. Дюговская // Вестн. офтальмологии.- 1988.- Т. 8, № 5.- С. 35-36.

73. Калинин А. П. Офтальмоэндокринология / А. П. Калинин, В. П. Можеренков, Г. Л. Прокофьева.- М.: Медицина, 1999.- 160 с.
74. Карр Я. Макрофаги. Обзор ультраструктуры и функций / Я. Карр: Пер. с англ. // Под ред. Ю. И. Афанасьева.- М.: Медицина, 1978.- 189 с.
75. Кацнельсон Л. А. Изучение активности сериновых протеаз типа трипсина и их ингибиторов в крови и субретинальной жидкости у больных с различными стадиями пролиферативной витреоретинопатии при регматогенной отслойке сетчатой оболочки / Л. А. Кацнельсон, Н. Б. Чеснокова, Н. Д. Антелава // Вестн. офтальмологии.- 2000.- № 1.- С. 24-26.
76. Кацнельсон Л. А. Клинический атлас патологии глазного дна / Л. А. Кацнельсон, В. С. Лысенко, Т. И. Балишанская.- М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1997.- 152 с.
77. Кацнельсон Л. А. Клинические формы диабетической ретинопатии / Л. А. Кацнельсон // Вестн. офтальмологии.- 1989.- № 6.- С. 43-47.
78. Кацнельсон Л. А. Сосудистые заболевания глаз / Л. А. Кацнельсон, Т. И. Форофонова, А. Я. Бунин.- М.: Медицина, 1990.- 272 с.
79. Кашинцева Л. Т.. Патогенетические особенности простой и пролиферативной диабетической ретинопатии / Л. Т. Кашинцева, И. Р. Салдан, А. В. Артемов // Офтальмол. журн.- 1988.- № 4.- С. 193-197.
80. Керимов К. Т. Пролиферативная витреоретинопатия при проникающих ранениях глазного яблока с наличием внутриглазных инородных тел / К. Т. Керимов, З. А. Мамедова, М. И. Ахундова // Пролиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2002.- С. 80-81.
81. Кириллов В. И. Логика познания сущности / В. И. Кириллов.- М.: Высш. школа, 1980.- 175 с.
82. Киселев А. В. Задняя гиалоидная мембрана и ее роль в патогенезе и лечении отека макулярной области / А. В. Киселев, Д. О. Шкворченко // Диабет глаза (клиника, профилактика, витреоретинальная и лазерная хирур-

- гия) / Оренбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Оренбург, 1999.- С. 55-56.
83. Киселева О. А. ИАГ-лазерная витреоретинопластика при ретинальном фиброзе / О. А. Киселева, А. В. Степанова, А. Н. Иванов // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 58-59.
84. Киселева О. А. Медикаментозно-физиотерапевтическая коррекция посттравматической витреоретинопатии / О. А. Киселева, И. В. Морозова // Вестн. офтальмологии.- 1992.- № 2.- С. 54-56.
85. Киселева О. А. Профилактика и лечение осложнений склеропластической хирургии травматической отслойки сетчатки: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / О. А. Киселева.- М., 2000.- 59 с.
86. Клеточное размножение и процессы дифференциации / Л. Ф. Андреева, А. Г. Десницкий, А. К. Дондуа.- Л.: Наука, 1983.- 248 с.
87. Ковальчук Л. В. Иммуноцитокнины и локальная иммунокоррекция / Л. В. Ковальчук, Г. В. Ганковская // Иммунология.- 1995.- № 1.- С. 4-7.
88. Ковальчук Л. В. Иммунорегуляторная роль моноцитов в норме и при иммунопатологии / Л. В. Ковальчук, А. Н. Череев // Итоги науки и техники. Иммунология.- 1991.- Т. 27.- С. 1-220.
89. Коломиец Ю. А. Предварительные результаты определения содержания цитокинов во влаге передней камеры у пациентов с посттравматической пролиферативной витреоретинопатией / Ю. А. Коломиец, М. М. Шишкин, Н. И. Давыдова // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2002.- С. 17-18.
90. Кочетова Т. Ф. Исходы травматического гемофтальма при различных методах лечения / Т. Ф. Кочетова, В. М. Гаврилова, Г. М. Сычев // Вопросы офтальмоэндокринологии и сосудистой патологии глаз / Красноярская гос. мед. академия.- Красноярск, 1999.- С. 146-148.

91. Краснов М. М. Заднегиалоидная мембрана как структурная основа роста новообразованной ткани при пролиферативной диабетической ретинопатии / М. М. Краснов, С. В. Сдобникова, А. А. Федоров // Вестн. офтальмологии.- 1998.- Т. 114, № 3.- С. 16-20.
92. Кривицкий А. К. Эффективность витрэктомии при тяжелой пролиферативной диабетической ретинопатии / А. К. Кривицкий // Офтальмолог. журн.- 1990.- № 7.- С. 385-389.
93. Кузьмин В. П. Принцип системности в теории и методологии К. Маркса / В. П. Кузьмин.- М.: Мысль, 1986.- 398 с.
94. Культура животных клеток. Методы / Ред. Р. Фрешни: Пер. с англ.- М.: Мир, 1989.- 333 с.
95. Куприянов В. В. Ангиогенез. Образование, рост и развитие кровеносных сосудов / В. В. Куприянов, В. А. Миронов, О. Ю. Гурина.- М.: НИО «Квартет», 1993.- 200 с.
96. Кусень С. И. Молекулярные механизмы в действии полипептидных факторов роста / С. И. Кусень, Р. С. Стойка.- М.: Наука, 1985.- 240 с.
97. Кутырев В. А. Современное социальное познание: общенаучные методы и их взаимодействие / В. А. Кутырев.- М.: Мысль, 1988.- 202 с.
98. Кюн К. Новые пути исследования строения коллагена / К. Кюн // Современные биохимические и морфологические проблемы соединительной ткани / Новосибирский гос. мед. ин-т.- Новосибирск, 1971.- С. 5-12.
99. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин.- М.: Высш. Школа, 1980.- 293 с.
100. Логвинов С. В. Закономерности поражения и репарация зрительного анализатора при воздействии микроволн и ионизирующей радиации: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / С. В. Логвинов.- Томск, 1993.- 44 с.
101. Лукьянова Е. А. Медицинская статистика / Е. А. Лукьянова // М.: Изд-во Российск. ун-та дружбы народов, 2002.- 255 с.
102. Мажуга П. М. Особенности нуклеинового, белкового и полисахаридного обмена в некоторых производных мезенхимы / П. М. Мажуга // Совре-

- менные биохимические и морфологические проблемы соединительной ткани / Новосибирский гос. мед. ин-т.- Новосибирск, 1971.- С. 161-166.
103. Мазурина Н. К. Современные данные о пролиферативном процессе при диабетической ретинопатии / Н. К. Мазурина // Вестн. офтальмологии.- 1999.- № 3.- С. 37-40.
104. Максимов А. А. Основы гистологии. Учение о клетке / А. А. Максимов.- 3-е изд. под ред. А. А. Заварзина.- Л.: Наука, 1925.- 361 с.
105. Малаян А. С. Флеботромбозы сетчатки: современные аспекты этиопатогенеза, диагностики и лечения / А. С. Малаян, М. Л. Шахсуварян // Вестн. офтальмологии.- 1999.- № 2.- С. 35-40.
106. Махачева З. А. Анатомические особенности стекловидного тела и витреоретинального интерфейса в патологии заднего отрезка глаза / З. А. Махачева // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2002.- С. 8-9.
107. Махачева З. А. Анатомия стекловидного тела / З. А. Махачева // Офтальмохирургия.- 1994.- № 2.- С. 38-42.
108. Махачева З. А. Новые методы исследования стекловидного тела в изолированных глазах: Учеб.-методическое пособие / З. А. Махачева.- М.: Изд-во МНТК «Микрохирургия глаза», 1996.- 7 с.
109. Махачева З. А. Стекловидное тело: новые анатомо-физиологические данные: Лекция для врачей-офтальмологов, интернов, клинических ординаторов / З. А. Махачева.- М.: Изд-во МНТК «Микрохирургия глаза», 1996.- 11 с.
110. Махачева З. А. Функциональное состояние глаз у больных пролиферативной диабетической ретинопатией после закрытой витрэктомии / З. А. Махачева, Э. М. Миронова // Вестн. офтальмологии.- 1988.- Т. 104, № 2.- С. 22-25.
111. Маянский А. Н. Клинические аспекты фагоцитоза / А. Н. Маянский, О. И. Пикуза.- Казань: Магариф, 1993.- 192 с.

112. Маянский А. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А. Н. Маянский, Д. Н. Маянский.- Новосибирск: Наука, 1989.- 343 с.
113. Маянский Д. Н. Активация макрофагов / Д. Н. Маянский, Д. Д. Цырендоржиев // Успехи совр. биологии.- 1999.- Т. 109, № 3.- С. 352-368.
114. Маянский Д. Н. Клетка Купфера и система мононуклеарных фагоцитов / Д. Н. Маянский.- Новосибирск: Наука, 1981.- 172 с.
115. Маянский Д. Н. Проблемы соединительной ткани в общей патологии / Д. Н. Маянский // Бюлл. сиб. отд. АМН СССР.- 1985.- № 2.- С. 62-70.
116. Маянский Д. Н. Секреция макрофагов / Д. Н. Маянский // Успехи совр. биологии.- 1982.- Т. 93, № 1.- С. 73-88.
117. Маянский Д. Н. Уровни регуляции фибропластических процессов / Д. Н. Маянский // Патол. физиология и эксперим. терапия.- 1982.- № 4.- С. 27-39.
118. Маянский Д. Н. Хроническое воспаление / Д. Н. Маянский.- М.: Медицина, 1991.- 272 с.
119. Метаев С. А. Иммунологические исследования первичного и вторичного стекловидного тела при различных стадиях пролиферативной диабетической ретинопатии / С. А. Метаев // Офтальмохирургия.- 2000.- № 3.- С 61-66.
120. Механика кровообращения / К. Каро, Т. Педли, Р. Шротер, У. Сид: Пер. с англ.- М.: 1981.- 624 с.
121. Миленькая Т. М. Эффективность криокоагуляции и задней витрэктомии при пролиферативной витреоретинопатии, осложненной кровоизлиянием в стекловидное тело / Т. М. Миленькая // Офтальмол. журн.- 1988.- № 2.- С. 76-79.
122. Моисеенко О. М. Влияние эмульсии перфторана на структуру стекловидного тела при экспериментальном гемофтальме / О. М. Моисеенко, В. Д. Захаров, В. А. Средняков // Офтальмохирургия.- 2001.- № 3.- С. 43-48.

123. Моисеенко О. М. Изменение биохимии стекловидного тела под воздействием эмульсии перфторана при экспериментальном гемофтальме / О. М. Моисеенко, В. А. Средняков, Л. Ф. Лазаренко // Новые лазерные технологии в офтальмологии / Калужский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Калуга, 2002.- С. 107-108.
124. Молекулярная биология клетки / Б. Альбертс, Дж. Льюис, М. Рефф и др: В 3-х т. / Пер. с англ.- М.: Мир, 1994.- 3 т.
125. Морозова И. В. Некоторые аспекты патогенеза витреоретинальной пролиферации / И. В. Морозова, О. А. Киселева // Вестн. офтальмологии.- 1991.- Т. 107, № 6.- С. 75-78.
126. Мостепаненко М. В. Философия и методы научного познания / М. В. Мостепаненко.- Л.: Лениздат, 1972.- 263 с.
127. Мулдашев Э. Р. Влияние циркуляции внутриглазной жидкости на характер распределения красителей в стекловидном теле (экспериментальное исследование) / Э. Р. Мулдашев, О. В. Родионов, А. М. Шумкин // II Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии / Екатеринбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Екатеринбург, 2001.- С. 335-336.
128. Мулдашев Э. Р. Распределение и циркуляция цветовых маркеров в стекловидном теле и оболочках глазного яблока экспериментальных животных / Э. Р. Мулдашев, О. В. Родионов, В. А. Гранадчиков // III Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии / Екатеринбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Екатеринбург, 2003.- С. 76-77.
129. Мынкина Г. И. Эндоцитоз / Г. И. Мынкина // Успехи совр. биологии.- 1992.- Т. 112, № 2.- С. 252-264.
130. Нестеров А. П. Роль местных факторов в патогенезе диабетической ретинопатии / А. П. Нестеров // Вестн. офтальмологии.- 1994.- Т. 110, № 4.- С. 7-9.
131. Никифоров А. Л. Философия науки: история и методология / А. Л. Никифоров.- М.: Дом интеллектуальной книги, 1998.- 280 с.

132. Новиков Д. К. Клеточные методы иммунодиагностики / Д. К. Новиков, В. И. Новикова.- Минск: Беларусь, 1979.- 222 с.
133. Новое в учении о регенерации / Под ред. Л. Д. Лиознера.- М.: Медицина, 1977.- 358 с.
134. Новые методы культуры животных тканей: Пер. с англ. / Под ред. М. Ю. Оленева.- М.: Мир, 1976.- 255 с.
135. Омеляненко Н. П. Ультраструктурная взаимосвязь волокнистых компонентов в соединительной ткани человека / Н. П. Омеляненко, Л. Д. Жеребцов // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии.- 1971.- Т. 76, № 5.- С. 65-70.
136. Основы биохимии / А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит, Р. Хилл: В 3-х т. / Пер. с англ.- М.: Мир, 1981.- 3 т.
137. Основы теории познания: Учеб. пособие / Под ред. Б. И. Липского.- СПб: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2000.- 336 с.
138. Пальцев М. А. Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов.- М.: Медицина, 1995.- 224 с.
139. Петленко В. В. Закон сохранения структурной организации живых систем / В. В. Петленко, С. А. Симбирцев, О. К. Хмельницкий // Морфология.- 1993.- Т. 105, вып. 11-12.- С. 131-141.
140. Полунин Г. С. Протеолитический препарат гемаза в лечении геморрагических витреоретинальных осложнений сахарного диабета и гипертонической болезни / Г. С. Полунин, И. А. Макаров, Ю. К. Ширшиков // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 56-57.
141. Потапов М. П. В-лимфоциты. Цитокинообразующая функция / М. П. Потапов // Иммунология.- 1994.- № 4.- С. 4-8.
142. Родин С. С. Факторы риска послеоперационной пролиферативной витреоретинопатии при регматогенной отслойке сетчатки / С. С. Родин, Н. И.

- Назаренко, Г. В. Левицкая // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 13-14.
143. Ромашенко А. Д. Диагностика и патогенетически ориентированное лечение травматического гемофтальма: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А. Д. Ромашенко.- М., 1989.- 45 с.
144. Рузавин Г. И. Математизация научного знания / Г. И. Рузавин.- М.: Наука, 1984.- 248 с.
145. Рябова Л. В. Роль элементов цитоскелета в созревании ооцитов у животных / Л. В. Рябова, С. Г. Васецкий // Успехи совр. биологии.- 1990.- Т. 109, № 2.- С. 193-203.
146. Саллев Р. К. Эндоцитоз / Р. К. Саллев, А. С. Романенко.- Новосибирск: Наука, 1979.- 112 с.
147. Свенсон К. Клетка / К. Свенсон, П. Уэбстер: Пер. с англ.- М.: Мир, 1980.- 303 с.
148. Сдобникова С. В. Особенности течения пролиферативного процесса при диабетической ретинопатии, осложненного гиалозиозом / С. В. Сдобникова, Г. Е. Столяренко, А. А. Федоров // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 17-18.
149. Сдобникова С. В. Происхождение препапиллярных новообразованных сосудов у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией / С. В. Сдобникова, Н. К. Мазурина // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 224-228.
150. Сдобникова С. В. Роль задней гиалоидной мембраны в патогенезе и трансцилиарной хирургии пролиферативной диабетической ретинопатии / С. В. Сдобникова, Г. Е. Столяренко // Вестн. офтальмологии.- 1999.- № 1.- С. 11-15.

151. Сдобникова С. В. Современный подход к лечению пролиферативной диабетической ретинопатии / С. В. Сдобникова, Н. К. Мазурина, Г. Е. Столяренко // Российский мед. журн.- 2002.- Т. 3, № 3.- С. 99-105.
152. Седов Л. И. Научные теории, модели и реальность / Л. И. Седов // Природа.- 1984.- № 11.- С. 2-17.
153. Селицкая Т. И. Центральная атеросклеротическая хориоретинопатия / Т. И. Селицкая.- Томск: Изд-во ТГУ, 1985.- 112 с.
154. Сергеева Т. М. Динамическое состояние микрососудов глаза при корнеосклероальных ранениях: Дис. ... канд. мед. наук / Т. М. Сергеева.- Томск, 1998.- 143 с.
155. Сергиенко А. Н. Кислотно-щелочные сдвиги в заднем отрезке глаза при пролиферативной витреоретинопатии / А. Н. Сергиенко, Е. А. Леус, Д. А. Чичур // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 234-237.
156. Сергиенко А. Н. Локальный иммунитет заднего отрезка глаза у больных с пролиферацией различного генеза / А. Н. Сергиенко, Е. А. Леус, Д. А. Чичуа // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 229-233.
157. Серов В. В. Соединительная ткань как единая система / В. В. Серов // Терапевт. арх.- 1984.- № 5.- С. 6-10.
158. Серов В. В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В. В. Серов, А. Б. Шехтер.- М.: Медицина, 1981.- 312 с.
159. Слепова О. С. Аутоаллергические реакции к S-антигену у больных с патологией сетчатки и увеального тракта / О. С. Слепова, Н. С. Зайцева, М. А. Островский // Патология глазного дна / НИИ глазных болезней им. Гельгольца.- М., 1986.- С. 45-46.

160. Слепова О. С. Влияние нарушений иммунитета на исход лечения при хирургических вмешательствах на глазах / О. С. Слепова // II Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии / Екатеринбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Екатеринбург, 2001.- С. 365-366.
161. Слепова О. С. Иммунодиагностика и прогноз развития ретинальной патологии по результатам исследования сывороточных антител к S-антигену сетчатки / О. С. Слепова // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 238-244.
162. Слепова О. С. Особенности иммунологической реактивности у больных с дистрофической и постувеальной отслойкой сетчатки / О. С. Слепова, Т. В. Муравьева, А. П. Рысаев // Актуальные вопросы патологии сетчатой оболочки и зрительного нерва / НИИ глазных болезней им. Гельмгольца.- М., 1982.- С. 82-85.
163. Слуцкий Л. И. Новое о структурных компонентах соединительной ткани и базальных мембран / Л. И. Слуцкий // Успехи совр. биологии.- 1984.- Т. 97, № 3.- С. 116-130.
164. Сметанкин И. Г. Метаболический алкалоз стекловидного тела как фактор патогенеза сенильной макулярной дегенерации / И. Г. Сметанкин // Вестн. офтальмологии.- 2000.- № 3.- С. 13-16.
165. Старков Г. Л. Патология стекловидного тела / Г. Л. Старков.- М.: Медицина, 1967.- 200 с.
166. Степанова Л. В. Общие закономерности обмена жидкости хрусталика теплокровных животных (экспериментальное исследование) / Л. В. Степанова, Г. М. Сычев, И. Ю. Марченко // Вопросы офтальмологии / Красноярская гос. мед. академия.- Красноярск, 2001.- С. 117-182.
167. Стражеско Н. Д. Атлас клинической гематологии / Н. Д. Стражеско, Д. Н. Яновский.- М.: Медгиз, 1963.- 181 с.

168. Студитский А. Н. Эволюционная морфология клетки / А. Н. Студитский.- М.: Наука, 1981.- 280 с.
169. Сучков С. В. Тканеспецифические белки сетчатки в эволюции позвоночных / С. В. Сучков, П. П. Кулагин, А. Н. Печканов // Журн. эволюц. биохимии и физиологии.- 1981.- Т. 17, № 14.- С. 417-421.
170. Сычев Г. М. Влияние транспортных потоков хрусталика на развитие травматической катаракты / Г. М. Сычев, В. В. Лазаренко, В. А. Беспаленко // Вопросы офтальмоэндокринологии и сосудистой патологии глаз / Красноярская гос. мед. академия.- Красноярск, 1999.- С. 124-126.
171. Сычев Г. М. Обмен жидкости в хрусталике / Г. М. Сычев, В. А. Беспаленко, В. В. Лазаренко // Вопросы офтальмоэндокринологии и сосудистой патологии глаз / Красноярская гос. мед. академия.- Красноярск, 1999.- С. 120-124.
172. Танковский В. Э. Вазопрлиферация при тромбозах ретинальных вен / В. Э. Танковский, О. В. Мизерова // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 20-21.
173. Тахчиди Х. П. Применение рекомбинантного фибринолитического препарата проурокиназы для стимуляции задней отслойки стекловидного тела на глазах с отслойкой сетчатки / Х. П. Тахчиди, В. Д. Захаров, Л. Э. Айрапетова // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 260-268.
174. Тахчиди Х. П. Хирургическое лечение пролиферативной диабетической ретинопатии с использованием «среды ПФОС» в интра- и постоперационном периоде / Х. П. Тахчиди, О. А. Костин // Офтальмохирургия.- 1997.- № 3.- С. 17-24.
175. Теплинская Л. Е. Иммунопатогенетические, клинические особенности и лечение наружного экссудативного ретинита Коатса / Л. Е. Теплинская, А. Ф. Калибердина // Вестн. офтальмологии.- 2000.- № 3.- С. 28-31.

176. Терапевтическая офтальмология / Под ред М. М. Краснова, Н. Б. Шульпиной.- М.: Медицина, 1985.- 559 с.
177. Травкин А. Г. Травматический гемофтальм и клеточная пролиферация в формировании соединительнотканых шварт / А. Г. Травкин, А. Д. Ромашенко // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2002.- С. 16-17.
178. Труфакина М. В. Иммунопатогенетические механизмы повторной хирургической травмы глаза / М. В. Труфакина // II Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии / Екатеринбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Екатеринбург, 2001.- С. 224-225.
179. Учитель И. Я. Макрофаги в иммунитете / И. Я. Учитель.- М.: Медицина, 1978.- 200 с.
180. Фаллер Дж.М. Молекулярная биология клетки // Дж.М. Фаллер, Д. Шилдс // Пер. с англ. под ред И. Б. Збарского.- М.: Изд-во Бином, 2003.- 272 с.
181. Фалхут О. Особенности клиники и некоторые походы к консервативному лечению гемофтальма субгиалоидной локализации / О. Фалхут, В. Ю. Еврафов, Ю.Е Батманов // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2002.- С. 60-61.
182. Федоров А. А. Патогистологическое исследование субпигментно-эпителиальной новообразованной ткани у больных с сенильной макулярной дистрофией / А. А. Федоров, Г. Е. Столяренко // Вестн. офтальмологии.- 1998.- № 5.- С. 51-55.
183. Федоров С. Н. Анализ результатов комплексного хирургического лечения пролиферативных форм диабетической ретинопатии, осложненных тракционной отслойкой сетчатки с захватом макулярной области / С. Н. Федоров // Офтальмохирургия.- 1998.- № 2.- С. 31-35.
184. Федоров С. Н. Содержание цитокинов ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 в локальном и системном иммунитете у пациентов с различными стадиями пролифера-

- тивной диабетической ретинопатии / С. Н. Федоров, С. А. Метаев // Офтальмохирургия.- 2000.- № 2.- С. 54-58.
185. Фрейдлин И. С. Система мононуклеарных фагоцитов / И. С. Фрейдлин.- М.: Медицина, 1984.- 272 с.
186. Френкель М. А. Лабораторная диагностика острый лейкозов / М. А. Френкель // Клиническая онкогематология / Под ред. М. А. Волковой.- М.: Медицина, 2001.- С. 146-155.
187. Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворного микроокружения / А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия.- М.: Медицина, 1980.- 216 с.
188. Фултон А. Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки / А. Фултон // Пер. с англ.- М.: Мир, 1987.- 117 с.
189. Хейхоу Ф. Г. Дж. Гематологическая цитохимия / Ф. Г. Дж. Хейхоу, Д. Кваглино // Пер. с англ.- М.: Медицина, 1983.- 320 с.
190. Хорошилова-Маслова И. П. Гистохимическое исследование гликозаминогликанов стекловидного тела кролика после интавитреального введения витреосинеретика / И. П. Хорошилова-Маслова, Д. О. Шкворченко, Л. Д. Андреева // Современные технологии лечения витреоретиальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 288-293.
191. Хорошилова-Маслова И. П. Пептид клеточной адгезии (Arg-Gly-Asp-Ser) в профилактике посттравматической пролиферативной витреоретинопатии (экспериментально-морфологическое исследование) / И. П. Хорошилова-Маслова, М. А. Бабижаев, О. А. Киселева // Вестн. офтальмологии.- 1997.- Т. 113, № 4.- С. 27-31.
192. Хорошилова-Маслова И. П. Посттравматическая пролиферативная витреоретинопатия (экспериментальное моделирование) / И. П. Хорошилова-Маслова, О. А. Киселева, Л. В. Илатовская // Ожоги глаз и их последствия / НИИ глазных болезней им. Гельмгольца.- М., 1997.- С. 74-76.

193. Хорошилова-Маслова И. П. Применение антиоксидантов в профилактике развития пролиферативной витреоретинопатии / И. П. Хорошилова-Маслова, Е. О. Саксонова, Л. В. Илатовская // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2002.- С. 7-8.
194. Хорошилова-Маслова И. П. Проблема цитопатогенеза пролиферативной витреоретинопатии и возможности ее обоснованной медикаментозной профилактики / И. П. Хорошилова-Маслова, Е. О. Саксонова, Л. В. Илатовская // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 284-287.
195. Хорошилова-Маслова И. П. Роль иммунных факторов в патогенезе пролиферативной витреоретинопатии / И. П. Хорошилова-Маслова, О. А. Киселева, Л. В. Ганковская // Актуальные вопросы патологии глазного дна / НИИ глазных болезней им. Гельмгольца.- М., 1997.- С. 149-151.
196. Хорошилова-Маслова И. П. Функционально-морфологические особенности витреоретинальной пролиферации после проникающих ранений глазного яблока, осложненных гемофтальмом (иммуногистохимическое и электронно-микроскопическое исследование) / И. П. Хорошилова-Маслова, Л. Д. Андреева, В. П. Быков // Вестн. офтальмологии.- 1998.- Т. 114, № 6.- С. 10-14.
197. Хорошилова-Маслова И. П. Экспериментальное моделирование посттравматической пролиферативной витреоретинопатии / И. П. Хорошилова-Маслова, Л. В. Илатовская, О. А. Киселева // Актуальные проблемы современной офтальмологии / Смоленская гос. мед. академия. – Смоленск, 1999.- С. 63-65.
198. Хрущов Н. Г. Гистогенез соединительной ткани / Н. Г. Хрущов.- М.: Наука, 1976.- 120 с.

199. Хрущов Н. Г. Стволовые клетки крови / Н. Г. Хрущов, В. И. Старостин, Е. И. Домарацкая // Итоги науки и техники. Морфология человека и животных.- 1988.- № 13.- С. 4-173.
200. Хрущов Н. Г. Функциональная цитохимия рыхлой соединительной ткани / Н. Г. Хрущов.- М.: Наука, 1969.- 238 с.
201. Ченцов Ю. С. Общая цитология / Ю. С. Ченцов.- 3-е изд., перераб. и доп.- М.: Изд-во МГУ, 1995.- 384 с.
202. Чернух А. М. Воспаление (очерки патологии и экспериментальной терапии) / А. М. Чернух.- М.: Медицина, 1979.- 426 с.
203. Чеснокова Н. Б. Гиперлипидпротеидемии и протеиназно-ингибиторный баланс у больных пролиферативной диабетической ретинопатией при наличии твердых экссудатов в сетчатке / Н. Б. Чеснокова, Т. П. Кузнецова, Г. А. Давыдова // Вестн. офтальмологии.- 1999.- № 1.- С. 14-16.
204. Чеснокова Н. Б. Показатели протеиназно-ингибиторного баланса крови и гиперлипопротеидемии у больных пролиферативной диабетической ретинопатией с кровоизлиянием в стекловидное тело / Н. Б. Чеснокова, Т. П. Кузнецова, Г. А. Давыдова // Вестн. офтальмологии.- 1999.- № 6.- С. 29-32.
205. Чичуа Г. А. Современные данные об этиологии и патогенезе посттравматической пролиферативной витреоретинопатии / Г. А. Чичуа, В. П. Быков // Вестн. офтальмологии.- 1997.- Т. 113, № 3.- С. 43-44.
206. Шамшинова А. М. Функциональные методы исследования в офтальмологии / А. М. Шамшинова, В. В. Волков.- М.: Медицина, 1999.- 461 с.
207. Шевелев А. С. «Забарьерные» органы и проблема иммунного надзора / А. С. Шевелев // Иммунология.- 1984.- № 3.- С. 5-10.
208. Шепешкин И. А. Регуляция функциональной активности нейтрофилов цитокинами / И. А. Шепешкин, Н. В. Чердынцева, Н. В. Васильев // Иммунология.- 1994.- № 1.- С. 4-7.

209. Шептулин А. П. Диалектический метод познания / А. П. Шептулин.- М.: Политиздат, 1983.- 320 с.
210. Шехтер А. Б. Воспаление, адаптивная регенерация и дисрегенерация (анализ межклеточных взаимодействий) / А. Б. Шехтер, В. В. Серов // Арх. патологии.- 1991.- Т. 53, № 7.- С. 7-14.
211. Шехтер А. Б. Макрофагально-фибробластическое взаимодействие и его возможная роль в регуляции метаболизма коллагена при заживлении ран / А. Б. Шехтер // Бюл. эксперим. биологии и медицины.- 1977.- № 5.- С. 627-630.
212. Шехтер А. Б. Фибробласты и развитие соединительной ткани: ультраструктурные аспекты биосинтеза, фибриллогенеза и катаболизма коллагена / А. Б. Шехтер, Г. Н. Берченко // Арх. патологии.- 1978.- Т 40, № 8.- С. 70-80.
213. Шилова О. Г. Оптимизация аргонлазеркоагуляции с учетом роли осмотического давления крови в развитии диабетической микроангиопатии сетчатки: Дис. ... канд. мед. наук / О. Г. Шилова.- Томск, 1998.- 133 с.
214. Шишкин М. М. Клинические особенности и хирургическое лечение сквозных ранений глазного яблока / М. М. Шишкин, Э. В. Бойко, Е. Г. Сухотерина // Проллиферативный синдром в офтальмологии / Российский гос. мед. ун-т.- М., 2000.- С. 23.
215. Шишкин М. М. Передняя пролиферативная витреоретинопатия (патогенез, лечение, профилактика): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / М. М. Шишкин.- СПб, 2000.- 51 с.
216. Шкворченко Д. О. Индукция задней отслойки стекловидного тела путем интраоперационного витреосинерезиса при введении водорастворимых полимеров (экспериментально-морфологическое исследование) / Д. О. Шкворченко, И. П. Хорошилова-Маслова, Л. Д. Андреева // Вестн. офтальмологии.- 2001.- № 3.- С. 16-20.

217. Шкворченко Д. О. Использование водорастворимых полимеров для индукции задней остлойки стекловидного тела путем интраоперационного витреосинерезиса при хирургическом лечении диабетической ретинопатии / Д. О. Шкворченко, И. П. Хорошилова-Маслова, Л. Д. Андреева // II Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии / Екатеринбургский филиал ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- Екатеринбург, 2001.- С. 157.
218. Шубич М. Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса / М. Г. Шубич, М. Г. Авдеева // Арх. патологии.- 1997.- Т. 59, № 2.- С. 3-8.
219. Шульпина Н. Б. Биомикроскопия глаза / Н. Б. Шульпина.- М.: Медицина, 1974.- 288 с.
220. Экгардт В. Ф. Системный и местный иммунитет у больных с диабетической ретинопатией / В. Ф. Экгардт, Л. И. Тарасова // Вестн. офтальмологии.- 1998.- № 1.- С. 46-48.
221. Экспериментальный сахарный диабет / Под ред. В. Г. Баранова.- Ленинград: Наука, 1983.- 240 с.
222. Эль-Жухадар Висам Хабиб Особенности развития раневого процесса в стекловидной камере глаза в зависимости от локализации проникающего склерального ранения (экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Висам Хабиб Эль-Жухадар.- СПб, 2001.- 16 с.
223. Юнкеров В. И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В. И. Юнкеров, С. Г. Григорьев.- СПб.: ВмедА, 2002.- 266 с.
224. Якимов А. П. Задняя гиалоидная мембрана в хирургии макулярного отека / А. П. Якимов // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии: Сб. науч. статей / ГУ МНТК «Микрохирургия глаза».- М., 2002.- С. 354-358.
225. Якимов А. П. Задняя закрытая витрэктомия с использованием перфторорганических соединений в лечении макулярного отека при диабетической ретинопатии / А. П. Якимов, С. А. Алпатов, А. Г. Щуко // Вопросы оф-

- тальмоэндокринологии и сосудистой патологии глаз / Красноярская гос. мед. академия.- Красноярск, 1999.- С. 49-50.
226. Abe T. The sequence of photoreceptor and pineal gland specific protein reveals similarity with circadiancythn protein (PER) / T. Abe, H. Tamada, T. Zakagi // The 5th International Symposium on the immunol. and immunopathol. of the eye.- Tokyo, 1990.- P. 70.
227. Abu el Asrar A. M. Cytokines in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy / A. M. Abu el Asrar, D. Maimone, P. H. Morse // Am. J. Ophthalmol.- 1992.- Vol. 114, № 6.- P. 731-736.
228. Adamis A. P. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy / A. P. Adamis, J. W. Miller, M. T. Bernal // Am. J. Ophthalmol.- 1994.- Vol. 118, № 4.- P. 445-450.
229. Akagi Y. The possibility of rat diabetic retinopathy / Y. Akagi, H. Ikebe, Y. Takahashi // Nippon Ganka Gakkai Zasshi.- 1986.- Vol. 90, № 2.- P. 1674-1679.
230. Algreve P. V. Panretinal photocoagulation aggravates experimental proliferative vitreoretinopathy / P. V. Algreve, K. Hallas, E. Dafgard // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.- 1990.- Vol. 228, № 5.- P. 461-466.
231. Ambati J. Elevated gamma-aminobutyric acid, glutamate and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy / J. Ambati, K. V. Chalam, D. K. Chawla // Arch. Ophthalmol.- 1997.- Vol. 115, № 9.- P. 1161-1166.
232. Antonelli-Orlidge A. An activated form of transforming growth factor beta is produced by cocultures of endothelial cells and pericytes / A. Antonelli-Orlidge, K. B. Saunders, S. R. Smith // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1989.- Vol. 86, № 12.- P. 4544-4548.
233. Antoniadis H. N. Human platelet-derived growth factor: structure and function / H. N. Antoniadis, L. T. Williams // Fed. Proc.- 1983.- Vol. 42, № 9.- P. 2630-2634.

234. Aoyama R. Morphological study on the intraocular proliferative membrane of proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy / R. Aoyama // *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.*- 1990.- Vol. 90, № 4.- P. 383-393.
235. Arenson E. B. Volumetric and functional heterogeneity of human monocytes / E. B. Arenson, M. B. Epstein, R. S. Selger // *J. Clin. Invest.*- 1980.- Vol. 65, № 3.- P. 613-618.
236. Babizhayev M. A. Modulative effects of cell adhesion peptide (Arg-Gly-Asp-Ser) on the aggregation of stimulated platelets from ophthalmic patients / M. A. Babizhayev, A. J. Mucha // *Clin. Chim. Acta.*- 1991.- Vol. 196, № 2-3.- P. 77-85.
237. Baggiolini M. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines-CXC and CC chemokines / M. Baggiolini, B. Dewald, B. Moser // *Adv. Immunol.*- 1994.- Vol. 55, № 3.- P. 97-179.
238. Barbour H. L. Rhodopsin content of human retinas / H. L. Barbour, J. J. Planter, E. K. Kean // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1985.- Vol. 26, № 3.- P. 290-297.
239. Baudouin C. Acidic fibroblast growth factor distribution in normal human eye and possible implications in ocular pathogenesis / C. Baudouin, D. Fredj-Reygrobellet, J. P. Caruelle // *Ophthalmic. Res.*- 1990.- Vol. 22, № 2.- P. 73-81.
240. Baudouin C. Growth factor in vitreous and subretinal fluid cells from patients with proliferative vitreoretinopathy / C. Baudouin, D. Fredj-Reygrobellet, F. Negre // *Ophthalmic. Res.*- 1993.- Vol. 25, № 2.- P. 52-59.
241. Baudouin C. Immunohistologic study of proliferative vitreoretinopathy / C. Baudouin, D. Fredj-Reygrobellet, F. Baudouin // *Am. J. Ophthalmol.*- 1989.- Vol. 108, № 4.- P. 387-394.
242. Baudouin C. Immunopathologic study of retinal detachment with vitreoretinal proliferation / C. Baudouin, D. Fredj-Reygrobellet, D. Jambou // *Ophthalmology.*- 1989.- Vol. 96, № 1.- P. 22-25.

243. Baudouin C. Inhibition of preretinal proliferation by free radical scavengers in an experimental model of tractional retinal detachment / C. Baudouin, M. Ettaiche, F. Imbert // *Exp. Eye Res.*- 1994.- Vol. 59, № 6.- P. 697-706.
244. Bazan N. G. Experimental models and their use in studies of diabetic retinal microangiopathy / N. C. Bazan, W. C. Gordon // *Therapie.*- 1997.- Vol. 52, № 5.- P. 447-451.
245. Berlin R. D. Membrane transport in macrophages / R. D. Berlin // *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology* / Eds. R. van Furth.- Oxford: Blackwell, 1975.- P. 547-555.
246. Blair N. P. Rhegmatogenous retinal detachment in Labrador retrievers. Proliferative vitreoretinopathy / N. P. Blair, J. T. Dodge // *Arch. Ophthalmol.*- 1985.- Vol. 103, № 6.- P. 848-854.
247. Boehme J. D. Juxtapapillary choroidal neovascular membrane in a patient with Paget's disease and lenticular dystrophy / J. D. Boehme, A. B. Litwak // *J. Am. Optm. Assoc.*- 1989.- № 60.- P. 612-616.
248. Bressler N. Natural course of poorly defined choroidal neovascularization associated with macular degeneration / N. Bressler, L. Frost, S. Bressler // *Arch. Ophthalmol.*- 1988.- Vol. 106, № 11.- P. 1537-1542.
249. Brown J. M. Cytokines, sepsis and the surgeon / J. M. Brown, M. A. Grosso, A. H. Herken // *Surg. Gynecol. Obstet.*- 1989. Vol. 169, № 6.- P. 568-575.
250. Bryan J. A. A retinal pigment epithelial cell-derived growth factor(s) / J. A. Bryan, P. A. Campochiaro // *Arch. Ophthalmol.*- 1986.- Vol. 104, № 5.- P. 422-425.
251. Campochiaro P. A. Growth factors in the retina and retinal pigmented epithelium / P. A. Campochiaro // *Prog. Ret. Eye Res.*- 1996.- Vol. 15, № 3.- P. 547-567.
252. Campochiaro P. A. Pathogenic mechanisms in proliferative vitreoretinopathy / P. A. Campochiaro // *Arch. Ophthalmol.*- 1997.- Vol. 115, № 2.- P. 237-241.

253. Campochiaro P. A. Platelet-derived growth factor in an autocrine growth stimulator in retinal pigmented epithelial cells / P. A. Campochiaro // *J. Cell. Sci.*- 1994.- Vol. 107, № 9.- P. 2459-2469.
254. Camhochiaro P. A. Retinal cryopexy stimulates traction retinal detachment formation in the presence of an ocular wound / P. A. Camhochiaro, H. C. Gas-kin // *Arch. Ophthalmol.*- 1987.- Vol. 105, № 11.- P. 1567-1570.
255. Campochiaro P. A. The retinal pigmented epithelium and retinal wound repair / P. A. Campochiaro // *Basin. Vis. Sci. Symp.*- 1996.- № 2.- P. 28-34.
256. Chandler D. B. Improvement in efficacy of corticosteroid therapy in an animal model of proliferative vitreoretinopathy by pretreatment / D. B. Chandler, T. Hida, S. Sheta // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1987.- Vol. 225, № 4.- P. 259-265.
257. Chandler D. B. A refined experimental model for proliferative vitreoretinopa-
thy / D. B. Chandler, F. A. Quansah, T. Hida // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1986.- Vol. 224, № 1.- P. 86-91.
258. Charteris D. G. Proliferative vitreoretinopathy. Lymphocytes in epiretinal membranes / D. G. Charteris, P. Hiscott, I. Grierson // *Ophthalmology.*- 1992.- Vol. 99, № 9.- P. 1364-1367.
259. Cheers C. Stimulation of macrophage phagocytic but not bactericidal activity by colony-stimulating factor 1 / C. Cheers, M. Hill, A. M. Haigh // *Infect. Immunol.*- 1989.- Vol. 57, № 5.- P. 1512-1516.
260. Chen Y-S. Localization of vascular endothelial growth factor and its receptors to cells of vascular and avascular epiretinal membranes / Y-S. Chen, S. F. Hackett // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1996.- Vol. 37, № 3.- P. 120-123.
261. Cordon-Cardo C. Expression of basic fibroblast growth factor in normal human tissues / C. Cordon-Cardo, I. Veodavsky // *Lab. Invest.*- 1990.- Vol. 63, № 6.- P. 832-840.

262. Currie G. A. Platelet-derived growth factor requirement for in vitro proliferation of normal and malignant mesenchymal cells / G. A. Currie // *Brit. J. Cancer.*- 1981.- Vol. 43, № 3.- P. 335-343.
263. Cuturi M. C. Independent regulation of tumor necrosis factor and lymphotoxin production by human peripheral blood lymphocytes / M. C. Cuturi, M. Murphy // *J. Exp. Med.*- 1987.- Vol. 165, № 2.- P. 1581-1594.
264. Dallegri F. Monocyte-derived macrophages as helper cells in monocyte-mediated cytotoxicity / F. Dallegri, A. Ballestrero, G. Frumento // *Br. J. Haematol.*- 1988.- Vol. 68, №1.- P. 33-36.
265. Das A. Ultrastructural localization of extracellular matrix components in human retinal vessels and Bruch's membrane / A. Das, R. N. Frank, N. L. Zhang // *Arch. Ophthalmol.*- 1990.- Vol. 108, № 3.- P. 421-429.
266. Dexter T. M. Haemopoietic growth factors / T. M. Dexter // *Brit. Med. Bull.*- 1989.- Vol. 45, № 2.- P. 337-349.
267. Diacker B. Findings on retinal surface by scanning electron microscopy. Vitreous detachment / B. Diacker, R. Guggenheim, L. Gywat // *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.*- 1977.- Vol. 204, №1.- P. 19-29.
268. Diaz-Flores L. Angiogenesis: an update / L. Diaz-Flores, R. Gutierrez, H. Varela // *Histol. Histopathol.*- 1994.- Vol. 9, № 4.- P. 807-843.
269. Dizon-Moore R. V. Chorioretinal and chorioretinal neovascularization / R. V. Dizon-Moore, L. M. Jampol, M. F. Goldberg // *Arch. Ophthalmol.*- 1981.- Vol. 99, № 5.- P. 842-849.
270. Douglas S. D. Mononuclear phagocytes and tissue regulatory mechanisms / S. D. Douglas // *Develop. and Comp. Immunol.*- 1980.- Vol. 4, № 1.- P. 7-10.
271. Dunker S. The effect of retinal cryoapplication on the vitreous / S. Dunker, J. Faulborn, E.M Haller // *Retina.*- 1997.- Vol. 17, № 4.- P. 338-343.
272. Dunker S. Morphologic studies of the peripheral vitreoretinal interface in humans reveal structures implicated in the pathogenesis of the retinal tears / S. Dunker, J. Glinz, J. Faulborn // *Retina.*- 1997.- Vol. 17, № 2.- P. 124-130.

273. Eckardt C. Removal of the internal limiting membrane in macular holes / C. Eckardt, U. Eckardt, S. Groos // *Ophthalmology*.- 1997.- Vol. 104, № 8.- P. 545-551.
274. Elner S. G. Cytokines in proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy / S. G. Elner, V. M. Elner, J. D. Jaffe // *Curr. Eye Res.*- 1995.- Vol. 15, № 11.- P. 1045-1053.
275. Elner S. G. Interferon-induced protein-10 and interleukin 8: C-X-C chemokines present in proliferative diabetic retinopathy / S. G. Elner, R. Strieter, Z. M. Bian // *Arch. Ophthalmol.*- 1998.- Vol. 116, № 12.- P. 1597-1601.
276. Elner S. G. Monocyte chemotactic protein gene expression by cytokine-treated human retinal pigment epithelial cells / S. G. Elner, R. Strieter, V. M. Elner // *Lab. Invest.*- 1991.- Vol. 64, № 6.- P. 819-825.
277. Elner V. M. Neutrophil chemotactic factor (IL-8) gene expression by cytokine-treated retinal pigment epithelial cells / V. M. Elner, R. Strieter, S. G. Elner // *Am. J. Pathol.*- 1990.- Vol. 136, № 4.- P. 745-750.
278. Etherington D. Collagen degradation in an experimental inflammatory lesion: studies on the role of the macrophage / D. Etherington, D. Pugh, J. Silver // *Acta. Biol. Med. Germ.*- 1981.- Bd. 40, № 5.- S. 1625-1636.
279. Faulborn J. Combined macroscopic, light microscopic, scanning, and transmission electron microscopic investigation of the vitreous body. The structure of the anterior border layer of the vitreous / J. Faulborn, S. Bowald // *Ophthalmic Res.*- 1983.- Vol. 15, № 1.- P. 11-18.
280. Favard C. Vascular endothelial growth factor and retinal neovascularization / C. Favard, N. Ortega, F. Bayard // *Diabetes Metab.*- 1996.- Vol. 22, № 4.- P. 268-273.
281. Fisher S. K. Intraretinal proliferation induced by retinal detachment / S. K. Fisher // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1991.- Vol. 32, № 6.- P. 1739-1748.

282. Fisher S. K. The response of Muller cells in experimental detachment and reattachment / S. K. Fisher, D. H. Anderson // Proc. Int. Soc. Eye Res.- 1990.- Vol. 6, № 3.- P. 76.
283. Folkman J. Angiogenic factors / J. Folkman, M. Klagsburn // Science.- 1987.- Vol. 235, № 4787.- P. 442-447.
284. Foos R. Y. Vitreoretinal juncture; epiretinal membranes and vitreous / R. Y. Foos // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1977.- Vol. 16, № 5.- P. 416-422.
285. Forrester J. V. Cellular composition of posthaemorrhagic opacities in the human vitreous / J. V. Forrester, W. R. Lee // Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.- 1981.- Vol. 215, № 4.- P. 279-295.
286. Forrester J. V. The role of growth factors in proliferative diabetic retinopathy / J. V. Forrester, A. Shafiee, S. Schroder // Eye.- 1993.- Vol. 7, № 2.- P. 276-287.
287. Frank R. N. Basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor are present in epiretinal and choroidal neovascular membranes / R. N. Frank, P. H. Amin, D. Elliott // Am. J. Ophthalmol.- 1996.- Vol. 122, № 3.- P. 393-403.
288. Frank R. N. Etiologic mechanisms in diabetic retinopathy / R. N. Frank // Retina.- 1994.- Vol. 2, № 2.- P. 1243-1277.
289. Frank R. N. On the pathogenesis of diabetic retinopathy / R. N. Frank // Ophthalmology.- 1991.- Vol. 98, № 5.- P. 586-593.
290. Fredj-Reygrobellet D. Acidic FGF and other growth factors in preretinal membranes from patients with diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy / D. Fredj-Reygrobellet, C. Baudouin, F. Negre // Ophthalmic. Res.- 1991.- Vol. 23, № 3.- P. 154-161.
291. Frolich M. A molecular mechanism of regulation for granulocyte macrophage colony-stimulating factor from T lymphocytes / M. Frolich // J. Cell. Physiol.- 1981.- Vol. 109, № 3.- P. 439-445.

292. Garcia H. Production of specific retinal S-antigen antibodies in patients with retinal detachment / H. Garcia, C. Dante, G. Calderon // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.- 1988.- Vol. 226, № 5.- P. 428-430.
293. Garcia-Layana A. Porcine model of proliferative vitreoretinopathy with platelets / A. Garcia-Layana, J. C. Pastor, M. A. Saornul // Curr. Eye Res.- 1997.- Vol. 16, № 6.- P. 556-563.
294. Glaser B. M. Retinal pigment epithelial cells release inhibitors of neovascularization / B. M. Glaser, P. A. Campochiaro // Ophthalmology.- 1987.- Vol. 95, № 7.- P. 780-784.
295. Goldaracena M. B. The role of retinotomy in an experimental rabbit model of proliferative vitreoretinopathy / M. B. Goldaracena, A. Garcia-Layana, J. C. Pastor // Curr. Eye Res.- 1997.- Vol. 16, № 5.- P. 422-427.
296. Gospodarowicz D. Localization of a fibroblast growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth / D. Gospodarowicz // Nature.- 1974.- Vol. 249, № 5453.- P. 123-127.
297. Gospodarowicz D. Purification in high yield of brain fibroblast growth factor by preparative isoelectric focusing at pH 9,6 / D. Gospodarowicz, M. Luig, I. Cheng // J. Biol. Chem.- 1982.- Vol. 257, № 20.- P. 12266-12276.
298. Green W. R. Choroidal neovascularization / W. R. Green, D. J. Wilson // Ophthalmology.- 1986.- Vol. 94, № 9.- P. 169-176.
299. Grierson I. Vitreous haemorrhage and vitreal membranes / I. Grierson, J. V. Forrester // Trans. Ophthalmol. Soc. UK.- 1980.- Vol. 100, № 1.- P. 140-150.
300. Guerrin M. Vasculotropin/ vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor for human retinal pigmented epithelial cells cultured in vitro / M. Guerrin // J. Cell. Physiol.- 1995.- Vol. 64, № 2.- P. 385-394.
301. Hackett S. F. Subretinal fluid stimulation of retinal pigment epithelial cells migration and proliferation is dependent on certain features of the detachment or its treatment / S. F. Hackett, B. P. Conway, P. A. Campochiaro // Arch. Ophthalmol.- 1989.- Vol. 107, № 3.- P. 391-394.

302. Haimovici R. A new model for rhegmatogenous retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy / R. Haimovici, C. M. Yana, E. Hernandez // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1991.- Vol. 32, № 4.- P. 769.
303. Hanneken A. Altered distribution of basic fibroblast growth factor in diabetic retinopathy / A. Hanneken, G. A. Litty // Arch. Ophthalmol.- 1991.- Vol. 109, №7.- P. 105-111.
304. Hanneken A. Localization of basic fibroblast growth factor to the developing capillaries of the bovine retina / A. Hanneken, G. A. Litty // J. Cell. Physiol.- 1989.- Vol. 138, № 1.- P. 115-120.
305. Harbour J. W. Vitrectomy for diabetic macular edema associated with a thickened and taut posterior hyaloid membrane / J. W. Harbour, W. E. Smiddy, H. W. Flynn // Am. J. Ophthalmol.- 1996.- Vol. 121, № 4.- P. 405-413.
306. Hartnett M. E. Effects of growth factors and cell-cell interaction on blood-retinal barrier function / M. E. Hartnett, C. M. Garcia // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 2000.- Vol. 41, № 4.- P. 411.
307. Hayren S. S. Ocular neovascularization. Experimental animal model and studies on angiogenic factor(s) / S. S. Hayren, G. F. Lata // Int. Ophthalmol.- 1986.- Vol. 9, № 2-3.- P. 109-120.
308. Heegaard S. Morphology of the vitreoretinal border region / S. Heegaard // Acta. Ophthalmol. Scand. Suppl.- 1997.- № 222.- P. 1-31.
309. Heegaard S. Structure and composition of the inner limiting membrane of the retina / S. Heegaard, O. A. Jensen, J. U. Prause // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.- 1986.- Vol. 224, № 4.- P. 355-360.
310. Heegaard S. Structure of the human vitreoretinal border region / S. Heegaard // Ophthalmologica.- 1994.- Vol. 208, № 2.- P. 82-91.
311. Heidemkummer H. P. Morphologic analysis of epiretinal membranes in surgically treated idiopathic macular foramina. Results of light and electron microscopy / H. P. Heidemkummer, A. Kampik // Ophthalmology.- 1996.- Vol. 102, № 6.- P. 675-679.

312. Hida T. Classification of the stages of proliferative vitreoretinopathy in a refined experimental model in the rabbit eye / T. Hida, D. B. Chandler, S. M. Sheta // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.- 1987.- Vol. 225, № 4.- P. 303-307.
313. Hikichi T. Posterior vitreous detachment induced by injection of plasmin and sulfurhexafluoride in the rabbit vitreous / T. Hikichi, M. Kado // Retina.- 1999.- Vol. 19, № 1.- P. 55-58.
314. Hitchins C. A. The effects of injections of cultured fibroblasts into the rabbit vitreous / C. A. Hitchins, J. Grierson, P. S. Hiscott // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.- 1985.- Vol. 223, № 5.- P. 237-249.
315. Hooks J. Development and characterization of monoclonal antibodies, directed against the retinal pigment epithelial cell / J. Hooks, B. Detrick, C. Percopo // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1989.- Vol. 30, № 10.- P. 2106-2113.
316. Hsu H. T. Traumatic posterior vitreous detachment: scanning electron microscopy of an experimental model in the monkey eye / H. T. Hsu, R. Patterson // Scan. Electron. Microsc.- 1984.- № 3.- P. 1361-1368.
317. Huang I. S. Human platelet-derived growth factor: radioimmunoassay and discovery of a specific plasma-binding protein / I. S. Huang, S. S. Huang // J. Cell. Biol.- 1983.- Vol. 97, № 2.- P. 383-388.
318. Hui Y. N. Fibrovascular proliferation and retinal detachment after intravitreal injection of activated macrophages in the rabbit eye / Y. N. Hui, R. Goodnight, N. Sorgente // Am. J. Ophthalmol.- 1989.- Vol. 108, № 2.- P. 176-184.
319. Hui Y. N. Posterior vitreous separation and retinal detachment induced by macrophages / Y. N. Hui // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.- 1987.- Vol. 225, № 4.- P. 279-284.
320. Hynes R. O. Integrins: versality, modulation, and signaling in cell adhesion / R. O. Hynes // Cell.- Vol. 69, № 1.- P. 11-25.

321. Igengar R. Modes of membrane receptor signal comping / R. Igengar // Cellular receptors for hormones and neurotransmitters / Ed. by D. Schulster, A. Lewitzki.- New York, John Willey and Sons Ltd, 1980.- P. 55-81.
322. Ishibashi T. Expression of vascular endothelial growth factor in experimental choroidal neovascularization / T. Ishibashi, Y. Hata, H. Yoshikawa // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.- 1997.- Vol. 235, № 3.- P. 159-167.
323. Ishibashi T. Morphologic observation on experimental subretinal neovascularization in the monkey / T. Ishibashi, H. Miller // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1987.- Vol. 28, № 7.- P. 1116-1130.
324. Jaffe G. J. Modulation of macrophage colony stimulating factor in cultured human retinal pigment epithelial cells / G. J. Jaffe, W. P. Peters, W. Roberts // Exp. Eye Res.- 1992.- Vol. 54, №.- P. 595-603.
325. Jonson A. Platelet-derived growth factor: identification of constituent polypeptide chains / A. Jonson, C. H. Heldin // Biochem. and Biophys. Res. Communs.- 1982.- Vol. 101, № 1.- P. 66-74.
326. de Juan E. Jr. Interaction of retinal glial cells with collagen matrices: implications for pathogenesis of cell-mediated vitreous traction / E. Jr. de Juan, J. Dickson // Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.- 1989.- Vol. 227, № 5.- P. 494-498.
327. Kamei M. Tissue plasminogen activator in the treatment of vitreoretinal diseases / M. Kamei, M. Estefanous // Semin. Ophthalmol.- 2000.- Vol. 15, № 1.- P. 44-50.
328. Kanuga N. Oxidative stress affects the junctional integrity of retinal pigment epithelial cells / N. Kanuga, T. A. Bailey, J. A. Romero // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 675-684.
329. Kapetanios A. D. TGF- β 1, TGF- β 2 receptor II and ED-A fibronectin expression in myofibroblasts of vitreoretinopathy / A. D. Kapetanios, M. L. Bochaton-Piallat, G. Donati // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 2000.- Vol. 41, № 8.- P. 2336-2342.

330. Kaufmann D.J. H. Cytokines in vitreous humor: IL-6 is elevated in proliferative vitreoretinopathy / D.J. H. Kaufmann, J.C. van Meurs, D.A. E. Maertens // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1994.- Vol. 35, № 3.- P. 900-906.
331. Kennedy A. Proliferative response and macromolecular synthesis by ocular cells cultured on extracellular matrix materials / A. Kennedy, R. N. Frank // *Curr. Eye Res.*- 1990.- Vol. 9, № 4.- P. 307-322.
332. Kern T. S. Comparison of retinal lesions in alloxan-diabetic rats and galactose-fed rats / T. S. Kern, R. L. Engerman // *Curr. Eye Res.*- 1994.- Vol. 13, № 12.- P. 863-867.
333. Kern T. S. A mouse model of diabetic retinopathy / T. S. Kern, R. L. Engerman // *Arch. Ophthalmol.*- 1996.- Vol. 114, № 8.- P. 986-990.
334. Kessels A. G. Results and complications of temporary silicone oil tamponade in patients with complicated retinal detachment / A. G. Kessels, F. Hendrikse // *Retina.*- 2001.- Vol. 21, № 2.- P. 107-114.
335. Kimura H. A new model of subretinal neovascularization in rabbit / H. Kimura, T. Sakamoto, D. N. Hinton // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1995.- Vol. 36, № 10.- P. 2110-2119.
336. Kirchhof B. Macrophage modulation of the retinal pigment epithelial cell migration and proliferation / B. Kirchhof, E. Kirchhof, S. J. Ryan // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1989.- Vol. 227, № 1.- P. 60-66.
337. Kirchhof B. Vitreous modulation of migration and proliferation of retinal pigment epithelial cells in vitro / B. Kirchhof, E. Kirchhof // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1989.- Vol. 30, № 9.- P. 1951-1957.
338. Klein M. L. Growth features of choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration / M. L. Klein, P. A. Jorizzo, R. Watzke // *Ophthalmology.*- 1989.- Vol. 96, № 9.- P. 416-421.
339. Klemen U. M. Electron microscopical and chemical investigation of the pathological changes of the vitreous body / U. M. Klemen // *Doc. Ophthalmol.*- 1981.- Vol. 51, № 1-2.- P. 113-143.

340. Kliffen M. Increased expression of angiogenic growth factors in age-related maculopathy / M. Kliffen, H. S. Sharma, C. M. Mooy // Br. J. Ophthalmol.- 1997.- Vol. 81, № 2.- P. 154-162.
341. Knorr H.L. J. Retinal redetachment after removal of intraocular silicone oil tamponade / H.L. J. Knorr, J. B. Jonas, R. M. Rank // Br. J. Ophthalmol.- 2001.-Vol. 85, № 10.- P. 1203-1207.
342. Koch A. E. Induction of neovascularization by activated human monocytes / A. E. Koch, P. J. Polverini, S. J. Leibovich // J. Leukoc. Biol.- 1986.- Vol. 39, № 2.- P. 233-238.
343. Koch A. E. Inhibition of production of monocyte/macrophage-derived angiogenic activity by oxygen free-radical scavengers / A. E. Koch, M. Cho, J. C. Burrous // Cell. Biol. Int. Rep.- 1992.- Vol. 16, № 5.- P. 415-425.
344. Koch A. E. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis / A. E. Koch, P. J. Polverini, S. L. Kunkel // Science.- 1992.- Vol. 258, № 2.- P. 1798-1801.
345. Koerner F. Proliferative vitreoretinopathy: relation to the extent of retinal detachment, size of retinal tears and coagulation surface / F. Koerner, E. Merz // Klin. Monatsbl. Augenheilkd.- 1988.- Vol. 192, № 5.- P. 465-467.
346. Koh H. J. Inhibition of choroidal neovascularization in rats by the urokinase-derived peptide A6 / H. J. Koh, K. Bessho, L. Cheng // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 635-640.
347. Kohno T. Alterations in the distribution of fibronectin and laminin in the diabetic human eye / T. Kohno, N. Sorgente, R. Goodnight // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1987.- Vol. 28, № 3.- P. 515-521.
348. Kohno T. Immunofluorescent studies of fibronectin and laminin in the human eye / T. Kohno, N. Sorgente, T. Ishibashi // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1987.- Vol. 28, № 3.- P. 505-514.
349. Kowluru R. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes or galactosemia / R. Kowluru, T. S. Kern // Curr. Eye Res.- 1994.- Vol. 13, № 12.- P. 891-896.

350. Koyama N. Migratory and proliferative effect of platelet-derived growth factor in rabbit retinal endothelial cells: evidence of an autocrine pathway of platelet-derived growth factor / N. Koyama, S. Watanabe, M. Tezuka // *J. Cell. Physiol.*- 1994.- Vol. 19, № 3.- P. 85-90.
351. Kulonen E. Macrophages and the synthesis of connective tissue components / E. Kulonen, M. Potila // *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*- 1980.- Vol. 88, № 1.- P. 7-13.
352. Kvanta A. Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor / A. Kvanta, P. V. Algreve, L. Berglin // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1996.- Vol. 37, № 9.- P. 1929-1934.
353. Larsen C. G. The neutrophil-activating protein is also chemotactic for T-lymphocytes / C. G. Larsen, A. O. Anderson, E. Apella // *Science.*- 1989.- Vol. 243, № 4897.- P. 1464-1470.
354. Lean J. S. Origin of simple glial epiretinal membranes in an animal model / J. S. Lean // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1987.- Vol. 225, № 6.- P. 421-425.
355. Lean J. S. Retinal membrane in the vitrectomized eye: an animal model / J. S. Lean, W. A. Van der Zee, S. A. Ryan // *Trans. Ophthalmol. Soc. UK.*- 1983.- Vol. 103, № 2.- P. 174-176.
356. Leibovich S. J. The macrophage and the fibroblast / S. J. Leibovich, R. Ross // *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology* / Eds. R. Van Furth.- Oxford: Blackwell, 1975.- P. 347-354.
357. Leschey K. H. Growth factor responsiveness of human retinal pigment epithelial cells / K. H. Leschey // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1990.- Vol. 31, № 5.- P. 839-846.
358. Lewis H. Vitrectomy for diabetic macular traction and edema associated with posterior hyaloidal traction / H. Lewis, G. W. Abrams, M. S. Blumenkranz // *Ophthalmology.*- 1992.- Vol. 99, № 5.- P. 753-759.

359. Lieth E. Glial reactivity and impaired glutamate metabolism in short-term experimental diabetic retinopathy / E. Lieth, A. J. Barber, B. Xu // *Diabetes*.- 1998.- Vol. 47, № 5.- P. 815-820.
360. Lightman S. Immune mechanisms in autoimmune ocular disease / S. Lightman // *Eye*.- 1988.- Vol. 2, № 2.- P. 260-266.
361. Limb G. A. Cytokines in proliferative vitreoretinopathy / G. A. Limb, B. C. Little, A. Meager // *Eye*.- 1991.- Vol. 5, № 6.- P. 686-693.
362. Limb G. A. Distribution of cytokine proteins within epiretinal membranes in proliferative vitreoretinopathy / G. A. Limb, A. Alam, O. Early // *Curr. Eye Res*.- 1994.- Vol. 13, № 11.- P. 791-798.
363. Limb G. A. Distribution of TNF alpha and its reactive vascular adhesion molecules in fibrovascular membranes of proliferative diabetic retinopathy / G. A. Limb, A. H. Chignell, W. Grenn // *Br. J. Ophthalmol*.- 1996.- Vol. 80, № 2.- P. 168-173.
364. Lindsey J. D. Influence of molecular weight on intracameral dextran movement to the posterior segment of the mouse eye / J. D. Lindsey, A. S. Bernd, M. Aihara // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*.- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 480-484.
365. Lindsey P. S. Ultrastructure of epiretinal membrane causing retinal starfold / P. S. Lindsey, R. G. Michels, M. Luckenbach // *Ophthalmology*.- 1983.- Vol. 90, № 5.- P. 578-583.
366. Luty G. A. Localization of vascular endothelial growth factor in human retina and choroids / G. A. Luty, D. S. McLeod, C. Merges // *Arch. Ophthalmol*.- 1996.- Vol. 114, № 8.- P. 971-977.
367. Ma L. Q. Determination of immunoglobulins and complement C3 in the subretinal fluid / L.Q Ma // *Chung. Hua. Yen.Ko. Isa. Chin*.- 1987.- Vol. 23, № 1.- P. 27-29.
368. Machemer R. Proliferative vitreoretinopathy – A personal account of its pathogenesis and treatment / R. Machemer // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*.- 1988.- Vol. 29, № 12.- P. 1771-1783.

369. Majka S. Tumor necrosis factor alpha (TNF α) and protease expression in retinal neovascularization / S. Majka, J. Gidday, S. Colombo // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 2000.- Vol. 41, № 4.- P. 241-250.
370. Malcaze F. Some ultrastructural aspects of the vitreoretinal juncture / F. Malcaze, C. Caratero, A. Caratero // Ophthalmologica.- 1984.- Vol. 191, № 1.- P. 22-28.
371. von der Mark K. Cellular responses to extracellular matrix / K. von der Mark, H. von der Mark, S. Goodman // Kidney Int.- 1992.- Vol. 41, № 3.- P. 632-640.
372. Matsumoto B. Morphological study of epiretinal membrane following posterior penetrating injury in the monkey eye / B. Matsumoto // Curr. Eye Res.- 1986.- Vol.5, № 4.- P. 295-305.
373. May C. A. Immunohistochemical classification and functional morphology of human choroidal ganglion cells / C. A. May, W. Nembuber, E. Lutjen-Drecoll // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 361-367.
374. Melrose M. A. Identical twins with subretinal neovascularization complicating senile macular degeneration / M. A. Melrose, L. Magaragal, A. Lucier // Ophthalm. Surg.- 1985.- Vol. 16, №.- P. 648-651.
375. Melrose M. A. Subretinal neovascular membranes associated with choroidal nonperfusion and retinal ischemia / M. A. Melrose, L. E. Magaragae, R. E. Goldberg // Ann. Ophthalmol.- 1987.- Vol. 19, № 10.- P. 396-399.
376. van Meurs J. C. Clearance rate of macrophages from the vitreous in rabbit / J.C. van Meurs, N. Sorgente, W. J. Gauderman // Curr. Eye Res.- 1990.- Vol. 9, № 7.- P. 683-686.
377. Miller H. The role of retinal pigment epithelium in the involution of subretinal neovascularization / H. Miller, B. Miller, S. J. Ryan // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1986.- Vol. 27, № 11.- P. 1644-1652.
378. Miller B. Retinal wound healing. Cellular activity at the vitreoretinal interface / B. Miller, H. Miller, R. Patterson // Arch. Ophthalmol.- 1986.- Vol. 104, № 2.- P. 281-285.

379. Miller J. W. Vascular endothelial growth factor in ocular neovascularization and proliferative diabetic retinopathy / J. W. Miller, A. P. Adamis, L. P. Aiello // *Diabetes Metab. Res.*- 1997.- Vol. 13, № 1.- P. 37-50.
380. Miller J. W. Vascular endothelial growth factor/ vascular permeability factor is temporally and spatially correlated with ocular angiogenesis in a primate model / J. W. Miller, A. P. Adamis, D. T. Shima // *Am. J. Pathol.*- 1994.- Vol. 145, № 3.- P. 574-584.
381. Mirshahi M. S-antigen like protein in nonphotosensitive cells / M. Mirshahi, F. Borgese, A. Razaghi // *The 5th International Symposium on the immunology and immunopathology of the eye.*- Tokyo, 1990.- P.130.
382. Mirshahi M. Susceptibility of various rat strains to induction of EAU in relation epitopes of S-antigen / M. Mirshahi, Y. De Kozak, D. Gregerson // *The 5th International Symposium on the immunology and immunopathology of the eye.*- Tokyo, 1990.- P.125.
383. Mizuno K. Anterior chamber-associated immune deviation induced by soluble antigens / K. Mizuno, A. F. Clark, W. Streileint // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1989.- Vol. 30, № 6.- P. 1112-1119.
384. *Mononuclear phagocytes: Functional aspects* / Eds. R. van Furth.- New York: M. Nijholt, 1980.- 1938 p.
385. Nathan C. F. The macrophage as an effector cell / C. F. Nathan, H. W. Murray // *New. Engl. J. Med.*- 1980.- Vol. 303, № 11.- P. 622-626.
386. Nawrot M. Cellular retinaldehyde-binding protein interacts with ERM-binding phosphoprotein 50 in retinal pigment epithelium / M. Nawrot, K. West, J. Huang // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 393-401.
387. Newsome D. A. Human massive periretinal proliferation / D. A. Newsome, M. U. Rodrigues, R. Machemer // *Arch. Ophthalmol.*- 1981.- Vol. 99, № 5.- P. 873-880.

388. Nguyen Q. D. Supplemental oxygen improves diabetic macular edema: a pilot study / Q. D. Nguyen, S. M. Shah, E. Van Anden // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 617-624.
389. Nguyen-Tan J. Q. RPE cell migration into intact vitreous body / J. Q. Nguyen-Tan, J. T. Thompson // *Retina.*- 1989.- Vol. 9, № 3.- P. 203-209.
390. Nishihara H. Studies on the ultrastructure of the inner limiting membrane of the retina / H. Nishihara // *Nippon. Ganka. Gakkai. Zasshi.*- 1989.- Vol. 93, № 4.- P. 429-438.
391. Nishina S. A morphological study of extension of extraretinal vasoproliferation in retinopathy of prematurity / S. Nishina, N. Azuma // *Nippon. Ganka. Gakkai. Zasshi.*- 1995.- Vol. 99, № 7.- P. 824-828.
392. Nishikawa S. Ultrastructure of hyaluronic acid and collagen in the human vitreous / S. Nishikawa, M. Tamai // *Curr. Eye Res.*- 1996.- Vol. 15, № 1.- P. 37-43.
393. Noji S. Expression pattern of acidic and basic fibroblast growth factor genes in adult rat eyes / S. Noji, T. Matsuo, E. Koyama // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*- 1990.- Vol. 168, № 1.- P. 343-349.
394. Nork T. M. Immunocytochemical study of an eye with proliferative vitreoretinopathy and retinal tacks / T. M. Nork, I. H. Wallow, S. J. Sramek // *Retina.*- 1990.- Vol. 10, № 1.- P. 78-85.
395. Ogata N. Expression of fibroblast growth factor mRNA in developing choroidal neovascularization / N. Ogata, M. Matsushima, Y. Takada // *Curr. Eye Res.*- 1996.- Vol. 15, № 10.- P. 1008-1018.
396. Ohira A. Retinal ischemia and cell proliferation in the rat: the role of soluble mitogens / A. Ohira, E. Stefansson, E. de Juan // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1990.- Vol. 228, № 2.- P. 195-199.
397. Oksala A. Ultrasonic findings in the vitreous body at different ages and in patients with detachment of the retina / A. Oksala // *Albrecht. Vor Graefes. Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.*- 1975.- Vol. 197, № 1.- P. 83-87.

398. Oshima Y. Blockade of type β -transforming growth factor signaling inhibits progression of experimental proliferative vitreoretinopathy / Y. Oshima, T. Sakamoto, T. Hisotomi // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2000.- Vol. 41, № 4.- P. 345.
399. Patz A. Clinical and experimental studies on retinal neovascularization / A. Patz // *Am. J. Ophthalmol.*- 1982.- Vol. 94, № 6.- P. 715-743.
400. Patz A. Experimental diabetic retinopathy / A. Patz // *Isr. J. Med. Sci.*- 1972.- Vol. 8, № 8.- P. 1630-1631.
401. Patz A. Retinal neovascularization: early contribution of professor Michaelson and recent observation / A. Patz // *Br. J. Ophthalmol.*- 1984.- Vol. 68, № 1.- P. 42-46.
402. Pearlstein E. Fibronectin-mediated cellular adhesion to vascular subendothelial matrices / E. Pearlstein // *Exp. Cell. Res.*- 1981.- Vol. 134, № 1.- P. 161-170.
403. Penfold P. L. Senile macular degeneration: the involvement of immunocompetent cells / P. L. Penfold, M. C. Killingworth, S. H. Sarks // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1985.- Vol. 233, № 2.- P. 69-77.
404. Phillips G. D. Transforming growth factor- beta stimulation of angiogenesis: an electron microscopic study / G. D. Phillips // *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*- 1993.- Vol. 25, № 2.- P. 149-155.
405. Pinon R. M. Intravitreal and subretinal proliferation induced by platelet-rich plasma injection in rabbits / R. M. Pinon, J. C. Pastor, M. A. Saornie // *Curr. Eye Res.*- 1992.- Vol. 11, № 11.- P. 1047-1055.
406. Polverini P. J. Activated macrophages induce vascular proliferation / P. J. Polverini, R. S. Cotran, M. A. Gimbrone // *Nature.*- 1977.- Vol. 269, № 5570.- P. 804.
407. Powe D. G. Apoptosis in proliferative vitreoretinopathy / D. G. Powe, G. Orr, D. Fischer // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2004.- Vol. 45, № 5.- P. 1473-1479.

408. Rautenberg J. Biochemical characteristics and cellular mechanisms of fibrotic process / J. Rautenberg, B. Voss, G. Pott // Cardiac adaptation to hemodynamic overload training and stress.- New York, 1983.- P. 440-465.
409. Roberts A. B. Transforming growth factor: Isolation of polypeptides from virally and chemically transformed cells by acid/ethanol extraction / A. B. Roberts, L. C. Lamb, D. L. Newton // Proc. Nat. Acad. Sci. US.- 1980.- Vol. 77, № 6.- P. 3494-3498.
410. Rohleder M. Posterior vitreous detachment induced by microplasmin / M. Rohleder, A. Gandorfer // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 641-646.
411. Rose G. E. Immunoglobulins in paired specimens of vitreous and subretinal fluid from patients with rhegmatogenous retinal detachment / G. E. Rose, B. M. Billington, A. H. Chignell // Br. J. Ophthalmol.- 1990.- Vol. 74, № 3.- P. 160-162.
412. Ross R. The biology of platelet-derived growth factor / R. Ross, W. Raines, D. F. Bowen-Pope // Cell.- 1986.- Vol. 46, № 2.- P. 155-169.
413. Roy S. Fibronectin overexpression in retinal microvessels of patients with diabetes / S. Roy, E. Cagliero, M. Lorenzi // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1996.- Vol. 36, № 2.- P. 258-266.
414. Roy S. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose: phenomenon with a memory / S. Roy, R. Sala, E. Cagliero // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1990.- Vol. 87, № 1.- P. 404-408.
415. Ryu J. H. Monocyte heterogeneity in angiotensin converting enzyme induction mediated by autologous T-lymphocytes / J. H. Ryu, M. S. Rohrbach // Clin. Exp. Immunol.- 1992.- Vol. 88, № 2.- P. 288-294.
416. Sano T. A morphological study of experimental intravitreal proliferative tissues / T. Sano, A. Yamane, T. Tokura // Nippon. Ganka. Gakkai. Zasshi.- 1991.- Vol. 95, № 2.- P. 140-146.

417. Sarrafizaden R. Incidence of retinal detachment and visual outcome in eyes presenting with posterior vitreous separation and dense fundus-obscuring vitreous haemorrhage / R. Sarrafizaden, T. S. Hassan, A. J. Ruby // *Ophthalmology*.- 2001.- Vol. 108, № 12.- P. 2273-2278.
418. Sato Y. Autocrine activities of basic fibroblast growth factor: regulation of endothelial cells movement, plasminogen activator synthesis, and DNA synthesis / Y. Sato, D. B. Rifkin // *J. Cell. Biology*.- 1988.- Vol. 107, № 3.- P. 1199-1205.
419. Sato Y. Autocrinological role of basic fibroblast growth factor on tube formation of vascular endothelial cells in vitro / Y. Sato, T. Shimada, R. Takaki // *Biochem. Biophys. Res. Com.*- 1991.- Vol. 180, № 2.- P. 1098-1102.
420. Satoshi H. Opsin in the subretinal fluid / H. Satoshi, S. Hayasaka // *J. Cell. Biology*.- 1987.- Vol. 106, № 2.- P. 1520-1521.
421. Scholda C. Retinal detachment after silicone oil removal / C. Scholda, S. Egger // *Acta Ophthalmol. Scand.*- 2000.- Vol. 78, № 2.- P. 182-186.
422. Schroder S. Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy / S. Schroder, W. Palinski, G. W. Schmid-Schonbein // *Am. J. Pathol.*- 1991.- Vol. 139, № 1.- P. 81-100.
423. Schultz G. S. Neovascular growth factors / G. S. Schultz, M. B. Grant // *Eye*.- 1991.- Vol. 5, №2.- P. 170-180.
424. Sebag J. Abnormalities of human vitreous structure in diabetes / J. Sebag // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1993.- Vol. 231, № 5.- P. 251-260.
425. Sebag J. Diabetic retinopathy. Pathogenesis and the role of retina-derived growth factor in angiogenesis / J. Sebag, J. W. Mcmeel // *Surv. Ophthalmol.*- 1986.- Vol. 30, № 6.- P. 377-384.
426. Sebag J. Morphology and ultrastructure of human vitreous fibers / J. Sebag, E. A. Balazs // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1989.- Vol. 30, № 8.- P. 1867-1871.
427. Sebag J. Retinal S-antigen in human subretinal fluid / J. Sebag, V. V. Tuyen, J. P. Faure // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1987.- Vol. 28, № 12.- P. 2038-2041.

428. Sen H. A. The role breakdown of the bloodretinal barrier in cell-injection model of proliferative vitreoretinopathy / H. A. Sen, T. J. Robertson, B. P. Conway // Arch. Ophthalmol.- 1988.- Vol. 106, № 9.- P. 1291-1294.
429. Sholley M. M. Mechanism of neovascularization: vascular sprouting can occur without proliferation of endothelial cells / M. M. Sholley, G. P. Ferguson, H. R. Seibel // Lab. Invest.- 1984.- Vol. 51, № 6.- P. 624-634.
430. Singer S. G. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes / S. G. Singer, G. L. Nicolson // Science.- 1972.- Vol. 175, № 3.- P. 720-731.
431. Singh I. P. Persistence of the mitogenic response to platelet-derived growth factor does not reflect a long-term interaction between the growth factor and target cell / I. P. Singh, M. A. Chaikin, W. I. Pledger // J. Cell. Biol.- 1983.- Vol. 96, № 5.- P. 1497-1502.
432. Sivalingam A. Basic fibroblast growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy / A. Sivalingam, J. Kenney, G. C. Brown // Arch. Ophthalmol.- 1990.- Vol. 108, № 6.- P. 869-872.
433. Smith D. M. Coordinated induction of autocrine tumor necrosis factor and interleukin 1 in normal human monocytes and the implications for monocyte-mediated cytotoxicity / D. M. Smith, G. A. Lackides, L. B. Epstein // Cancer Res.- 1990.- Vol. 50, № 11.- P. 3146-3153.
434. Smith R. S. Vitreous membranes. A light and electron microscopical study / R. S. Smith, B. Streeten // Arch. Ophthalmol.- 1976.- Vol. 94, № 9.- P. 1556-1560.
435. Strieter R. M. Interleukin -8: A corneal factor that induced neovascularization / R. M. Strieter, S. L. Kunkel, V. M. Elner // Am. J. Pathol.- 1992.- Vol. 141, № 2.- P. 1279-1284.
436. Strieter R. M. Monocyte chemotactic protein gene expression by cytokine-treated human fibroblasts and endothelial cells / R. M. Strieter, R. Wiggins, S. H. Phan // Biochem. Biophys. Res. Comm.- 1989.- Vol. 162, № 2.- P. 694-700.

437. Strieter R. M. Monokine-induced neutrophil chemotactic factor gene expression in human fibroblasts / R. M. Strieter, S. H. Phan, H. J. Showell // *J. Biol. Chem.*- 1989.- Vol. 264, № 18.- P. 10621-10626.
438. Suchka S. Immunochemical characterization of three novel retinaspecific antigens in humans and some mammals / S. Suchka, R. Trebukhina // *The 5th International Symposium on the immunol. and immunopathol. of the eye.*- Tokyo, 1990.- P.169.
439. Tachi N. Vitrectomy for diffuse macular edema in cases of diabetic retinopathy / N. Tachi, N. Ogino // *Am. J. Ophthalmol.*- 1996.- Vol. 122, № 2.- P. 258-260.
440. Takagi H. Adenosine mediates hypoxic induction of vascular endothelial growth factor in retinal pericytes and endothelial cells / H. Takagi, G. L. King, G. S. Robinson // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1996.- Vol. 37, № 11.- P. 2165-2176.
441. Tamura T. Membranous nature of premacular vitreous cortex in the human eye / T. Tamura, S. Kishi // *Jpn. Ophthalmol.*- 1996.- Vol. 40, № 2.- P. 181-186.
442. Tamura T. Scanning electron microscopic findings of the premacular vitreous in eye without posterior vitreous detachment / T. Tamura, S. Kishi // *Nippon. Ganka. Gakkai. Zasshi.*- 1993.- Vol. 97, № 10.- P. 1197-1202.
443. Tang S. Cells of the immune system and their cytokines in epiretinal membranes and in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy / S. Tang, O. F. Scheiffarth, S. R. Thurau // *Ophthalmic. Res.*- 1993.- Vol. 25, № 3.- P. 177-185.
444. Taniguchi Y. Electron microscopy of lesions in retinal blood vessels of rats rendered diabetic with alloxan or streptozotocin / Y. Taniguchi, M. Sameshima, Y. Yuchi // *Nippon. Ganka. Gakkai. Zasshi.*- 1974.- Vol. 78, № 8.- P. 636-648.
445. Tezel T. H. Posterior vitreous detachment with dispase / T. H. Tezel, L. V. Del Priore, H. J. Kaplan // *Retina.*- 1988.- Vol. 18, № 1.- P. 7-15.

446. Thillaye-Goldenberg B. EIU in the rat promotes the potential of syngeneic retinal cells injected into the vitreous cavity to induce PVR / B. Thillaye-Goldenberg, F. Behar-Cohen, M. Savoldelli // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*-2000.- Vol. 41, № 12.- P. 3915-3924.
447. Tobe T. A model of experimental choroidal neovascularization in the rat, using krypton laser / T. Tobe, T. Takahashi, H. Ohkuma // *Folia Ophthalmol. Jpn.*-1994.- Vol. 45, № 4.- P. 853-856.
448. Trempe C. L. Vitreous change in retinal branch vein occlusion / C. L. Trempe, T. Takahashi, H. W. Topilow // *Ophthalmology.*- 1981.- Vol. 88, № 7.- P. 681-687.
449. Tripathi B. J. Extracellular release of tissue plasminogen activator is increased with the phagocytic activity of the retinal pigment epithelium / B. J. Tripathi, J. K. Park, R. C. Tripathi // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1989.- Vol. 30, № 12.- P. 2470-2473.
450. Usui T. VEGF164(165) as the pathological isoform: differential leukocyte and endothelial responses through VEGFR1 and VEGFR2 / T. Usui, S. Ishida, K. Yamashiro // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 368-374.
451. Vandier J. F. Growth rate of subretinal neovascularization age-related macular degeneration / J. F. Vandier, S. M. Morgan, H. Schatz // *Ophthalmology.*- 1989.- Vol. 96, № 9.- P. 1422-1429.
452. Viores S. A. Ultrastructural and electron-immunocytochemical characterization of cells in epiretinal membranes / S. A. Viores, P. A. Campochiaro, B. P. Conway // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1990.- Vol. 31, № 1.- P. 14-28.
453. Viores S. A. Ultrastructural and immunocytochemical changes in retinal pigmented epithelium, retinal glia, and fibroblasts in vitreous culture / S. A. Viores, P. A. Campochiaro // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 1990.- Vol. 31, № 3.- P. 29-35.

454. Viores S. A. Isoforms of platelet-derived growth factor and its receptors in epiretinal membranes: immunolocalization to retinal pigmented epithelial cells / S. A. Viores // *Exp. Eye Res.*- 1995.- Vol. 60, № 5.- P. 607-619.
455. Virchow R. Die cellular Pathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre / R. Virchow // *Arch. Path. Anat.*- 1858.- Bd. 8, № 1.- S. 1-33.
456. Wacker W. Experimental allergic uveitis: isolation, characterization and localization of soluble uveitopathogenic antigen from bovine retina / W. Wacker, L. Donoso, C. Kalsow // *J. Immunol.*- 1977.- Vol. 131, № 3.- P. 19-35.
457. Wang F. Histopathologic changes of weiss ring after retinal detachment associated with proliferative vitreoretinopathy / F. Wang, X. Zhang, H. H. Hu // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2000.- Vol. 41, № 4.- P. 346.
458. Wang J. M. Induction of monocyte migration by recombinant macrophage colony-stimulating factor / J. M. Wang, J. D. Griffin, A. Mantovani // *J. Immunol.*- 1988.- Vol. 141, № 2.- P. 57-79.
459. Wang L. Adrenomedullin affects two signal transduction pathways and the migration in retinal pigment epithelial cells / L. Wang, W. Huang, M. Yuan // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2004.- Vol. 45, № 5.- P. 1507-1513.
460. Weber M. L. Retinovitreal neovascularization in the Royal College of Surgeons rat / M. L. Weber, M. A. Mancini, R. N. Frank // *Curr. Eye Res.*- 1989.- Vol. 8, № 1.- P. 61-74.
461. Weiss R. E. Role of fibronectin in collagenous matrix-induced mesenchymal cell proliferation and differentiation in vivo / R. E. Weiss, A. H. Reddi // *Exp. Cell. Res.*- 1981.- Vol. 133, № 2.- P. 247-254.
462. Weller M. Demonstration of mononuclear phagocytes in a human epiretinal membrane using a monoclonal anti-human macrophage antibody / M. Weller, K. Heimann, P. Wiedemann // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1988.- Vol. 226, № 3.- P. 252-254.

463. Weller M. Immunohistology of proliferative vitreoretinopathy following giant tear detachment / M. Weller, M. Bresgen, K. Heimann // *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.*- 1989.- Vol. 195, № 5.- P. 323-325.
464. Weller M. Mononuclear phagocytes and their growth factors: pacemakers of proliferative vitreoretinopathy / M. Weller, K. Heimann, P. Wiedemann // *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.*- 1990.- Vol. 196, № 3.- P. 121-127.
465. Weller M. Proliferative vitreoretinopathy – is it anything more than wound healing at the wrong place? / M. Weller, P. Wiedemann, K. Heimann // *Int. Ophthalmol.*- 1990.- Vol. 14, № 2.- P. 105-117.
466. Weller M. The pathogenesis of vitreoretinal proliferation and traction: a working hypothesis / M. Weller, P. Wiedemann, K. Heimann // *Med. Hypotheses.*- 1990.- Vol. 31, № 2.- P. 157-159.
467. Weller M. The significance of fibronectin in vitreoretinal pathology. A critical evaluation / M. Weller, P. Wiedemann, K. Heimann // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*- 1988.- Vol. 226, № 3.- P. 294-298.
468. Werb Z. Macrophage membrane synthesis / Z. Werb // *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology* / Eds. R. van Furth.- Oxford: Blackwell, 1975.- P. 331-346.
469. Wise G. M. Retinal neovascularization / G. M. Wise // *J. Am. Ophthalmol. Soc.*- 1956.- Vol.54, № 4.- P. 729-826.
470. Wong H. C. Retinal pigment epithelial cells in culture produce retinal vascular mitogens / H. C. Wong, M. Boulton, D. McLeod // *Arch. Ophthalmol.*- 1988.- Vol. 106, № 10.- P. 1439-1443.
471. Worst J. G.F. A SEM-correlation of the anatomy of the vitreous body: making visible the invisible / J.G. F. Worst // *Doc. Ophthalmol.*- 1986.- Vol. 64, № 1.- P. 117-127.
472. Worst J.G. F. Cisternal anatomy of the fully developed vitreous body in the young adult / J.G. F. Worst // *Trans. Ophthalmol. Soc. UK.*- 1977.- Vol. 97, № 3.- P. 550-554.

473. Worst J.G. F. Comparative anatomy of the vitreous body in rhesus monkeys and man / J.G. F. Worst // *Doc. Ophthalmol.*- 1992.- Vol. 71, № 1.- P. 169-178.
474. Xu X. The contents of transforming growth factor- beta 1 and their receptor cells study in subretinal fluid / X. Xu, H. H. Hu, F. Wang // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2000.- Vol. 41, № 4.- P. 364.
475. Yamamoto S. Effects of TGF- β neutralizing antibody on experimental proliferative vitreoretinopathy / S. Yamamoto, T. Yamamoto, T. Aoki // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2000.- Vol. 41, № 4.- P. 345.
476. Yoshino Y. Comparative study of clinical factors predisposing patients to proliferative vitreoretinopathy / Y. Yoshino, H. Ideta, H. Nagasaki // *Retina.*- 1989.- Vol. 9, № 2.- P. 97-100.
477. Zakov Z. N. Ultrasonographic mapping of vitreoretinal abnormalities / Z. N. Zakov, L. A. Berlin, F. A. Gutman // *Am. J. Ophthalmol.*- 1983.- Vol. 96, № 5.- P. 622-631.
478. Zheng Y. Involvement of rho-kinase pathway in contractive activity of rabbit RPE cells in vivo and in vitro / Y. Zheng, H. Bando, Y. Ikuno // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*- 2004.- Vol. 45, № 2.- P. 668-674.
479. Zhu Z. R. Morphologic observations of retinal pigment epithelial proliferation and neovascularization / Z. R. Zhu, R. Goodnight, N. Sorgente // *Retina.*- 1989.- Vol. 9, № 4.- P. 319-327.