

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Горбунова Евгения Александровна

**МОРФОЛОГИЯ ОРБИТАЛЬНОЙ КУЛЬТИ, СФОРМИРОВАННОЙ
С ПРИМЕНЕНИЕМ НИКЕЛИДА ТИТАНА И АУТОЛОГИЧНЫХ
МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ**

1.5.22. Клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Логвинов Сергей Валентинович

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Кривошеина Ольга Ивановна

Томск – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Современные принципы формирования орбитальной культи и коррекции анофтальмического синдрома	12
1.2. Морфологические аспекты формирования орбитальной культи из различных имплантатов, механизмы их фиксации в орбитальной полости	13
1.3. Осложнения орбитальной имплантации и методы их лечения	23
1.4. Биосовместимый пористый сплав из никелида титана – перспективный имплантационный материал в офтальмохирургии	25
1.5. Клеточные технологии – перспективное направление в офтальмологии	28
1.6. Тканевые реакции на имплантат из никелида титана	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
2.1. Объект и методы экспериментальных исследований	35
2.2. Характеристика гистологических исследований	39
2.2.1. Подготовка материала для световой микроскопии	39
2.2.2. Методы окрашивания препаратов	40
2.2.3. Подготовка материала для электронной микроскопии	41
2.3. Морфометрический анализ	42
2.4. Методы статистической обработки	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	44
3.1. Закономерности формирования опорно-двигательной культи глазного яблока у крыс в зависимости от вида орбитального имплантата	44
3.2. Результаты гистологических исследований	52
3.3. Сравнительный анализ морфогенеза опорно-двигательной культи глазного яблока у крыс в зависимости от вида орбитального имплантата	86
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	92
ВЫВОДЫ	105
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	107

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Современная офтальмология достигла значительных успехов в лечении глазных заболеваний. Тем не менее, тяжелая патология и травмы органа зрения нередко приводят к состояниям, которые требуют радикального хирургического лечения – удаления глазного яблока [2, 3, 34]. Это обуславливает необходимость получения максимального косметического эффекта от данного хирургического вмешательства [84, 91, 97, 113, 177].

Необходимо отметить, что около 75% энуклеаций выполняются без формирования опорно-двигательной культи и имплантации орбитального вкладыша [57]. Это, в свою очередь, приводит к развитию анофтальмического синдрома [12, 17, 69, 97]. Клиническая картина данного осложнения характеризуется западением орбито-пальпебральной борозды, деформацией век, птозом и неполным смыканием глазной щели [127].

Лечение анофтальмического синдрома представляет собой трудоемкий и многоэтапный процесс, направленный на восстановление объема конъюнктивальной полости и других анатомических структур, а также восполнение дефицита объема тканей орбиты с помощью имплантата из инертного биосовместимого материала [41, 57]. К настоящему времени существует целый ряд материалов для изготовления орбитальных имплантатов. Некоторые из них, такие как хрящ, гидроксиапатит и углеродные композиты, достаточно широко применяются в офтальмохирургии, другие же, например, тантал, керамика, инъекционный гидрогель и монолитный силикон, имеют ограниченное применение, как из-за высокой стоимости, так и вследствие большого числа осложнений [41, 57, 150, 180]. По данным ряда авторов, частота обнажения орбитальных имплантатов варьирует от 4 до 38% случаев [115, 136, 174].

Для снижения частоты осложнений и укрепления опорно-двигательной культи глаза используются различные материалы: кожно-жировой лоскут,

апоневроз с височной зоны, донорская склера, твёрдая мозговая оболочка и др. [31, 49, 64, 78, 98, 114, 121, 130, 145, 151, 160, 181, 183, 214–216]. Однако существует предположение, что их применение может препятствовать васкуляризации [216], имеется опасность передачи реципиенту различных инфекций [217].

На современном этапе повысился интерес офтальмохирургов к биоинтегрируемым материалам, структура которых обеспечивает достаточно быстрое врастание окружающих тканей, способствуя, тем самым, прочной фиксации имплантата в орбите. Вокруг таких имплантатов образуется соединительнотканная капсула, а от пористости и свойств поверхности материала зависит степень его прорастания и наличие сопутствующей воспалительной реакции [22, 43, 44, 125, 132, 163].

Вместе с тем, при использовании пористых материалов, особенно в отдалённые сроки, вероятно развитие таких осложнений, как обнажение имплантата, его инфицирование и отторжение. Возможное решение проблемы – использование клеточных технологий при орбитальной имплантации [9, 40, 72, 74, 94, 164].

Клеточные технологии в последние десятилетия активно применяются в медицине, в том числе и для лечения офтальмологических заболеваний путём трансплантации жизнеспособных аутологичных, аллогенных или ксеногенных живых клеток с целью стимуляции процессов регенерации поврежденной ткани [62, 92, 141, 169, 191, 200]. Возможна пересадка как стволовых клеток [9, 40, 48, 72, 74, 76, 90, 92, 164, 179, 213], так и клеток крови, в том числе мононуклеарных [75, 120, 123, 134, 141, 146, 153, 170, 184, 188, 212].

Также возможно использование тканеинженерных конструкций – новых биокomпозиционных материалов, состоящих из матрикса для трансплантируемых клеток и собственно клеточного компонента, который должен интегрироваться в материал, способствуя его прорастанию окружающими тканями для прочной фиксации имплантата [36, 40, 43, 44, 67, 125, 155, 163]. К материалам-носителям предъявляются очень серьёзные

требования: они должны быть биосовместимыми, с определёнными физико-химическими свойствами, обеспечивать опорную и структурообразующую функцию в поврежденном органе [36, 43, 44, 73, 125, 163, 196].

Таким образом, недостаточная эффективность различных методов орбитальной имплантации и способов укрепления опорно-двигательной культи глаза, слабая изученность закономерностей регенерации при имплантации в орбитальную полость различных материалов и механизмов, обеспечивающих надёжную фиксацию имплантата в полости орбиты, вызывают необходимость поиска и разработки новых эффективных методов формирования опорно-двигательной культи глазного яблока, применение которых в офтальмологической практике обеспечит оптимальную медико-социальную реабилитацию пациентов данной категории.

Степень разработанности темы исследования

В литературе появляется всё больше информации об использовании пористых и биоинтегрируемых материалов после эвисцерации, энуклеации, благодаря которым имплантат достаточно прочно укрепляется в орбитальной полости за счёт васкуляризации и коллагенообразования [44, 114, 125, 163]. Однако и при использовании пористых материалов возможно развитие осложнений в различные сроки после операции [41, 57, 165]. В связи с этим в настоящее время активно изучается применение клеточных технологий для усиления регенеративного потенциала в зоне оперативного вмешательства [40, 44, 67, 163]. Они, совместно с пористыми материалами, образуют так называемые тканеинженерные конструкции. Применяются различные клеточные суспензии, в том числе мононуклеарные клетки крови, которые за счет секреции биологически-активных веществ активно участвуют в воспалительно-регенераторных процессах и восстановлении тканей [67, 120, 123, 134, 146, 170, 184]. А. Medina и соавт. (2007), R. Yoshida и M. M. Murray (2013), N. Nami и соавт. (2016) в своих исследованиях выявили стимулирующее влияние мононуклеарных клеток крови на фибробласты и последующие репаративные процессы в поврежденных тканях [134, 212, 222].

Никелид титана активно применяется в медицине в качестве материала для имплантации, который надёжно фиксируется в зоне оперативного вмешательства за счет прорастания соединительной ткани в поровом пространстве [28, 43, 95]. Кроме того, он может служить матриксом для клеточной суспензии, которая запускает процессы пролиферации и дифференцировки клеток, способствуя созреванию соединительной ткани в имплантате и его укреплению в зоне оперативного вмешательства [28, 43].

Перспективным направлением в офтальмохирургии является использование имплантата из никелида титана и аутологичных моноклеарных клеток крови в составе тканеинженерной конструкции для формирования и укрепления опорно-двигательной культуры глазного яблока. Однако в научной литературе до настоящего времени отсутствуют данные о морфогенезе культуры глаза при использовании никелида титана, что обуславливает актуальность проведения экспериментальных исследований для оценки влияния клеточной суспензии моноклеаров крови на развитие соединительной ткани при их совместной имплантации с никелидом титана.

Цель исследования

Изучить особенности морфогенеза опорно-двигательной культуры глазного яблока в эксперименте *in vivo* при использовании в качестве орбитального имплантата тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови.

Задачи исследования

1. Изучить характер и динамику течения воспалительно-репаративной реакции при формировании опорно-двигательной культуры глазного яблока путём имплантации в склеральный мешок после эвисцероэнуклеации тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови в эксперименте *in vivo*.

2. Изучить динамику течения воспалительно-репаративной реакции при формировании опорно-двигательной культуры глазного яблока путём помещения

в склеральный мешок после эвисцероэнуклеации имплантата из никелида титана или биоматериала (подкожно-жировая клетчатка подошвы человека) в эксперименте *in vivo*.

3. Провести сравнительный анализ особенностей морфогенеза опорно-двигательной культуры глаза в зависимости от вида имплантата в эксперименте *in vivo*.

4. Проанализировать характер и частоту развития интра- и послеоперационных осложнений при формировании опорно-двигательной культуры глаза в зависимости от вида имплантата в эксперименте *in vivo*.

Научная новизна

Разработан новый метод формирования опорно-двигательной культуры глазного яблока с помощью тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови в эксперименте *in vivo*.

Впервые проанализированы особенности течения воспалительно-репаративной реакции при применении тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови. Установлено, что дополнительное введение клеток данной популяции в имплантат способствует быстрому переходу воспаления в стадию регенерации, что приводит к прочной фиксации имплантата и обеспечивает стабильную форму опорно-двигательной культуры глаза.

Впервые при формировании опорно-двигательной культуры глазного яблока с помощью тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови в эксперименте *in vivo* проведён анализ процессов коллагенообразования и ангиогенеза по сравнению с таковыми при использовании имплантата из никелида титана и биоматериала из подкожно-жировой клетчатки подошвы человека.

Впервые в эксперименте *in vivo* изучены возможные интра- и послеоперационные осложнения в виде обнажения и отторжения имплантата, присоединения вторичной инфекции при применении тканеинженерной

конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови для формирования опорно-двигательной культуры глаза.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты экспериментальных исследований *in vivo* расширяют имеющиеся представления о морфогенезе опорно-двигательной культуры глазного яблока при использовании в качестве имплантата тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови. Выявлено, что дополнительное введение аутологичных моноклеаров крови в структуру имплантата из никелида титана приводит к ускоренному созреванию соединительной ткани и интенсивному росту сосудов, обеспечивая прочную фиксацию имплантата в культе глаза.

Исследования *in vivo* показали, что применение тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови обеспечивает стабильную форму опорно-двигательной культуры глаза и снижает риск развития послеоперационных осложнений.

Исследования проведены по плану научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск) в рамках комплексной темы «Синдром фиброваскулярной пролиферации при патологии органа зрения» (регистрационный № 01201152364 от 17.02.2011) и при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации в рамках гранта для молодых учёных № МК-2650.2012.7.

Результаты экспериментальных исследований открывают перспективы для широкого применения клеточных технологий в офтальмологической практике при лечении различных заболеваний органа зрения.

Методология и методы исследования

Работа выполнена в дизайне экспериментального исследования *in vivo*. Методологической основой исследования является сравнительное изучение морфогенеза опорно-двигательной культуры глазного яблока крыс при

использовании тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови, имплантата из никелида титана и биоматериала из подкожно-жировой клетчатки подошвы человека. В работе использованы комплекс гистологических методов исследования, наружный осмотр, биомикроскопия опорно-двигательной культуры глаза крыс, фоторегистрация.

Положения, выносимые на защиту

1. Применение тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови в качестве имплантата при формировании опорно-двигательной культуры глазного яблока в эксперименте *in vivo* стимулирует интенсивное коллагенообразование и ангиогенез, обеспечивая прочную фиксацию имплантата в орбите.

2. Дополнительное введение аутологичных моноклеарных клеток крови в структуру имплантата из никелида титана при формировании опорно-двигательной культуры глаза в эксперименте *in vivo* способствует ускоренной дифференцировке фибробластов и эндотелиоцитов и быстрому переходу воспаления в стадию регенерации.

3. Формирование опорно-двигательной культуры глаза с помощью тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови в эксперименте *in vivo* характеризуется отсутствием интра- и послеоперационных осложнений в виде обнажения и отторжения имплантата благодаря упруго-эластичным свойствам и пористой структуре никелида титана, который прорастает васкуляризированной соединительной тканью и обеспечивает стабильную форму культуры глаза.

Степень достоверности и апробация результатов

Полученные результаты имеют высокую степень доказательности, что подтверждается достаточным объёмом экспериментальных и морфологических данных, использованием современных экспериментальных (с моделированием *in*

vivo) подходов и методических приёмов, высокоинформативных методов исследования, высокотехнологичного оборудования и адекватных задачам критериев статистической обработки полученных результатов.

Основные материалы диссертации доложены и обсуждены: на заседаниях Томского общества офтальмологов (Томск, 2011–2018), на Всероссийской юбилейной научно-практической конференции, посвящённой 120-летию кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (Томск, 2011), научно-практической конференции офтальмологов «Актуальные вопросы клинической офтальмологии. Социально-значимые проблемы общей медицинской практики» (Северск, 2011), Международном конгрессе «The Association for Research in Vision and Ophthalmology» (США, Форт-Лодердейл, 2011), юбилейной научно-практической конференции, посвящённой 20-летию курса офтальмологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России «Современные технологии диагностики и лечения заболеваний органа зрения» (Томск, 2014), I Российском конгрессе с международным участием «Пролиферативный синдром в биологии и медицине» (Москва, 2014), XII Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2017), областной научно-практической конференции, посвящённой 30-летию офтальмологического отделения ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница» «Актуальные вопросы офтальмологии» (Томск, 2019).

Внедрение результатов работы в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии и кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск) для обучения студентов и клинических ординаторов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 25 научных работ, в том числе 7 – в рецензируемых центральных научных изданиях, рекомендованных ВАК

Минобразования РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора медицинских наук, 2 – в изданиях, входящих в базу Scopus и Web of Science, 1 – в международной печати.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в разработке концепции, дизайна и планировании научного исследования. Им лично выполнена серия экспериментов *in vivo* с забором и подготовкой энуклеированных глаз экспериментальных животных для световой и электронной микроскопии, проведены гистологические исследования. Статистическая обработка полученных результатов, оформление диссертации выполнены лично автором.

Структура и объём диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 131 странице машинописного текста, иллюстрирована 2 таблицами и 69 рисунками. Список литературы содержит 222 источника, в том числе 112 отечественных и 110 зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные принципы формирования орбитальной культуры и коррекции анофтальмического синдрома

Современная офтальмология достигла значительных успехов в лечении глазных заболеваний, тем не менее, тяжелая патология и травмы органа зрения нередко приводят к состояниям, которые требуют радикального хирургического лечения – удаления глазного яблока. Данный вид лечения в последнее время выполняется гораздо реже, чем раньше, однако офтальмохирурги вряд ли смогут полностью отказаться от этой операции [35].

В случае потери зрения и глаза, как органа, пациенты нуждаются в медицинской и социальной реабилитации [26]. Ежегодно в России выполняется свыше 12 тыс. подобных операций [17, 23, 102], 58% прооперированных составляют лица трудоспособного возраста [83, 100, 102, 104]. Возникающий после энуклеации косметический дефект оказывает негативное влияние на социальную активность пациентов [8]. Кроме того, у детей неадекватное протезирование после энуклеации ведет к асимметрии лица, а в дальнейшем и формированию «ущербной личности» [3, 17, 23, 39, 58, 61, 70, 177].

До 75% энуклеаций и эвисцераций производятся без формирования опорно-двигательной культуры и имплантации орбитального вкладыша [17, 24, 51, 102, 143, 186], что приводит к развитию анофтальмического синдрома – комплекса косметических недостатков, вызванных отсутствием глазного яблока или заменяющего его орбитального имплантата [17, 34, 70]. Данный синдром проявляется западением верхнего века в области верхней орбито-пальпебральной борозды, глубокой посадкой и неподвижностью протеза, провисанием нижнего века, наличием наружной спайки конъюнктивальной полости [97, 127].

Свыше 40% пациентов с анофтальмом нуждаются в проведении повторных пластических операций на опорно-двигательной культуре [38]. Наиболее частой причиной неудовлетворительной косметической реабилитации таких больных

после удаления глазного яблока является отсутствие или ограничение подвижности глазного протеза, которая в среднем составляет не более 33% от подвижности опорно-двигательной культуры [13, 88, 102].

Для достижения хорошего косметического результата при протезировании необходимо сформировать объёмную культу. В связи с этим освободившееся после удаления глаза пространство должно быть заполнено каким-либо пластическим материалом, что невозможно без использования вкладышей-имплантатов [97, 178, 187, 198, 217].

Однако при использовании большинства известных материалов для имплантации возможны развитие ряда серьезных осложнений (смещение, обнажение и отторжение имплантатов) и неудовлетворительный косметический эффект из-за резорбции биологического материала или применения недостаточного объёма небиологического материала [35, 82, 98, 115, 124, 159, 202].

R. L. Anderson и соавт. (2002) указывают, что для достижения хорошего косметического эффекта при протезировании имплантат должен адекватно возмещать объём содержимого орбиты, иметь низкий удельный вес, незначительную резорбционную способность, обеспечивать высокую подвижность опорно-двигательной культуры, являться хорошей основой для глазного протеза, иметь минимальные возможности к миграции и обнажению [117, 118]. Кроме того, имплантат должен быть прост в стерилизации, универсален в плане применения его при первичной энуклеации, эвисцерации и отсроченной имплантации, а также выгоден с экономической точки зрения [117, 118].

1.2 Морфологические аспекты формирования орбитальной культуры из различных имплантатов, механизмы их фиксации в орбитальной полости

Впервые орбитальная имплантация была выполнена в 1885 г. Р. Н. Mules, который во время эвисцерации поместил стеклянную полую сферу в склеральную полость [119]. Спустя год W. A. Frost и W. Lang (1886) применили аналогичный имплантат после энуклеации. Эти события послужили началом

развития такого направления офтальмохирургии, как пластика орбитальной культи [11, 175].

В дальнейшем для формирования опорно-двигательной культи глаза использовались имплантаты из различных материалов: парафин, слоновая кость, морская губка, инертные металлы (золото, платина, серебро, тантал), которые, однако, не получили большого распространения из-за высокого числа послеоперационных осложнений и неудовлетворительных косметических и функциональных результатов операции [15].

На сегодняшний день применяются биологические и синтетические имплантаты для формирования опорно-двигательной культи глаза. К биологическим материалам относятся рёберный хрящ, подкожно-жировая клетчатка подошвы человека («Аллоплант»), гидроксиапатит морского коралла [18, 124, 199, 201]. Синтетические – синтетический гидроксиапатит, пористый полиэтилен, гидрогелевые имплантаты, политетрафторэтилен, углеродный войлок и др. [30, 99, 185, 199].

Биологические имплантаты имеют свойство рассасываться со временем, методы их забора представляют определённую сложность, необходимо создавать банк таких материалов, что связано со значительными материальными и трудовыми затратами. Недостатками имплантации синтетических материалов являются обнажение и отторжение имплантатов (от 4 до 38%), их деформация, а в ряде случаев – высокая цена [22, 57, 136, 174, 218].

С развитием химии полимеров и пластмасс в пластической офтальмохирургии стали активно применять целый ряд синтетических материалов: полиэтилен, поливиол, полиметилметакрилат, супрамид, тефлон, пенополистирол, капрон, лавсан, силикон, пенополиуретан, корундовую керамику и др. [51]. Однако, согласно литературным данным, при использовании синтетических материалов в качестве орбитального имплантата возможно развитие осложнений в различные сроки после оперативного вмешательства [51].

Описано применение имплантата, изготовленного из пластмассы АКР-7 и имеющего форму шара разных диаметров (16, 18, 20 мм), с 2-миллиметровыми

отверстиями по всей поверхности. Однако результаты операции оказались неудовлетворительные и в косметическом, и в функциональном плане. В раннем послеоперационном периоде отторжение имплантата отмечено в 3% случаев, так как синтетический материал не прорастает соединительной тканью и плохо фиксируется в орбитальной полости, а в отдаленном периоде в 10% случаев наблюдалось западение глазного протеза [51].

Описан способ формирования орбитальной культи с использованием быстротвердеющей пластмассы, вводимой в тенонову капсулу. Этот метод не получил широкого распространения в связи со сложностью прогнозирования формы и радиуса кривизны формируемой культи. Полимерная композиция после введения в тенонову капсулу быстро проникает в межтканевые щели и затвердевает, вследствие чего образуется различный по объему и форме имплантат с множеством выпячиваний, ограничивающих подвижность опорно-двигательной культи [108].

Согласно мнению большинства офтальмохирургов, прослеживается четкая зависимость между частотой развития осложнений, как от материала имплантата, так и от его формы.

Ю. С. Друянова и соавт. (1990) наиболее неудачной считают сферическую форму имплантата [34]. Они отмечают, что чрезмерно выпуклая опорно-двигательная культи, формирующаяся при имплантации сферических вкладышей, неудобна для протезирования и значительно ограничивает возможность применения двустенных стеклянных протезов. При использовании сферических имплантатов также трудно добиться хорошей передачи движения с культи на протез. В качестве альтернативы авторы предлагают использовать «сетчатый» имплантат из силиконовой резины, имеющий шаровидную форму. При этом его передняя поверхность должна быть покрыта лавсановой сеткой [34].

Г. Е. Borodic и соавт. (1989) разработали специальную методику хирургической коррекции полости культи при обнажении и выталкивании синтетического имплантата с использованием кожно-жирового лоскута с

ягодицы для его укрепления. Лоскут помещался в задний отдел опорно-двигательной культи для обеспечения его кровотоком, прорастал сосудами и соединительной тканью, прочно фиксировался и сохранял объём и подвижность орбитальной культи. Авторы отмечают, что каких-либо осложнений в послеоперационном периоде не наблюдалось [128].

Сотрудниками Уфимском центра пластической хирургии совместно с профессором Э. Р. Мулдашевым был разработан подошвенный дермо-жировой лоскут для имплантации «Аллоплант» [18]. Подкожно-жировая клетчатка подошвы человека морфологически и функционально значительно отличается от клетчатки других областей организма. Вследствие интенсивных механических нагрузок в подошве развивается большое количество стромы в виде мощных пучков коллагеновых волокон, оплетенных тонкой эластичной сетью. При этом в плотной строме имеются ячейки округлой формы, содержащие жировые клетки. Ячейки сохраняют первоначальный объём в различных функциональных условиях, не спадаясь даже при полном удалении из них жира. Данный имплантат имеет низкие антигенные свойства, так как обменные процессы в подкожно-жировой клетчатке подошвы протекают с низкой интенсивностью. Кроме того, в процессе изготовления материал подвергается дозированной экстракции гликозаминогликанов, таким образом, максимально снижается его иммуногенность. Данная технология значительно изменяет свойства нативных тканей, поэтому «Аллоплант» можно считать биоматериалом [88]. «Аллоплант» успешно применяется для формирования культи глаза после энуклеации и эвисцерации [18, 53].

По данным В. Н. Канюкова и Ж. Х. Санеевой (2015), в течение 4 лет наблюдения не было отмечено значительного уменьшения объёма сформированной культи, а достигнутый косметический и функциональный эффект полностью сохранялся. Установлено, что жировая структура «Аллопланта» стимулирует прорастание соединительной ткани и новообразованных сосудов в имплантат, способствуя его укреплению и формированию стабильной опорно-двигательной культи глаза [45].

А. Ю. Салихов (2003) успешно использовал «Аллоплант» для пластики опорно-двигательной культуры при офтальмоонкологических заболеваниях [85].

Вместе с тем, несмотря на все положительные стороны применения данного материала при формировании орбитальной культуры, имеются и отрицательные моменты. Так, по данным Е. С. Милюдина (1992), у 50% пациентов, оперированных с использованием «Аллопланта», через 2–3 года после хирургического вмешательства отмечалось значительное уменьшение размера культуры, что, вероятно, связано с рассасыванием имплантата [65]. Вместе с тем кожно-жировые имплантаты успешно применяются в современной хирургии орбиты [51, 122].

Л. М. Цурова и соавт. (2014) для формирования опорно-двигательной культуры в качестве орбитального имплантата использовала лиофилизированный костный имплантат «Лиопласт». Согласно их клиническим наблюдениям, имплантация костного вкладыша снижает вероятность развития выраженной воспалительной реакции и риск обнажения и отторжения имплантата. Его форма легко моделируется в ходе операции, что в дальнейшем обеспечивает качественное глазное протезирование [103]. Костный орбитальный имплантат, по результатам морфологического исследования, благодаря пористой структуре прорастает соединительной тканью, формируя прочную связь с тканями орбиты [19, 103].

В нашей стране широкое распространение для формирования орбитальной культуры получил гомохрящ. Первые работы по использованию данного материала в качестве имплантата принадлежат Н. М. Михельсону (1939), а также Д. Г. Свердлову (1941) [86]. В дальнейшем именно гомохрящ стал одним из наиболее часто применяемых материалов для создания опорно-двигательной культуры глаза после энуклеации, эвисцерации [51].

Н. Н. Грачёв (1987) отмечает большое число положительных качеств консервированного хряща: доступность, низкий удельный вес, лёгкость стерилизации, удобство моделирования, имплантации и фиксации в ходе операции, хорошая переносимость тканями, слабая воспалительная реакция, что снижает риск обнажения имплантата [20]. По мнению автора, случаи отторжения

хрящевых имплантатов, встречающиеся в небольшом количестве, обусловлены, преимущественно, несоблюдением техники выполнения операции [20].

В ходе многолетних наблюдений Е. С. Милюдина (1992) за 50 пациентами с анофтальмом установлено, что при использовании хрящевого имплантата при формировании орбитальной культи обеспечивается стабильный косметический и функциональный результат [65].

Несмотря на все положительные свойства хряща в качестве имплантата, имеются сообщения некоторых авторов о неудовлетворительных результатах применения гомохряща. Так, по мнению Р. А. Гундоровой и М. Г. Катаева (1987), хрящ с течением времени подвергается резорбции, наблюдается уменьшение объёма орбитальной культи, что снижает косметический и функциональный эффект операции [25].

И. А. Филатова и соавт. (2001) для формирования опорно-двигательной культи при энуклеации предлагают применять имплантаты, изготовленные из углеродных материалов: монолитного углерода, синтетической углеродной пены, «Карботекстима» (углеродного войлока), углеродного текстиля [99]. Данные небиологические материалы имеют пористую пространственную структуру, прорастают соединительной тканью и способны к биоинтеграции с окружающими орбитальными тканями. Углеродные материалы дают слабую воспалительную реакцию, и это позволяет использовать их в самых сложных клинических случаях – при орбитальной инфекции, одномоментном формировании орбитальной культи и пластике конъюнктивальной полости при ее деформации [38, 190], сопутствующей деформации стенок орбиты [99].

Углеродные композиты соответствуют биохимическим и технологическим требованиям, предъявляемым к имплантатам: отсутствие токсичности, канцерогенности и коррозионных явлений при контакте с живыми тканями, химическая совместимость, механическая прочность на изгиб, способность к костной и тканевой колонизации, благоприятной для биоинтеграции имплантата, способность стимулировать рост заместительных тканей или регенерацию основной, быстрая стерилизация любого вида [99].

По мнению И. А. Филатовой (2001), наиболее удачным из углеродных композитов является углеродный войлок «Карботекстим». Так, изучая в эксперименте реакцию тканей орбиты на имплантацию «Карботекстима», автор отметила наличие воспалительной реакции только на 1-й нед после операции. Через 1 мес после имплантации начинается постепенное замещение углеродного войлока соединительной тканью. Через 3–6 мес в имплантате преобладает процесс макрофагальной резорбтивной реакции, через 12 мес наблюдается выраженная фрагментация частиц углеродного войлока, а вокруг самого имплантата формируется соединительнотканная капсула с новообразованными сосудами. В результате вкладыш полностью замещается соединительной тканью, которая по своим размерам, объему и форме полностью повторяет первоначальный имплантат [99].

Вместе с тем, описаны отдельные случаи отторжения «Карботекстима» [6], а также формирования опорно-двигательной культы недостаточного объёма и формы в отдалённом послеоперационном периоде [41].

В 1985 г. А. Perry предложил использовать для формирования опорно-двигательной культы глаза имплантат из гидроксиапатита, который получают путем гидротермальной обработки арагонита – скелета морских рифообразующих кораллов *Porites* [185]. Коралловый имплантат представляет собой сферу диаметром 16–22 мм, имеет сообщающиеся поры диаметром 150–500 мкм, которые образуют лабиринтно-арочную сеть, напоминающую систему гаверсовых каналов компактной кости человека [44], что позволяет сосудам и соединительной ткани быстро прорасти на всю его толщину и формировать из него интегрированный имплантат [140, 158].

При морфологическом исследовании биоинтеграции гидроксиапатита выявлено, что имплантат в ранние сроки после операции прорастает молодой соединительной тканью по типу грануляционной, которая позже трансформируется в зрелую соединительную ткань. На ранних сроках формируется капсула с утолщениями вследствие механического раздражения окружающими тканями острыми краями имплантата. Со временем капсула

становится малососудистой, неотличимой от окружающих тканей. Гидроксиапатит имеет высокую биосовместимость с окружающими тканями благодаря морфологической интеграции с ними [152, 185, 197, 201].

В настоящее время гидроксиапатит успешно применяют при первичной, отсроченной и вторичной имплантации, а также в педиатрической практике, несмотря на довольно сложную технику его имплантации [109, 189]. Благодаря быстрой интеграции кораллового гидроксиапатита с окружающими тканями перестали встречаться такие распространенные в прошлом осложнения, как миграция и отторжение имплантата [157]. Также накоплен достаточно большой опыт применения гидроксиапатита при операциях, выполняемых по поводу внутриглазных новообразований [201]. Внедрение в клиническую практику гидроксиапатита на принципиально новом уровне возродило идею погружных имплантатов. Финальным хирургическим этапом лечения пациентов с анофтальмом является установка полиметилметакрилатной ножки, которая максимально полно передает движения культи глаза на косметический протез [69].

Французская фирма Issy Les Moulineaux разработала синтетический аналог природного гидроксиапатита (торговые марки «FCI Ophthalmics» и «Lifecore»), который имеет сходный химический состав, что и природный коралл, обладает достаточной пористостью, что также позволяет сосудам и соединительной ткани прорасти внутрь имплантата, механически прочен, поддается ручной обработке благодаря довольно гладкой его поверхности [199]. Важным фактором является стоимость синтетического коралла, которая в два раза ниже, чем у его природного аналога.

Однако серьёзными недостатками гидроксиапатитовых имплантатов являются: сложная техника имплантации, механическое раздражение с образованием микротравм и кровоизлияний после операции, высокая цена из-за сложности получения морского коралла (от 600 до 800 долларов США) [201]. Поэтому офтальмологи разных стран активно занимаются исследованиями, направленными на поиск и внедрение биологически и коммерчески пригодных синтетических пористых материалов [51].

Весьма перспективными биосовместимыми материалами для производства орбитальных имплантатов могут стать алюминаты (Al_2O_3), покрытые нанокристаллическим гидроксиапатитом, метафосфатом или октафосфатом кальция. Результаты первых клинических испытаний подобных материалов оказались вполне благоприятными [69, 126, 144, 149].

В последнее десятилетие появился конкурирующий с гидроксиапатитом имплантат – пористый полиэтилен, который обладает большой механической прочностью, гидрофобен, нерастворим в большинстве органических растворителей, щелочах и слабых кислотах. Кроме того, он лишён антигенных свойств, устойчив к инфекции, так как имеет большой отрицательный поверхностный заряд. При имплантации в орбитальные ткани пористый полиэтилен вызывает менее выраженное перифокальное воспаление, чем гидроксиапатит, и незначительное капсулообразование по сравнению с силиконом [138]. Полиэтилен обладает достаточно высокой пористостью (85% пор имеют диаметр свыше 150 мкм), что обеспечивает беспрепятственное врастание соединительной ткани в полимер и прочную его фиксацию в орбите [118, 133].

Согласно результатам экспериментальных исследований, прорастание пористого полиэтилена соединительной тканью при имплантации в орбитальную полость составляет не более 60% за 24–48 нед [162].

Choi J. C. и соавт. (1999) в эксперименте установили титановую «ножку» в имплантат из пористого полиэтилена через 2 мес после энуклеации. В течение 6 мес наблюдения не было отмечено ни одного осложнения, что, возможно, связано с небольшой (6 мм) глубиной канала для «ножки» в имплантате [171].

Имплантаты из пористого полиэтилена выпускаются американской фирмой «Porex», торговая марка «Medpor». В настоящее время они широко применяются при различных видах имплантации в орбитальную полость [131, 176, 211].

Пористый полиэтилен является серьёзным конкурентом коралловому гидроксиапатиту [197]. К несомненным его достоинствам относятся:

возможность ручной обработки, шовная фиксация мышц непосредственно к имплантату, относительная лёгкость имплантации (пористый полиэтилен имеет не столь шершавую поверхность, как гидроксиапатит), меньшая стоимость материала по сравнению с гидроксиапатитом [131].

Весьма перспективным материалом для орбитальной имплантации является пористый политетрафторэтилен. Благодаря своей большой молекулярной массе, отсутствию сложноэфирных связей и углеродных соединений материал устойчив ко всем известным видам биодеструкции [75].

В. А. Соколов и соавт. (2014) отметили, что физико-механические свойства пористого политетрафторэтилена позволяют легко моделировать имплантат с помощью скальпеля, фиксировать к нему глазодвигательные мышцы. Имплантат свободно помещается в орбиту за счёт относительно гладкой поверхности. Таким образом, он обладает очевидными преимуществами перед коралловым гидроксиапатитом и пористым полиэтиленом [75].

Ю. С. Астахов и В. П. Николаенко (2008) в эксперименте и клинике применяли имплантаты из пористого политетрафторэтилена после энуклеации глазного яблока и отметили их высокую биологическую совместимость с тканями глаза и прочную фиксацию в орбитальной полости [69].

Д. В. Григорьев и соавт. (2011, 2012) также отмечали безопасность и эффективность применения пористого политетрафторэтилена в качестве имплантата для формирования опорно-двигательной культы глаза при задней эквисцерации [21, 42].

В России уже на протяжении 20 лет имплантаты из пористого политетрафторэтилена выпускает Санкт-Петербургский научно-производственный комплекс «Экофлон».

В. Н. Сердюк, С. И. Волок (2014) применяли интраорбитальный вкладыш «Экофлон» при задней эквисцерации у больных с посттравматической субатрофией глазного яблока. В ходе клинических исследований отмечена лёгкость имплантации, несмотря на значительно уменьшенные размеры глазного яблока. В послеоперационном периоде не выявлено миграции, обнажения и

отторжения имплантата, при этом подвижность опорно-двигательной культи практически соответствовала здоровому глазу [87].

Таким образом, в настоящее время существует множество различных материалов для орбитальной имплантации, однако большинство из них не удовлетворяют жестким биохимическим и технологическим требованиям, предъявляемым к имплантатам, что значительно усложняет выбор оптимального имплантата при создании орбитальной культи. Сегодня аутокани практически не используются офтальмохирургами, так как методы их забора представляют определённую сложность. Применение материалов с хорошими функциональными и косметическими результатами ограничивает их высокая стоимость. Поэтому поиск новых биологически совместимых синтетических пористых материалов является чрезвычайно важной медицинской и социально-экономической задачей.

1.3 Осложнения орбитальной имплантации и методы их лечения

Обнажение орбитального имплантата – одно из самых серьёзных и частых осложнений при формировании опорно-двигательной культи. По данным ряда авторов, частота обнажения орбитальных имплантатов варьирует от 4 до 38% случаев [6, 98, 136, 159, 165, 167, 174].

Основными причинами обнажения и отторжения имплантатов являются: расхождение швов конъюнктивы, погрешности хирургической техники, рубцовая деформация конъюнктивальной полости и век, большой размер имплантата, отсутствие прорастания соединительной ткани в имплантат [174]. Факторами риска для обнажения пористых имплантатов в 20% случаев являются синтетическое покрытие орбитальных имплантатов, развитие воспалительной реакции конъюнктивы, множественные операции в анамнезе [98, 206]. Для предотвращения развития указанных осложнений и укрепления орбитальной культи в настоящее время разработаны различные способы [49, 98, 121, 135, 145, 151, 166].

Описаны способы укрепления орбитальной культи при помощи свободных кожных лоскутов, лоскутов слизистой оболочки, апоневроза с височной зоны,

кожно-жирового лоскута, широкой фасции бедра, фасции прямой мышцы живота, лоскута мышцы Мюллера [98, 137, 169, 181, 183, 192, 214–216]. Также применяют донорскую склеру и твёрдую мозговую оболочку, аутосклеру, бычий перикард, амниотическую мембрану, ацеллюлярный дермальный аллотрансплантат «Alloderm», синтетические сетчатые материалы – викриловую сетку, нейлон, мерсилен, политетрафторэтилен [49, 64, 78, 98, 121, 130, 145, 151, 160, 216].

Вместе с тем, применение указанных способов укрепления орбитальной культи имеет и ряд недостатков: покрытие имплантата тем или иным материалом препятствует васкуляризации; возможно быстрое рассасывание покрытия имплантата без формирования зрелой соединительной ткани, обеспечивающей его стабильность; увеличение времени проведения операции; риск инфицирования пациента [1, 98, 114].

S. Kamal с соавт. (2014) в раннем послеоперационном периоде при расхождении швов и некрозе конъюнктивы над поверхностью имплантата рекомендуют инстилляцию аутологической сыворотки. Авторы сообщают о полном заживлении раны через 2 нед после начала лечения, что устраняет необходимость повторного оперативного вмешательства [161].

И. А. Филатова и соавт. (2008) для укрепления орбитальной культи и снижения риска обнажения имплантата используют полиэфирное полотно, пропитанное доксициклином и панаксолом. При этом в отдалённые сроки наблюдения они не обнаружили развития осложнений ни в одном случае [98].

Cui H. G. и Li H. Y. (2007) изучали перспективы применения фактора роста фибробластов (FGF) при лечении обнажения орбитальных имплантатов [131]. Данное биологически активное вещество индуцирует неоваскуляризацию, ускоряет миграцию и пролиферацию эпителиальных клеток конъюнктивы в пористых имплантатах при местном применении. Однако такой способ эффективен лишь при небольших (размером менее 5 мм) дефектах конъюнктивы. При больших по площади обнажениях имплантата необходима комбинация с хирургическим вмешательством [135, 147].

Недостаточная эффективность существующих методов орбитальной имплантации и способов укрепления орбитальной культи, неудовлетворительная косметическая реабилитация пациентов, риск развития осложнений, а в ряде случаев и высокая стоимость имплантата обуславливают поиск и разработку нового эффективного способа укрепления орбитальной культи, обеспечивающего оптимальную медико-социальную реабилитацию пациентов данной категории.

1.4 Биосовместимый пористый сплав из никелида титана – перспективный имплантационный материал в офтальмохирургии

Имплантационные материалы должны обладать высокой биосовместимостью, способностью стимулировать репаративные процессы, возможностью длительного пребывания в организме, минимальными изменениями окружающих тканей.

С 1980 г. в России в клинической медицине эффективно применяются сверхэластичные сплавы на основе никелида титана, которые при температуре тела проявляют свойства, близкие к свойствам тканей организма [5, 27]. После имплантации в организм конструкция из никелида титана в соответствии с закономерностями эластичного поведения тканей организма изменяет форму, благодаря чему создается гармоничное функционирование всей системы по типу «ткань–имплантат» (Рисунок 1).

Сплавы на основе никелида титана активно изучаются д-ром техн. наук, профессором В. Э. Гюнтером на базе НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы при Сибирском физико-техническом институте (СФТИ) им. акад. В.Д. Кузнецова Национального исследовательского Томского государственного университета (ТГУ). В. Э. Гюнтер проводит фундаментальные и прикладные исследования в области создания длительно функционирующих в организме материалов и имплантируемых конструкций, близких по свойствам к живым тканям организма, а также экспериментальные исследования в области разработки новых медицинских технологий с использованием имплантатов с памятью формы для различных областей медицины [28].

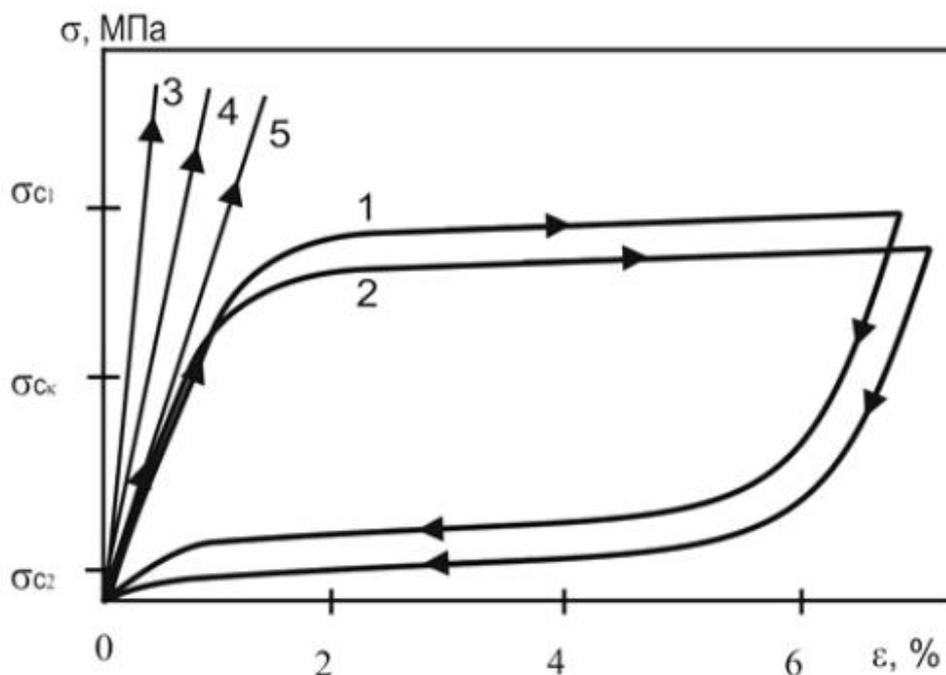


Рисунок 1 – Деформационная зависимость (σ – ϵ) различных материалов и биологических тканей: биологическая ткань (1), сплав ТН-10 (2), нержавеющая сталь (3), титан (4), тантал (5) (Чойнзонов Е. Л.и др., 2013).

При подробном изучении фармакодинамических и противомикробных свойств никелида титана, его коррозионной стойкости, особенностей дезинфекции, стерилизации, канцерогенности и токсикологии, выявлено полное соответствие данного сплава медико-техническим требованиям для применения в качестве имплантационного материала [43, 173].

Коррозионные свойства имплантата являются важнейшим показателем биохимической совместимости [28, 43]. Наличие на поверхности имплантатов из никелида титана оксидной пленки, которая защищает переход ионов через межфазную поверхность, обеспечивает высокую устойчивость сплавов к коррозии в различных средах организма. В то время как многие материалы, содержащие титан, подвергаются коррозии после деформации в пределах 0,3–0,5%, сплав из никелида титана выдерживает деформацию от 4 до 8% без разрушения оксидной пленки [27, 29].

Имплантаты из никелида титана характеризуются прочностью и пластичностью, обладают уникальной биохимической и биомеханической

совместимостью с тканями организма, способны длительное время функционировать в организме без развития реакции отторжения, не обладают отрицательным влиянием на ткани организма и не деградирует от их воздействия, надёжно фиксируются в организме за счёт прорастания соединительной ткани в поровом пространстве никелида титана.

Сплавы устойчивы к дезинфекции и стерилизации в различных режимах, соответствуя стандартам Министерства здравоохранения РФ [28].

В экспериментах *in vivo* убедительно доказано отсутствие у изготовленных в «НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы» сплавов из никелида титана канцерогенного действия [28].

В настоящее время сплавы из никелида титана широко применяются в различных областях медицины – стоматологии, травматологии, торако-абдоминальной и сердечно-сосудистой хирургии, онкологии, челюстно-лицевой хирургии [28, 43]. В эндососудистой хирургии используют стенты из никелида титана. В травматологии никелид титана применяют для реконструкции дефектов костных тканей, имплантат способствует регенеративным процессам в восстанавливаемой ткани [28]. В стоматологии никелид титана используют для протезирования, в ортодонтическом лечении при различных деформациях. Кроме того, из никелида титана производят различный медицинский инструментарий.

Актуальное применение никелида титана – это клеточная и тканевая инженерия [40]. Никелид титана используют как матрикс для клеток, которые, прикрепляясь к имплантату, запускают процессы пролиферации и дифференцировки тканей [81, 125]. В перспективе планируют использовать так называемые биоматрикс для регенерации поврежденных опухолями и другими этиологиями тканей желез и печени, для изготовления биоимплантатов кровеносных сосудов и воздухоносных путей, закрытия дефектов мягких и костных тканей [73].

Перспективным направлением применения имплантатов из никелида титана является офтальмохирургия [5]. В офтальмологической практике активно

применяются кератопротезы и интраокулярные линзы, опорные элементы которых выполнены из никелида титана. Дренажи из данного сплава используются в хирургии рефрактерных видов глаукомы [112]. Описаны методы реконструкции стенок орбиты с помощью имплантатов из никелида титана [95]. При травматических переломах орбиты используется сетчатый никелид титана, который, благодаря своему строению, прорастает соединительной тканью, что обеспечивает его надёжную фиксацию [95].

Ю. А. Медведев с соавт. (1942) впервые в мире разработал имплантат из пористого никелида титана для формирования орбитальной культуры. Имплантат был выполнен в виде полушара, на сферической и плоской сторонах которого сделаны пазы, развернутые под углом 45° . Вдоль оси имплантата выполнены сквозные отверстия. В ходе энвисцероэнуклеации охлаждённый имплантат помещали в склеральную полость. Благодаря эффекту «памяти формы» имплантат в ране вследствие изменения температуры принимал изначально заданную форму и надёжно фиксировался, плотно прилегая к склере [60]. Но данный вид имплантата не получил широкого распространения в офтальмохирургии.

Для лечения отслоек сетчатки с гигантскими разрывами и отрывами, осложнённых пролиферативной витреоретинопатией, был разработан способ интраокулярной фиксации ретинальной ткани с помощью эндоциркулярной нити из никелида титана [5]. Применение этого способа обеспечивает щадящую и герметичную компрессию сетчатки, улучшая анатомические и функциональные результаты оперативного вмешательства.

Таким образом, применение никелида титана в качестве материала для орбитальной имплантации для профилактики и лечения анофтальмического синдрома является весьма перспективным.

1.5 Клеточные технологии – перспективное направление в офтальмологии

Федеральный закон от 23 июня 2016 г. №180 «О биомедицинских клеточных продуктах» позволяет использовать клеточные технологии и

препараты на основе клеток человека в России – мультипотентные мезенхимальные клетки жировой ткани и костного мозга, дендритно-клеточные вакцины, аутологичные и аллогенные фибробласты, кардиомиобласты, клетки из пуповины и плаценты человека [72].

Глаз, как объект для использования клеточных технологий, имеет иммунную привилегированность перед другими органами, так как иммунный ответ в тканях глаза снижен благодаря механизмам иммунологической толерантности, это позволяет применять в клеточной терапии не только аутологичные, но и аллогенные клетки, которые длительно выживают в организме реципиента без иммунного отторжения [90, 205].

В последние годы в нашей стране проводится большое число исследований в сфере регенеративной медицины и клеточных технологий. Клеточные технологии применяют в кардиологии при ишемии миокарда, для восстановления очагов некроза, восстановления кожных покровов при ожогах, восстановления хрящевой ткани при травмах [72, 74].

Ведутся активные исследования использования клеточных технологий при заболеваниях роговицы. При дегенеративных заболеваниях глаз, глаукомной оптической нейропатии, при эрозиях и язвах роговицы активно исследуются лимбальные клетки, залегающие в полисаде Фогта в лимбальной зоне. Считается, что они имеют сходство с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками, и при пересадке благодаря выделению различных цитокинов и ростовых факторов обладают регенеративными свойствами [33, 48, 94].

Также офтальмологов давно интересует проблема пролиферации клеток эндотелия. Впервые этой проблемой занялись D. Gospodarowicz с соавт. (1977), которые изучали влияние факторов роста на пролиферацию эндотелия в роговице крупного рогатого скота *in vitro* [204].

Основной сложностью при пересадке эндотелиальных клеток является их фиксация к десцеметовой мембране, так как они смываются влагой передней камеры при их трансплантации. В 2012 г. японские учёные выявили, что

ROCK Y-27632 (ингибитор Rho-ассоциированной протеинкиназы) способствует переходу эндотелиальных клеток в фенотип с быстрой адгезией к задней поверхности роговицы. Это создаёт хороший эндотелиальный слой и прозрачность роговицы *in vivo* [194]. Австралийские исследователи пытаются создать тканеинженерный аналог десцеметовой мембраны, используя фиброин шелкопряда (*Bombyx mori*) толщиной 5 мкм, с пластом эндотелиальных клеток на его поверхности [148].

В офтальмологии в сфере клеточных технологий идёт активное изучение трансплантации клеток пигментного эпителия сетчатки, полученных из эмбриональных стволовых клеток, а также из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. В 2012 г. учёные из США провели два клинических исследования по субретинальной трансплантации клеток пигментного эпителия сетчатки, полученных из эмбриональных стволовых клеток, пациентам с сухой формой макулярной дегенерации. На доклиническом этапе была произведена пересадка клеток пигментного эпителия сетчатки крысам, выявлена интеграция клеток в сетчатку, повышение остроты зрения и доказана безопасность метода. У пациентов не наблюдалось признаков гиперпролиферации, онкогенности, отторжения трансплантата в течение 4 мес после операции. Зрительные функции не улучшились, но и не ухудшились [142].

Японские исследователи в 2017 г. провели аутологическую трансплантацию клеток пигментного эпителия сетчатки, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, которые были дифференцированы из фибробластов кожи. Была проведена операция одному пациенту с неоваскулярной возрастной дегенерацией макулы, включавшая удаление неоваскулярной мембраны и трансплантацию клеточного листа пигментного эпителия под сетчатку. Через 1 год после операции трансплантированный лист оставался нетронутым, никаких серьёзных побочных эффектов не наблюдалось, зрение не улучшилось, но и не ухудшилось [168].

Таким образом, использование клеточных технологий и дальнейшие исследования в этой области имеют неограниченный потенциал для учёных.

1.6 Тканевые реакции на имплантат из никелида титана

Высокий уровень биомеханической совместимости никелида титана предполагает максимальную близость его физико-механических свойств к свойствам тканей организма, с которыми он функционально взаимодействует. Никелид титана способен полностью восстанавливаться после больших деформаций (до 10–12%). Это делает данный сплав наиболее подходящим и оптимальным материалом для инженерно-медицинских конструкций.

Коррозионные свойства имплантата являются важнейшими показателями биохимической совместимости. Никелид титана имеет защитную оксидную плёнку TiO_2 , толщиной 10 мкм, которая защищает переход ионов через межфазную поверхность и обуславливает его высокую коррозионную стойкость в биологических средах. После имплантации никелида титана в организм на поверхности оксидной плёнки адсорбируется кальций и фосфор, что приводит к образованию фосфатной плёнки, близкой по составу к апатиту. Такая защита в биологических средах ставит никелид титана в особое привилегированное положение. В связи с перечисленными выше свойствами никелида титана, многие исследователи активно изучают его морфологические особенности, а также особенности интеграции с окружающими тканями при имплантации материалов из никелида титана.

Г. Ц. Дамбаев и соавт. (2012) в эксперименте на собаках исследовали регенерат, сформировавшийся после пластического замещения пострезекционного дефекта перикарда, диафрагмы и грудной стенки сетчатым имплантатом из никелида титана. Они установили, что новообразованная ткань прорастает сквозь имплантат, формируя регенерат, восстанавливая анатомо-физиологическое строение повреждённой области. Нарушения работы органов не обнаружено. При сканирующей электронной микроскопии было установлено, что образование соединительной ткани начиналось на поверхности нити и в местах её переплетений, а заполнение имплантата соединительной тканью происходило от периферии ячеек к центру [79].

А. Н. Стеблюк и Г. М. Могильная (2012) в эксперименте на кроликах исследовали возможность использования никелида титана в качестве дренажа при рефрактерных глаукомах. Они изучали морфологические изменения в тканях глаза (роговице, склере и прилегающих тканях) при имплантации. Учёные выявили, что на ранних сроках эксперимента (7 дней) развивается умеренная воспалительная реакция с переходом в стадию формирования грануляционной ткани. Через 1 мес вокруг имплантата сформировалась капсула, в грануляционной ткани появились группы коллагеновых волокон и фибробласты. Наиболее активный процесс фибриллогенеза с вращением волокон в зону имплантации происходит на 45-е сутки после операции [93].

Д. Н. Корнилов и соавт. (2014) в эксперименте на крысах изучали особенности формирования рубца при использовании шовного материала из никелида титана при повреждении сухожилия. Заживление послеоперационных ран протекало без осложнений. Через 3 суток отмечалась минимальная воспалительная реакция с преимуществом мононуклеаров. На 7-е сутки вокруг нити была сформирована капсула из молодой соединительной ткани с фибробластами. На 14-е сутки нить из никелида титана окружала плотная соединительная ткань с компактно расположенными коллагеновыми волокнами. Таким образом, в короткие сроки вокруг никелида титана сформировалась фиброзная капсула, интегрированная с сухожилием [81].

Г. Ф. Петлин и соавт. (2015) в эксперименте на кроликах изучали процессы морфогенеза в месте имплантации сетчатого протеза из никелида титана после эзофагокардиопексии. Они обнаружили, что на 7-е сутки после операции отмечались лимфомоноцитарная инфильтрация, разрастание грануляционной ткани, богатой новообразованными сосудами и хаотично расположенными тонкими коллагеновыми волокнами вокруг имплантата. К 14-м суткам протез сформировал единый регенерат с соединительной тканью. На 45-е сутки вокруг никелида титана наблюдалось разрастание соединительной ткани с преобладанием волокнистого компонента над клеточным, что указывало на созревание соединительной ткани. Таким образом, имплантат показал высокую биосовместимость и низкий риск осложнений [68].

С. В. Надеждин и соавт. (2016) исследовали способность имплантата из никелида титана стимулировать репаративный процесс в эксперименте *in vivo*. В ходе эксперимента не было обнаружено признаков воспалительной реакции. К 14-м суткам имплантат был покрыт фиброзной грубоволокнистой соединительной тканью. В местах контакта с никелидом титана отсутствовали признаки деструкции и некроза тканей [73].

Ю. М. Ирьянов и соавт. (2017) изучали в эксперименте *in vivo* морфологические особенности репаративного остеогенеза при имплантации в полостной дефект метафиза бедренной кости сетчатых конструкций из никелида титана. Исследователи установили, что имплантат обладал выраженными остеопластическими свойствами. Микропористая поверхность никелида титана обеспечивала адгезию остеобластов, остеоинтеграцию и адсорбцию эндогенных костных морфогенетических белков. Отсутствовала биологическая реакция отторжения на имплантат [56].

Б. Р. Башкуев и соавт. (2017) в эксперименте *in vivo* изучали преимущества формирования толстокишечных анастомозов с использованием конструкции из никелида титана в сравнении с традиционным способом анастомозирования. Они обнаружили, что в тканях с анастомозом из никелида титана признаки воспаления были минимальными, признаки дистрофии отсутствовали. Процессы заживления слизистой оболочки происходили быстрее, чем в группе сравнения, рубцового стеноза не наблюдалось [111].

Т. В. Черепанова (2019) в эксперименте на кроликах изучала возможность интраперитонеального метода расположения имплантата из никелида титана, модифицированного аутосоединительной тканью, в искусственно созданных дефектах передней брюшной стенки. В результате исследования спаечного процесса не наблюдалось. В ранние сроки регистрировалось неспецифическое воспаление, которое постепенно стихало. К 42-м суткам количество коллагеновых волокон преобладало над фибробластами, к 56-м суткам регенерат был похож на апоневроз. В результате имплантат из никелида титана с аутосоединительной тканью помог восстановить мышечные структуры [105].

Таким образом, применение имплантатов и шовных материалов на основе никелида титана показывает его высокую биосовместимость, способность стимулировать репаративные процессы, возможность длительного пребывания в организме с минимальными изменениями окружающих тканей, отсутствие осложнений в виде отторжения, инфицирования материала. Пористый никелид титана надежно фиксируется в тканях за счет прорастания соединительной ткани в поровом пространстве материала, а также он может служить матриксом для клеточной суспензии в тканеинженерной конструкции.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект и методы экспериментальных исследований

Представленная научно-исследовательская работа выполнена на базе ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск) после утверждения протокола исследования локальным этическим комитетом вуза (регистрационный № 7794 от 27.05.2019).

Выполнена серия экспериментов на 54 половозрелых крысах-самцах линии Wistar (54 глаза) массой тела 200–250 г, полученных из вивария ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Перед экспериментом всех животных выдерживали на протяжении недельного карантинного срока в условиях вивария на обычном пищевом рационе.

В условиях операционной с соблюдением правил асептики и антисептики под общим эфирным наркозом всем животным проводилась эвисцероэнуклеация (удаление роговицы и содержимого одного из глазных яблок) с последующим помещением орбитального имплантата в склеральную полость для формирования опорно-двигательной культи глаза.

В зависимости от вида используемого в ходе операции имплантата экспериментальные животные были разделены на три группы.

Животным 1-й группы (18 крыс, 18 глаз) после эвисцероэнуклеации одного из глаз формировали опорно-двигательную культи глазного яблока путём имплантации в склеральный мешок тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови.

Во 2-й группе животным (18 крыс, 18 глаз) после эвисцероэнуклеации одного из глаз формировали опорно-двигательную культи глазного яблока путём помещения в склеральный мешок имплантата из никелида титана.

Животным 3-й группы (18 крыс, 18 глаз) после эвисцероэнуклеации одного из глаз формировали опорно-двигательную культи глазного яблока с помощью биоматериала из подкожно-жировой клетчатки подошвы человека.

Орбитальный имплантат из никелида титана (Рисунок 2) изготавливался на базе НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы при СФТИ им. акад. В.Д. Кузнецова НИ ТГУ (г. Томск) из нити пористого никелида титана марки ТН-10 толщиной 100 мкм (сертификат соответствия № РОСС RU. АЯ79Н14192 от 12.04.2011) [28] и имел округлую форму, диаметр 4–5 мм.



Рисунок 2 – Внешний вид внутриглазного имплантата из никелида титана

Имплантат из биоматериала изготавливался в ФГУ ВЦГиПХ (г. Уфа) из подкожно-жировой клетчатки подошвы человека и имел округлую форму диаметром 5 мм. Имплантат легко моделируется, обладает слабой иммуногенностью и устойчив к инфекциям [18].

Процедуру выделения аутологичных мононуклеарных клеток крови проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).

Мононуклеарные клетки из крови экспериментального животного выделяли методом фракционирования в градиенте плотности на разделяющем растворе фиколл-верографин (плотность 1,067–1,077 г/мл) [10]. Клеточную суспензию выделяли непосредственно перед операцией. Принцип метода

заключается в том, что нанесённые на эту смесь лейкоциты центрифугируют, и клетки, имеющие различную удельную плотность, разделяются. Мононуклеары крови остаются на поверхности градиента в виде «плотного облачка», а эритроциты и гранулоциты оседают на дно пробирки (Рисунок 3).

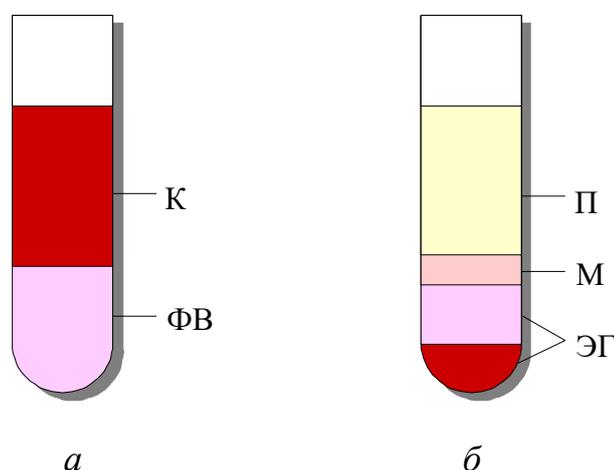


Рисунок 3 – Схема разделения гранулоцитов и мононуклеарных клеток крови на градиенте плотности: *а* – до центрифугирования; *б* – после центрифугирования. К – кровь; ФВ – смесь фиколл-верографина; П – плазма; М – интерфазный слой мононуклеарных клеток; ЭГ – осадок эритроцитов и гранулоцитов

Кровь, взятую в количестве 4,0 мл, помещали в стерильную пробирку, содержащую 1,0 мл раствора гепарина. Гепаринизированную кровь разводили в 2 раза изотоническим раствором хлорида натрия. Полученную суспензию наслаивали на 3,0 мл смеси фиколла-верографина (12 частей 9%-го фиколла и 5 частей 33,9%-го верографина с плотностью 1,067–1,077 г/мл). Соотношение объёмов градиента и разделяемой суспензии составляло 1 : 3 – 1 : 4.

Пробы центрифугировали при комнатной температуре в течение 15 мин при 2000 об./мин. После центрифугирования содержащий мононуклеарные клетки интерфазный слой располагался между плазмой и градиентом. Мононуклеарные клетки забирали пастеровской пипеткой, добавляли 1,0 мл изотонического раствора хлорида натрия, и полученную суспензию вновь центрифугировали в течение 7 мин при 1500 об./мин. В результате чистота мононуклеаров крови на градиенте фиколл-верографин составляла 96–98%.

Жизнеспособность клеточного материала оценивали в тесте с трипановым синим. Предварительно на основе раствора Рингера готовили 0,1%-й раствор эозина. Далее готовили 0,1%-й раствор трипанового синего на основе дистиллированной воды. К капле клеточной суспензии добавляли 1–2 капли свежей смеси растворов приготовленных красителей, взятых в равных объёмах. Полученную смесь помещали в камеру Горяева. При подсчёте клеток содержание окрашенных (погибших) элементов составляло 1,5–2,0%, что не превышало допустимое количество (3%).

В условиях операционной крысам всех трёх групп под эфирным наркозом обрабатывали по стандартной методике операционное поле одного из глазных яблок. Производили разрез конъюнктивы глаза по лимбу на 180° и отделяли глазное яблоко от теноновой капсулы. Затем выполняли разрез роговицы по лимбу на 180° с последующим полным удалением роговой оболочки и содержимого глазного яблока через сформированное отверстие. Далее пересекали зрительный нерв, осуществляли гемостаз. В склеральный мешок глазного яблока помещали соответствующий орбитальный имплантат.

Животным 1-й группы (18 крыс) в ходе оперативного вмешательства в склеральный мешок помещали имплантат из никелида титана, в структуру которого с помощью шприца вводили 0,1 мл свежевыделенной суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови (клеточная плотность 200 тыс. клеток/мл), которые выделяли описанным выше способом.

Животным 2-й группы (18 крыс) в ходе оперативного вмешательства в склеральный мешок помещали имплантат из никелида титана без суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови.

Животным 3-й группы (18 крыс) в ходе оперативного вмешательства в склеральный мешок помещали биоматериал из подкожно-жировой клетчатки подошвы человека.

Далее на склере с использованием синтетической нити 8/0 накладывали узловы́е швы, на тенонову оболочку накладывали кистный шов с использованием нити из кетгута, на конъюнктиву склеры – непрерывный шов с использованием нити из капрона.

В послеоперационном периоде всем животным в конъюнктивальную полость оперированного глаза закапывали раствор тобрамицина 6 раз в день.

Общая продолжительность эксперимента составила 21 сутки. Осмотр проводили на 1, 3, 7, 14, 21-й день после операции. В ходе эксперимента выполняли наружный осмотр, биомикроскопию оперированных глаз с оценкой состояния конъюнктивы век и опорно-двигательной культы глазного яблока, краёв операционной раны и швов, а также наличия и характера отделяемого в конъюнктивальной полости, фоторегистрацию.

На 7, 14 и 21-е сутки после операции из эксперимента выводили по 6 крыс из каждой группы с удалением опорно-двигательной культы оперированного глазного яблока. Выведение животных из эксперимента на всех этапах осуществляли с соблюдением требований «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1968) и Хельсинской декларации (2013).

2.2 Характеристика гистологических исследований

Гистологические исследования выполнены на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Материалом для гистологических исследований служили энуклеированные опорно-двигательные культы глазных яблок экспериментальных животных. Полученный в ходе эксперимента материал фиксировали для световой и электронной микроскопии.

2.2.1 Подготовка материала для световой микроскопии

Для подготовки материала к световой микроскопии энуклеированные глазные яблоки животных фиксировали в приготовленной непосредственно перед применением жидкости Карнуа, состоящей из 6 частей 96%-го спирта, 3 частей хлороформа и 1 части ледяной уксусной кислоты. Затем глазные яблоки препарировали, полученный материал дегидратировали в растворе для проводки

IsoPrep (БиоВитрум, Россия) 12 ч, заливали в парафиновую среду Histomix ((БиоБитрум, Россия).

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

Для приготовления парафиновых срезов использовали санный микротом (Микром, Россия). Разрез производили между нитями никелида титана. Толщина срезов составляла 5–6 мкм. Парафиновые срезы наклеивали в расплавленном положении на предварительно подготовленные предметные стекла. На тщательно очищенную поверхность предметного стекла стеклянной палочкой наносили каплю раствора белка с глицерином (1 : 1) и растирали до получения равномерного слоя.

Расплавление и наклеивание парафиновых срезов на предметные стекла осуществляли влажным способом. На стекло наносили несколько капель дистиллированной воды и получали плавающие срезы. Затем стекло подогревали над спиртовкой, что обеспечивало полное расплавление срезов. После этого удаляли излишнюю воду, предметные стекла со срезами перекладывали в термостат при температуре 37°C на 1–2 суток до полного высыхания.

2.2.2 Методы окрашивания препаратов

Окрашивание гематоксилином и эозином

Предварительная обработка парафиновых срезов заключалась в депарафинизации, для чего выполняли промывание толуолом в течение 10 минут. После этого срезы обрабатывали 96%-м спиртом (3–5 капель), затем предметные стекла с наклеенными срезами промывали в дистиллированной воде. Далее, после удаления излишков влаги вокруг срезов, на них с помощью пипетки наносили раствор гематоксилина (БиоВитрум, Россия) до полного покрытия препаратов. Спустя 10 минут красящий раствор с предметных стекол сливали

и помещали их в водопроводную воду на 30 минут для дифференцировки. После промывания удаляли излишнюю влагу с предметных стекол и наносили раствор эозина (БиоВитрум, Россия) с экспозицией 1–2 минуты. Затем краситель сливали, и срезы вновь обрабатывали 96%-м спиртом. Для просветления срезов предметные стекла помещали в толуол на 10 минут. После извлечения срезов из толуола, на них наносили каплю канадского бальзама и накрывали покровным стеклом.

Окрашивание пикрофуксином по методу Ван Гизона

При окрашивании препаратов по методу Ван Гизона использовали гематоксилин Вейгерта, который готовили непосредственно перед окрашиванием смешиванием равных объёмов основных растворов Вейгерта (первого и второго).

Для приготовления раствора пикрофуксина к 100 мл насыщенного водного раствора пикриновой кислоты прибавляли 5–10 мл 1%-го водного раствора кислого фуксина.

Из дистиллированной воды срезы переносили в гематоксилин Вейгерта на 2–5 минут, затем ополаскивали в дистиллированной воде и помещали в водопроводную воду на 10 минут. После срезы переносили в пикрофуксин на 1–2 минуты, споласкивали в дистиллированной воде и в течение 5 с проводили их через 96%-й спирт. Затем срезы просветляли в ксилоле 5–10 минут и заключали в канадский бальзам [37].

Микропрепараты просматривали в проходящем свете на микроскопе Axioskop 40 (Carl Zeiss, Германия) на малом (50-, 100- и 200-кратном) и большом (400-кратном) увеличении.

2.2.3 Подготовка материала для электронной микроскопии

Изучение ультраструктуры проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии [46, 219]. Ультратонкие срезы готовили по методике Б. Уикли [96].

Для этого взятый материал фиксировали в забуференном (рН 7,4) 2,5%-м растворе глутарового альдегида в течение 2 ч при температуре 40 °С. Далее дважды промывали какодилатным буфером (рН 7,4) по 10–15 минут, после чего постфиксировали в 1%-м растворе четырехокси осмия в течение 2 ч с последующим двукратным отмыванием какодилатным буфером (по 10–15 минут). Затем материал дегидратировали в этиловых спиртах восходящей концентрации. Дегидратированные препараты заключали в смесь смол эпон-аралдит [193].

Пропитка препаратов проводилась с использованием смеси смол и абсолютного ацетона. После этого препараты переносили в свежую смесь смол для полимеризации, которую проводили в течение 1,5–2 суток при температуре 60 °С.

Ультратонкие срезы толщиной 60–100 нм готовили на ультратоме Ultratome III (LKB, Швеция). Полученные срезы помещали на сетки-подложки с формваровой плёнкой-подложкой и контрастировали 2%-м раствором уранилацетата на 50%-м этаноле (10–20 минут при 37 °С) и цитратом свинца (от 3 до 10 минут при комнатной температуре) по E. Reynolds [193]. Просмотр и фотографирование препаратов осуществляли с помощью электронного микроскопа JEM-100 CXII (JEOL, Япония) с апертурной диафрагмой 25–30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ.

2.3 Морфометрический анализ

Для подсчёта различных структурных компонентов и клеточной плотности применяли световой микроскоп «ЛОМО Биолам АУ-12» (ок. $\times 7$, об. $\times 40$, $\times 90$, собственное увеличение микроскопа $\times 1,5$), окулярную сетку Автандилова на 50 точек, окулярную вставку с известной площадью.

Подсчёт удельных объёмов стромы и сосудов осуществляли при помощи окулярной сетки Автандилова на 50 точек (100%), для чего в 10 независимых полях зрения определяли количество точек, попадающих на строму и сосуды,

после этого вычисляли удельный объём (%) каждого компонента в отдельности.

Подсчёт клеточной плотности в 1 мм^2 осуществляли с использованием окулярной вставки известной площади. За 100% принимали сумму абсолютного количества всех подсчитанных клеток в 1 мм^2 и определяли долю (%) клеток каждого вида.

2.4 Методы статистической обработки

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 20. Нормальность распределения показателей проверяли при помощи закона Колмогорова–Смирнова. Анализ переменных, имеющих нормальное распределение, выполняли с помощью t-критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего. При несоответствии распределения данных нормальному закону распределения использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. В этом случае результаты представляли в виде $Me (Q1; Q3)$, где Me – медиана, $Q1$ и $Q3$ – квартили [54, 80]. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Закономерности формирования опорно-двигательной культы глазного яблока у крыс в зависимости от вида орбитального имплантата

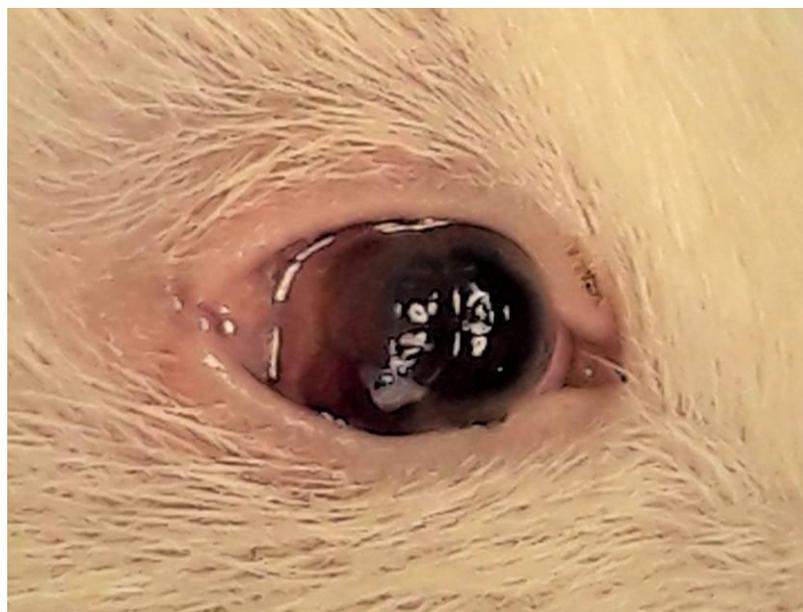
По данным наружного осмотра через 1 сутки после операции, у животных всех трёх групп (54 крысы, 54 глаза) отмечались умеренный отёк и гиперемия конъюнктивы век и опорно-двигательной культы оперированного глазного яблока. В конъюнктивальной полости оперированного глаза у всех крыс обнаруживалось скудное отделяемое слизистого характера. Симптомы воспаления постепенно уменьшались к 3–7-м суткам послеоперационного периода (Рисунки 4–9). Сформированная в ходе операции опорно-двигательная культа глазного яблока у всех экспериментальных животных (100%) имела округлую форму и была умеренно подвижна (Рисунки 10–12).



Рисунок 4 – Умеренный отёк и гиперемия конъюнктивы век и опорно-двигательной культы глазного яблока у животного 1-й группы на 3-и сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови



Рисунок 5 – Умеренный отёк и гиперемия конъюнктивы век и опорно-двигательной культи глазного яблока у животного 2-й группы на 3-и сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией никелида титана



Риснок 6 – Умеренный отёк и гиперемия конъюнктивы опорно-двигательной культи глазного яблока у животного 3-й группы на 3-и сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки

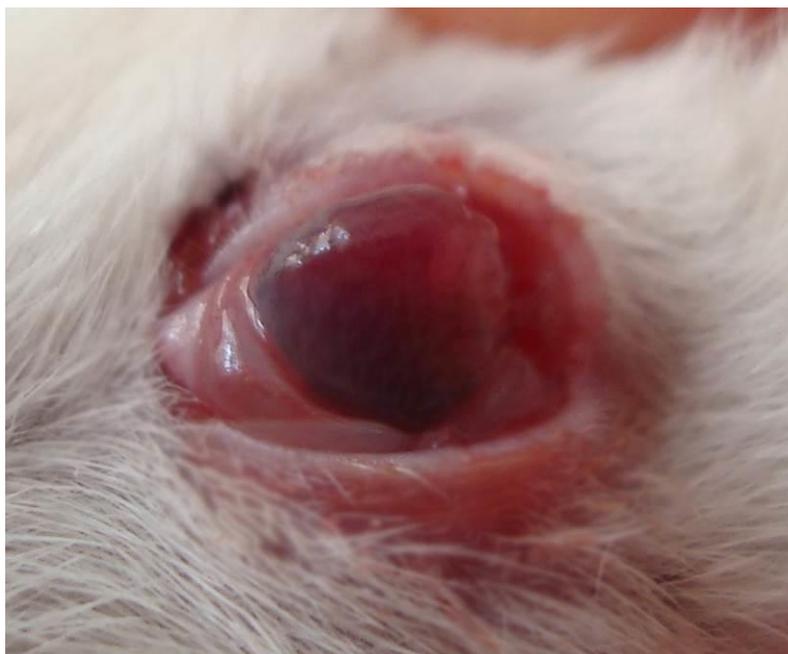


Рисунок 7 – Умеренный отёк и гиперемия конъюнктивы век и опорно-двигательной культы глазного яблока у животного 1-й группы на 7-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови



Рисунок 8 – Умеренный отёк и гиперемия конъюнктивы век и опорно-двигательной культы глазного яблока у животного 2-й группы на 7-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией никелида титана

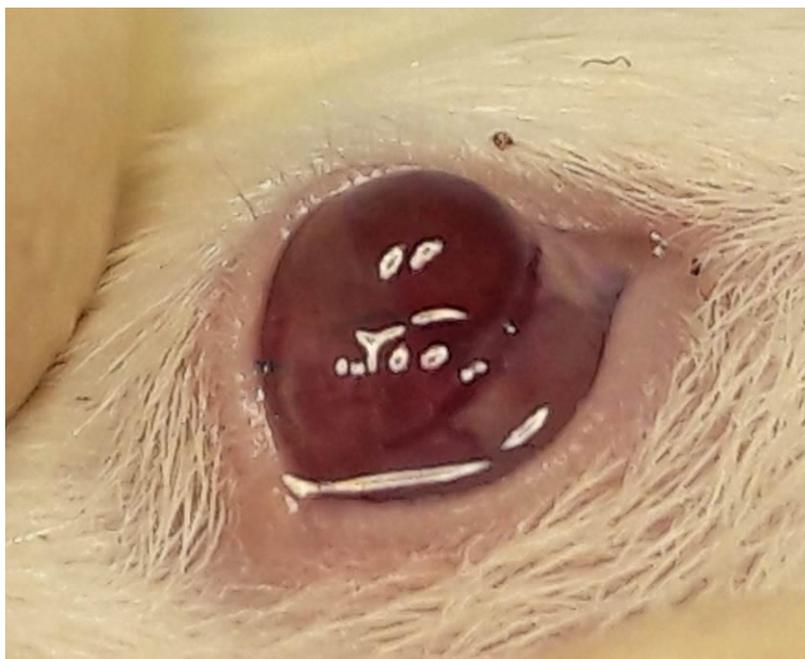


Рисунок 9 – Умеренный отёк и гиперемия конъюнктивы опорно-двигательной культы глазного яблока у животного 3-й группы на 7-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки



Рисунок 10 – Небольшая гиперемия конъюнктивы опорно-двигательной культы глазного яблока у животного 1-й группы на 14-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови



Рисунок 11 – Небольшая гиперемия конъюнктивы опорно-двигательной культы глазного яблока у животного 2-й группы на 14-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией никелида титана



Рисунок 12 – Небольшая гиперемия конъюнктивы опорно-двигательной культы глазного яблока у животного 3-й группы на 14-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки

По данным биомикроскопии опорно-двигательной культи оперированных глаз экспериментальных животных, края операционной раны в области швов были адаптированы у всех крыс (100%) на протяжении всего эксперимента. Начиная с 4–5-х суток после операции, отделяемого в конъюнктивальной полости оперированных глаз у крыс всех трёх групп не обнаруживалось.

На протяжении всего периода эксперимента (21 сутки) в ходе формирования опорно-двигательной культи глазного яблока у животных трёх групп не выявлено ни одного случая обнажения или отторжения орбитального имплантата, независимо от материала изготовления (Рисунки 13–15).

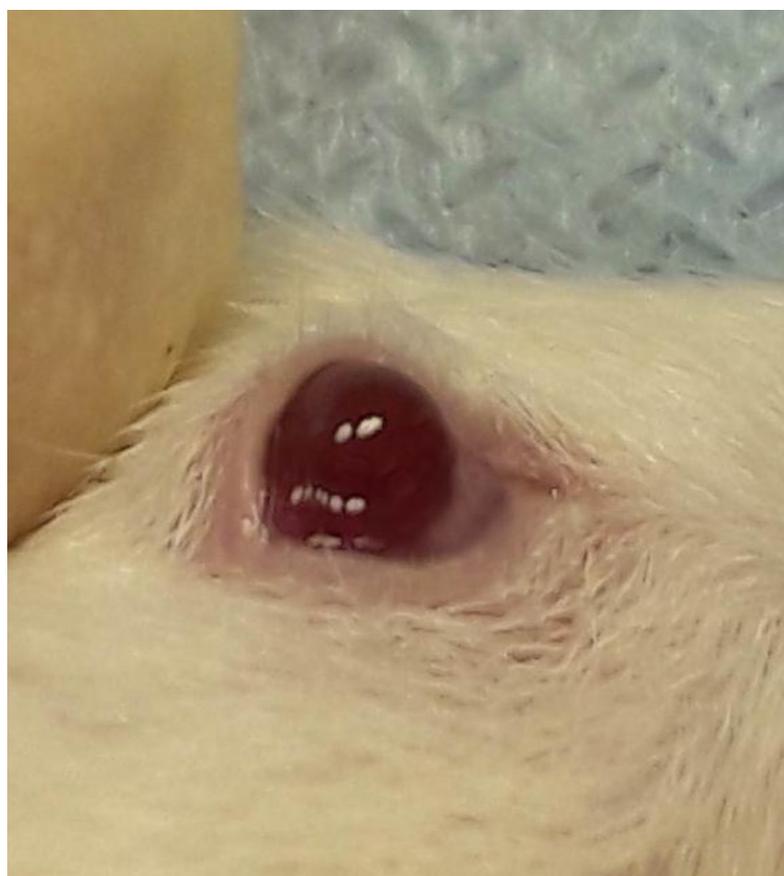


Рисунок 13 – Конъюнктивит и опорно-двигательной культи глазного яблока спокойная у животного 1-й группы на 21-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови



Рисунок 14 – Конъюнктивит век и опорно-двигательной культы глазного яблока спокойная у животного 2-й группы на 21-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией никелида титана



Рисунок 15 – Конъюнктивит век и опорно-двигательной культы глазного яблока спокойная у животного 3-й группы на 21-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки

На Рисунках 16–18 представлены макропрепараты энуклеированных опорно-двигательных культей глазного яблока животных трёх групп на 21-е сутки после операции.



Рисунок 16 – Энукелированная опорно-двигательная культя глазного яблока животного 1-й группы с имплантированной тканеинженерной конструкцией из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови на 21-е сутки после операции. Макропрепарат



Рисунок 17 – Энукелированная опорно-двигательная культя глазного яблока животного 2-й группы с имплантированной конструкцией из никелида титана на 21-е сутки после операции. Макропрепарат



Рисунок 18 – Энукелированная опорно-двигательная культя глазного яблока животного 3-й группы с имплантированным биоматериалом из подкожно-жировой клетчатки на 21-е сутки после операции. Макропрепарат

3.2 Результаты гистологических исследований

Согласно результатам световой микроскопии, у животных 1-й группы на 7-е сутки после эвисцероэнуклеации и имплантации в склеральный мешок глаза тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови в полости опорно-двигательной культи глазного яблока обнаруживались обширные скопления мононуклеаров крови (Рисунок 19), небольшое количество лимфоцитов и единичные полиморфно-ядерные лейкоциты. Вокруг имплантата из никелида титана выявлялись множественные очаговые скопления незрелых фибробластов. Тонкие коллагеновые волокна были умеренно отёчны, располагались хаотично. Между волокнами обнаруживались новообразованные капилляры с широким просветом (Рисунок 20).

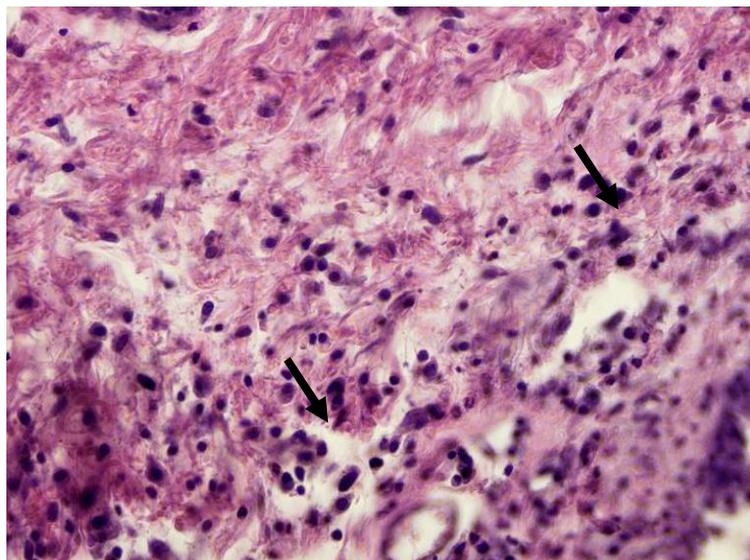


Рисунок 19 – Мононуклеарная инфильтрация (показана стрелками) в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 1-й группы на 7-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$



Рисунок 20 – Формирующаяся соединительная ткань и новообразованные сосуды (показаны стрелками) в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 1-й группы на 7-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 300$

Согласно результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 1-й группы на 7-е сутки после операции в ткани опорно-двигательной культи глазного яблока преобладали макрофаги и фибробласты. Макрофаги встречались с хорошо развитыми органеллами – гранулярная эндоплазматическая сеть (ЭПС) с расширенными просветами полостей, множественные микровезикулы, фаголизосомы и аутофагосомы (Рисунок 21).

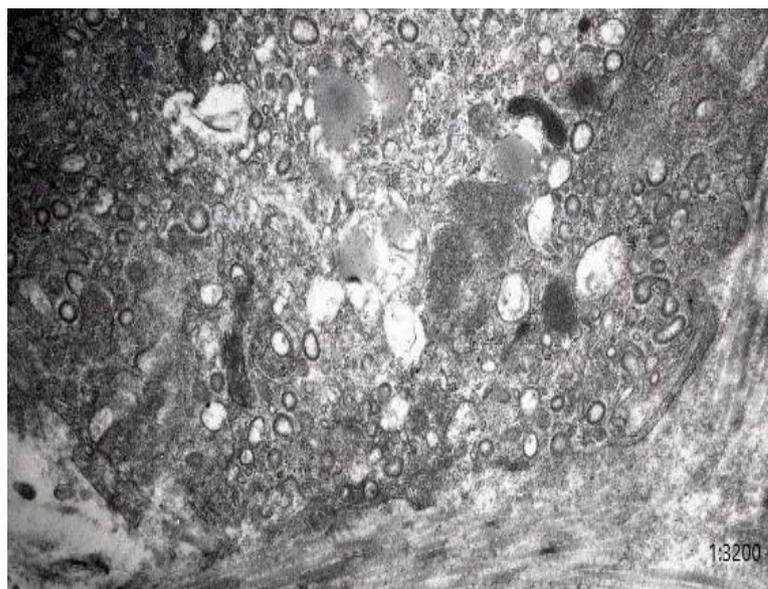


Рисунок 21 – Фрагмент макрофага. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 1-й группы на 7-е сутки после операции. Ув. $\times 3200$

В цитоплазме фибробластов обнаруживались хорошо развитые компоненты белок-синтетического аппарата, множество митохондрий с нормальной морфологией. В ядрах вытянутой формы преобладал эухроматин, кариолемма была без изменений, ядрышко не обнаруживалось (Рисунок 22).

Межклеточное вещество состояло, преимущественно, из пучков коллагеновых фибрилл с продольной направленностью (Рисунок 23).

В формирующейся ткани опорно-двигательной культи глазного яблока крыс 1-й группы эндотелиоциты встречались с разной электронной плотностью цитоплазмы. В цитозоле встречалось множество микропиноцитозных везикул и свободных полисом. Просвет капилляров был

заполнен эритроцитами. Между эндотелиальными клетками обнаруживался плотный контакт (Рисунки 24, 25).

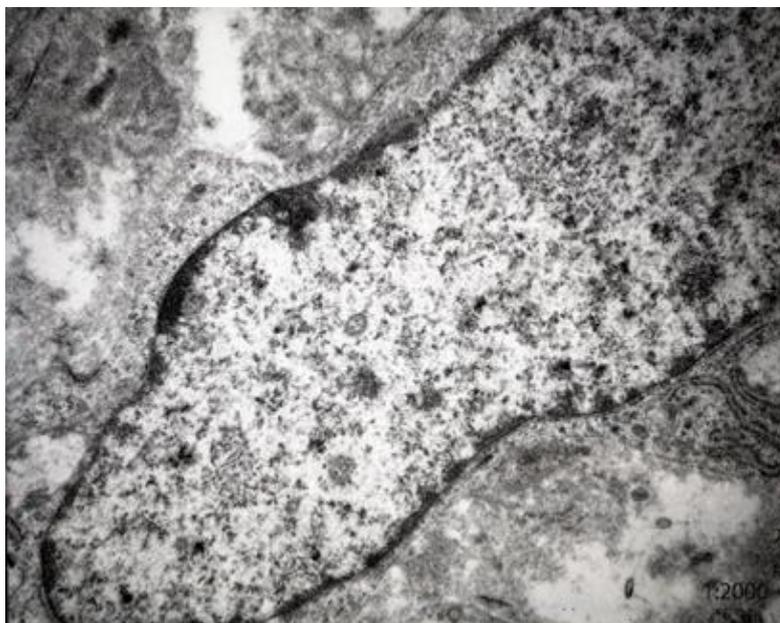


Рисунок 22 – Фрагмент фибробласта. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 1-й группы на 7-е сутки после операции. Ув. $\times 2000$

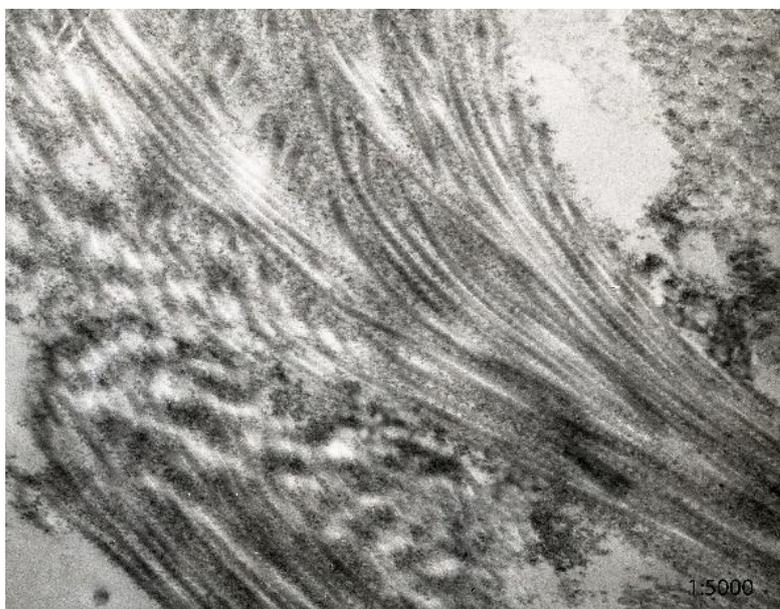


Рисунок 23 – Фрагмент межклеточного вещества. Пучки коллагеновых фибрилл. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 1-й группы на 7-е сутки после операции. Ув. $\times 5000$



Рисунок 24. Фрагмент стенки микрососуда. В просвете присутствует эритроцит. Видны 2 эндотелиоцита. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 1-й группы на 7-е сутки после операции. Ув. $\times 3200$



Рисунок 25 – Микрососуд с эритроцитами в просвете. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 1-й группы на 7-е сутки после операции. Ув. $\times 2400$

У животных 2-й группы на 7-е сутки после эвисцерознуклеации с имплантацией в склеральный мешок имплантата из никелида титана, по данным световой микроскопии, в полости опорно-двигательной культы глазного яблока обнаруживались умеренно выраженный отёк и мелкие кровоизлияния (Рисунок 26), а также диффузная равномерная лимфолейкоцитарная инфильтрация (Рисунки 27, 28) и небольшое количество фибробластов. Вокруг имплантата выявлялись отёчные рыхлые коллагеновые волокна и единичные новообразованные сосуды с щелевидным или округлым просветом. В просвете сосудов визуализировались единичные эритроциты (Рисунок 27).

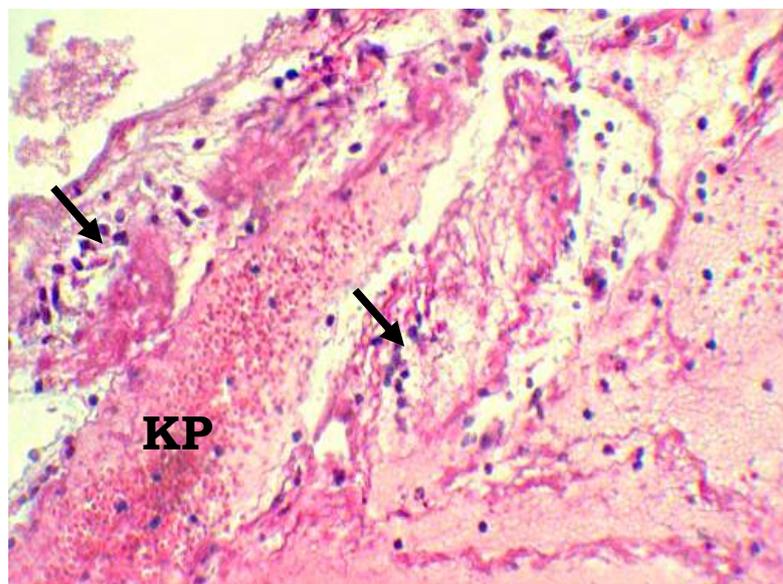


Рисунок 26 – Клеточная инфильтрация (показана стрелками) и кровоизлияния (KR) в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 2-й группы на 7-е сутки после эвисцерознуклеации с имплантацией никелида титана.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

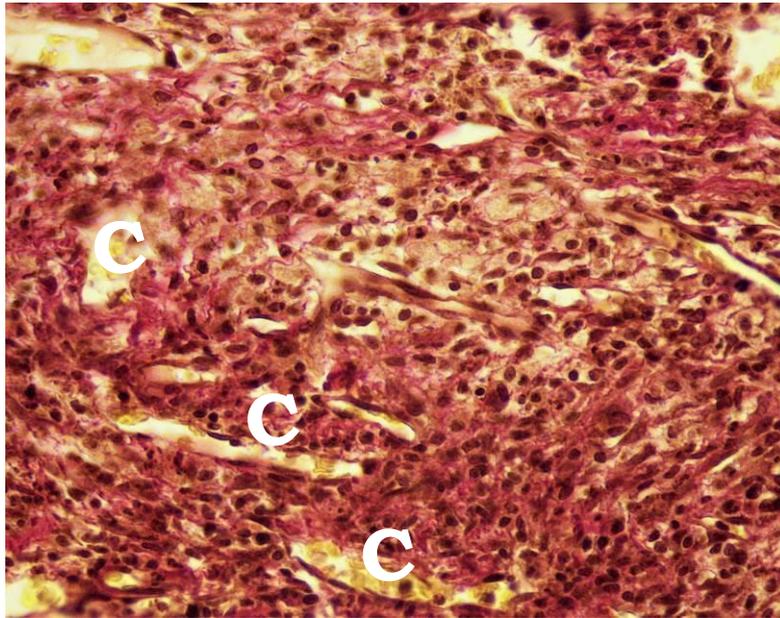


Рисунок 27 – Диффузная лимфо-лейкоцитарная инфильтрация и единичные новообразованные сосуды (С) в опорно-двигательной культуре глазного яблока крысы 2-й группы на 7-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по Ван Гизону. Ув. $\times 300$

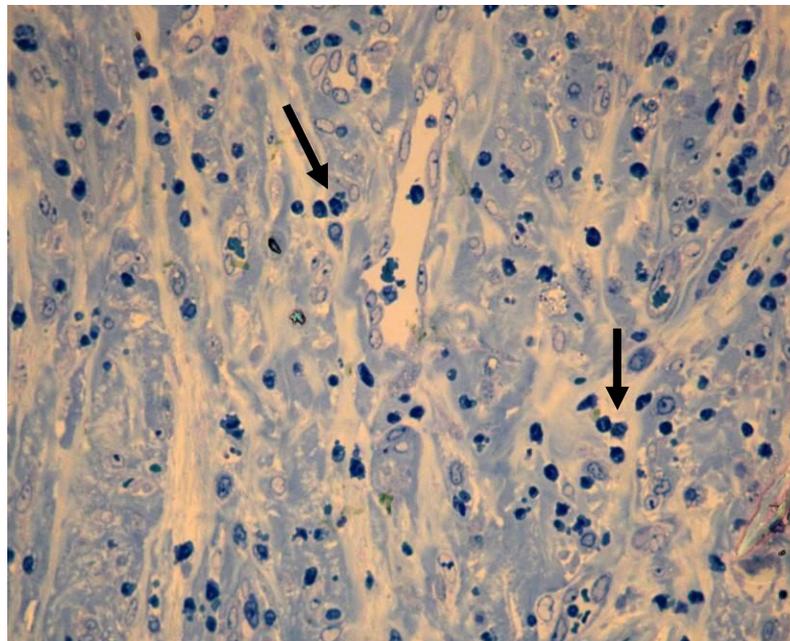


Рисунок 28 – Высокое содержание различных видов лейкоцитов (показано стрелками) в опорно-двигательной культуре глазного яблока крысы 2-й группы на 7-е сутки после операции. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим.

Ув. $\times 600$

Согласно результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 2-й группы с имплантацией в ходе эвисцероэнуклеации орбитального имплантата из никелида титана на 7-е сутки после операции среди клеток ткани опорно-двигательной культи глаза встречались макрофаги со светлой цитоплазмой, небольшим количеством мембранных органелл и микровезикул. Ядра макрофагов крупные, с преобладанием эухроматина. Также визуализировалось крупное, хорошо развитое ядрышко. В цитоплазме определялись единичные расширенные, округлой формы структуры гранулярной ЭПС (Рисунок 29).

В межклеточном веществе обнаруживалось небольшое количество тонких коллагеновых фибрилл, ориентированных в разных направлениях (Рисунок 30).

Капилляры в ткани опорно-двигательной культи глазного яблока были заполнены эритроцитами. Между эндотелиоцитами сосудистой стенки имелись зоны плотного контакта. Ядра эндотелиальных клеток имели типичное строение, внутриклеточные органеллы были хорошо развиты (Рисунки 29, 30).

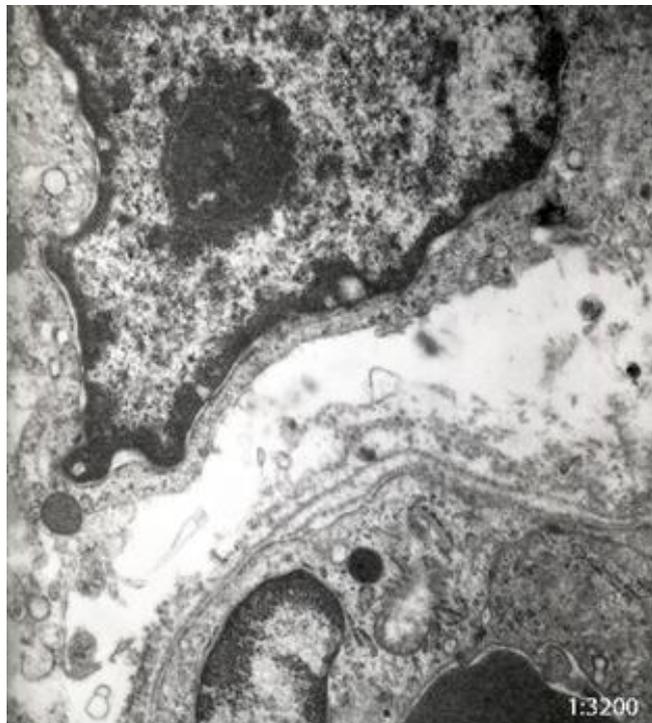


Рисунок 29 – Фрагменты капилляра и макрофага. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 2-й группы на 7-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией никелида титана. Ув. $\times 3200$

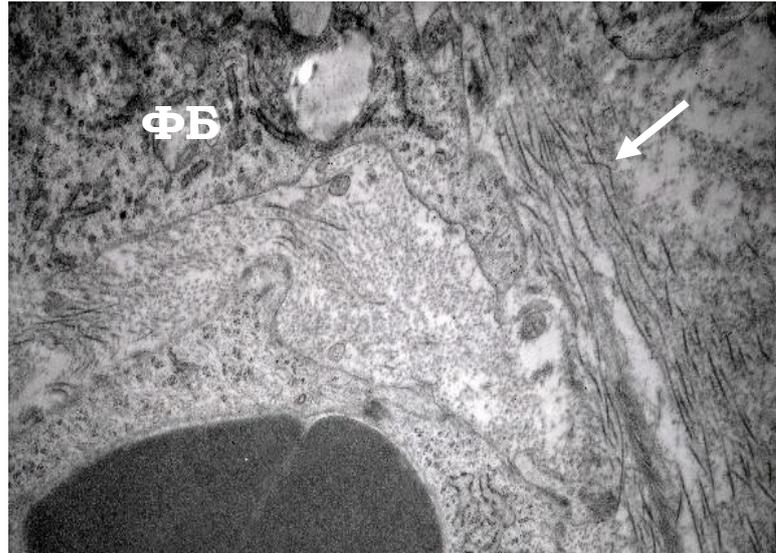


Рисунок 30 – Фрагмент капилляра. Просвет обтурирован эритроцитами. Вокруг капилляра межклеточное вещество с небольшим количеством тонких коллагеновых фибрилл (стрелка), фрагмент фибробласта (ФБ). Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 2-й группы на 7-е сутки после операции.

Ув. $\times 2000$

У животных 3-й группы на 7-е сутки после эвисцероэнуклеации и имплантации в склеральный мешок биоматериала из подкожно-жировой клетчатки, по данным световой микроскопии, полость опорно-двигательной культуры глазного яблока была заполнена жировой тканью, между дольками которой обнаруживались единичные мононуклеарные клетки, небольшое количество полиморфноядерных лейкоцитов, тонкие коллагеновые волокна (Рисунок 31) и единичные новообразованные сосуды.

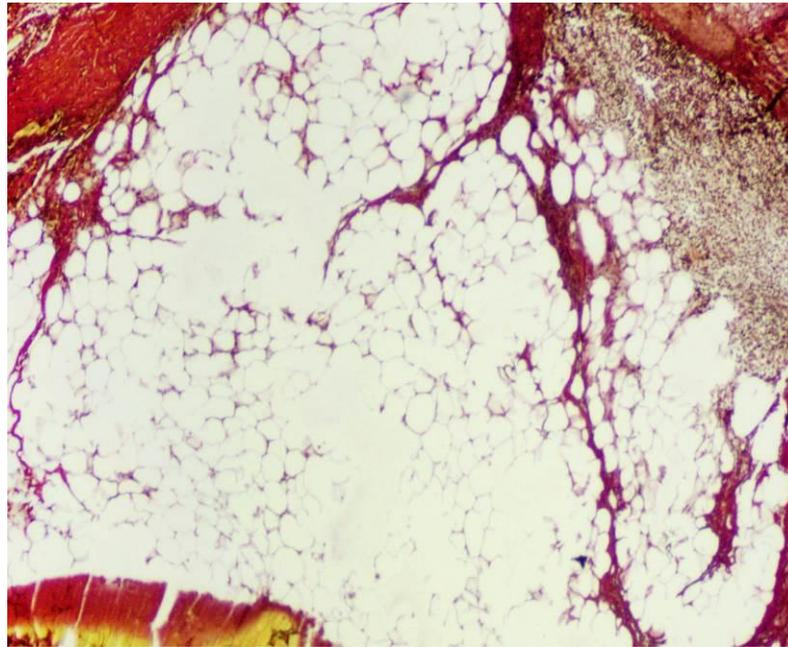


Рисунок 31 – Жировая ткань в опорно-двигательной культуре глазного яблока крысы 3-й группы на 7-е сутки после эвисцерознуклеации с имплантацией в склеральный мешок биоматериала из подкожно-жировой клетчатки.

Окраска пикрофуксином по Ван Гизону. Ув. $\times 400$

Согласно результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 3-й группы на 7-е сутки после эвисцерознуклеации с имплантацией в склеральный мешок биоматериала из подкожно-жировой клетчатки среди клеток в полости опорно-двигательной культуры глаза преобладали адипоциты с большим содержанием крупных липидных капель. Между адипоцитами встречались макрофагальные клетки с крупным ядром, содержащим крупно- и мелкоглыбчатый гетерохроматин, а также ядрышком с плохо различимым фибриллярным компонентом. В цитоплазме макрофагов обнаруживалось много везикулярных структур и крупных вакуолей с гетероморфным содержимым (Рисунок 32). Кроме того, в ткани опорно-двигательной культуры глаза присутствовали хаотично направленные пучки коллагеновых фибрилл (Рисунок 33), а также единичные микрососуды с эритроцитами в просвете. Эндотелиальные клетки стенок сосудов имели нормальное строение, в их цитоплазме обнаруживалось множество микровезикул (Рисунок 34).

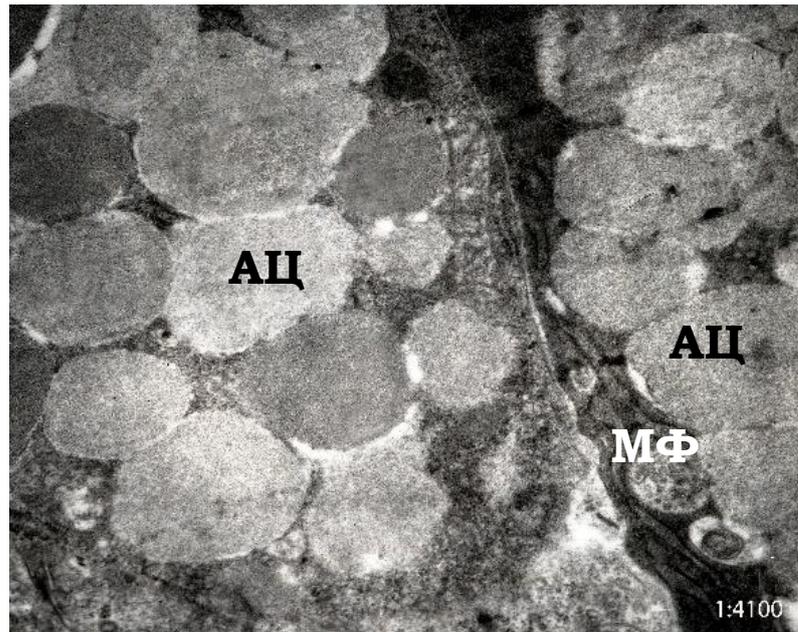


Рисунок 32 – Фрагменты адипоцитов (АЦ) с крупными липидными каплями, между которыми в виде узкой прослойки располагается фрагмент макрофага (МФ). Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 3-й группы на 7-е сутки после операции. Ув. $\times 4100$



Рисунок 33 – Пучки коллагеновых фибрилл. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 3-й группы на 7-е сутки после операции. Ув. $\times 4000$

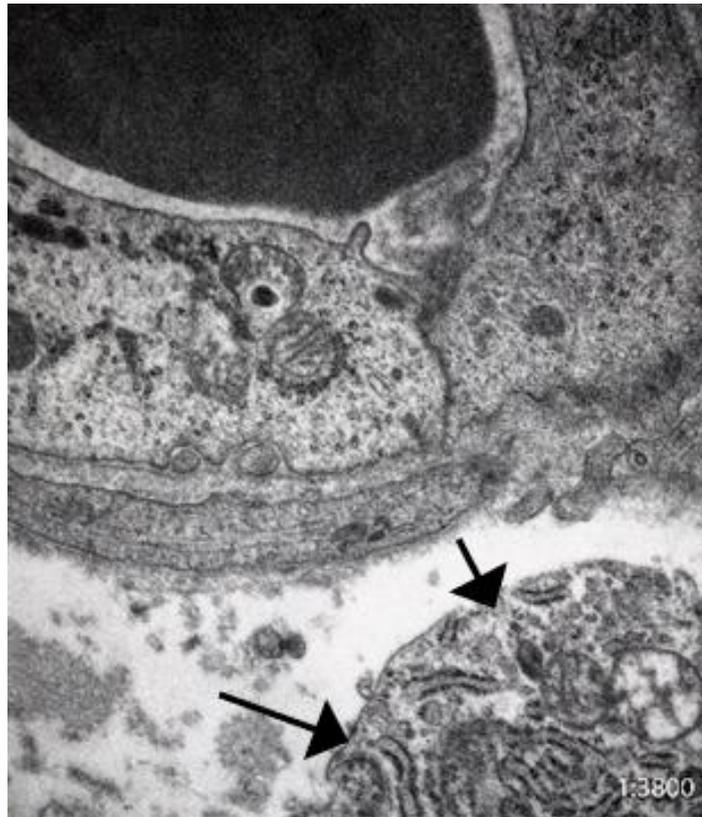


Рисунок 34 – Микрососуд с эритроцитом в просвете. Фрагмент цитоплазмы фибробласта (показан стрелками). Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 3-й группы на 7-е сутки после операции. Ув. $\times 3800$

На 14-е сутки после оперативного вмешательства у животных 1-й группы, по данным световой микроскопии, в полости опорно-двигательной культи глазного яблока с тканеинженерной конструкцией из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови отмечалось обширное разрастание волокнистой соединительной ткани. При этом коллагеновые волокна располагались более упорядоченно, чем на 7-е сутки. Между волокнами выявлялись скопления мононуклеаров крови, большинство из которых были подвержены лизису (потеря чёткости контуров, гиперхромия ядер, слабо базофильная цитоплазма) (Рисунок 35). Вокруг тканеинженерной конструкции визуализировались новообразованные сосуды (Рисунок 36). Весьма часто обнаруживались веретенообразной и звёздчатой формы зрелые фибробласты (Рисунок 37).

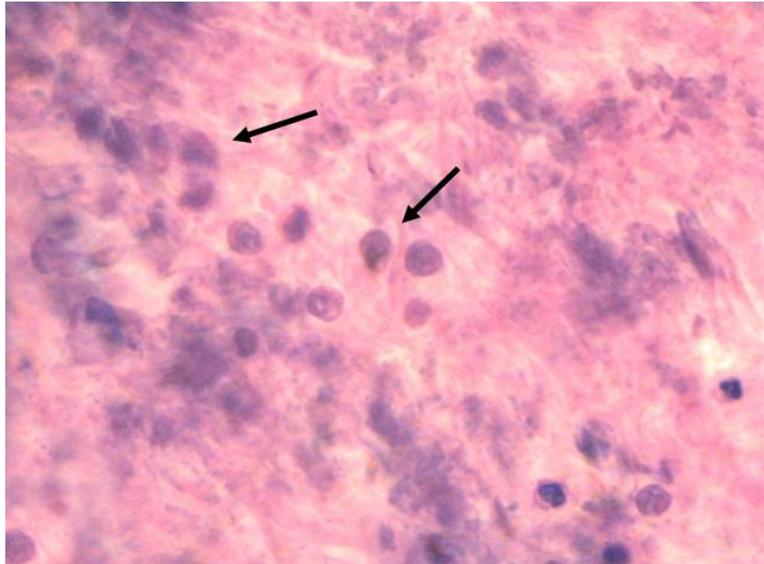


Рисунок 35 – Лизис, гипохромное окрашивание ядер мононуклеаров (показано стрелками) в опорно-двигательной культуре глазного яблока крысы 1-й группы на 14-е сутки после эвисцерознуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 900$

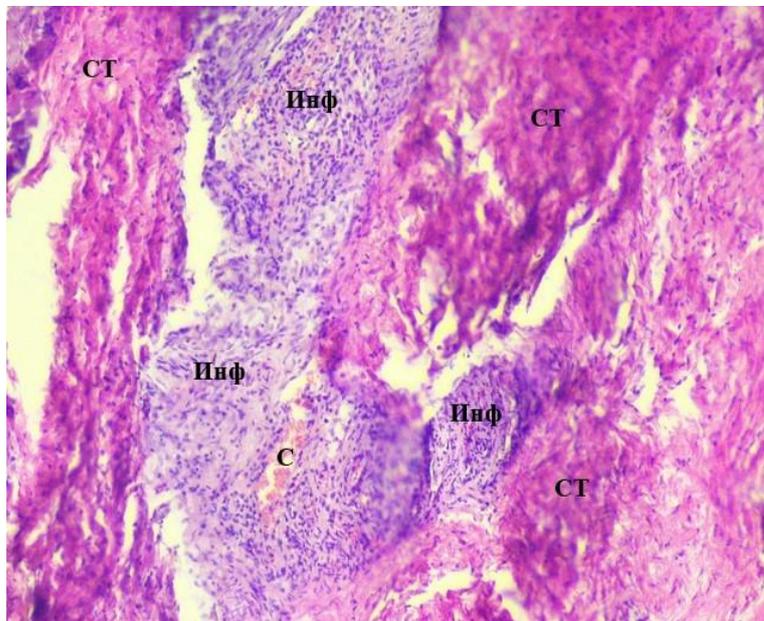


Рисунок 36 – Разрастание рыхлой волокнистой соединительной ткани (СТ), очаговая мононуклеарная инфильтрация (Инф) и новообразованные сосуды (С) в опорно-двигательной культуре глазного яблока крысы 1-й группы на 14-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

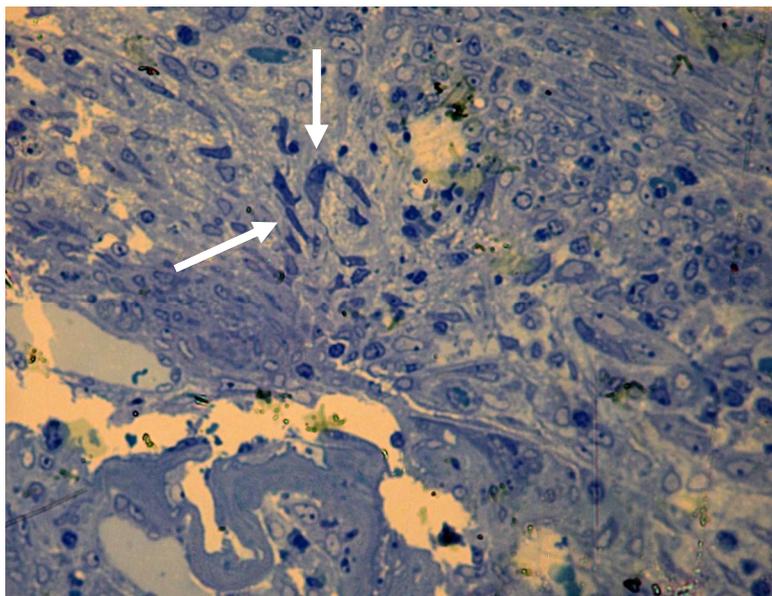


Рисунок 37 – Группы фибробластов (показаны стрелками) в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 1-й группы на 14-е сутки после операции. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. ×600

Согласно результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 1-й группы на 14-е сутки после эвисцероэнуклеации с использованием тканеинженерной конструкции среди клеток в полости опорно-двигательной культы глаза преобладали фибробласты и макрофаги. Макрофаги имели крупное ядро с хорошо выраженным эухроматином и ядрышком. В кариолемме обнаруживалось большое количество ядерных пор, краевая маргинация гетерохроматина выражена умеренно. В цитоплазме – множественные полисомы и микровезикулы, как свободные, так и ассоциированные с плазмолеммой. Вокруг ядра определялись расширенные структуры гранулярной ЭПС, на периферии – митохондрии с нормальной структурой (Рисунок 38).

В ядрах фибробластов преобладал эухроматин, ядрышко не определялось. В цитоплазме была хорошо развита гранулярная ЭПС, встречались единичные митохондрии (Рисунок 39).

В межклеточном веществе опорно-двигательной культы глазных яблок крыс обнаруживались более упорядоченные, чем на 7-е сутки, пучки коллагеновых фибрилл, ориентированных продольно (Рисунки 39, 40).

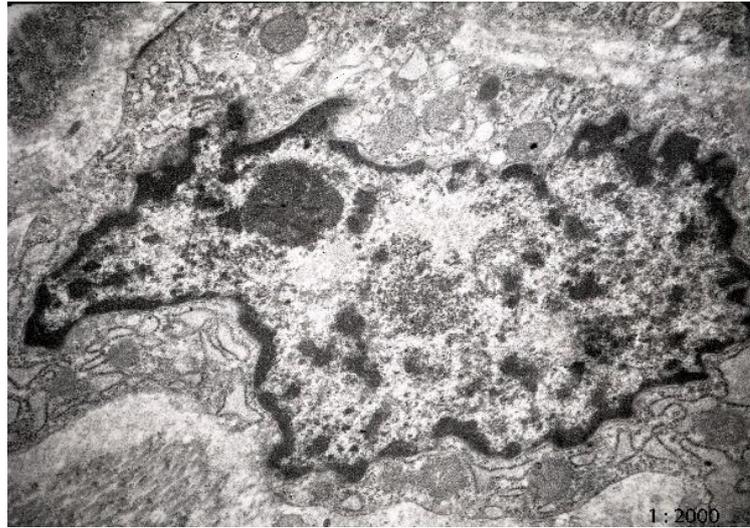


Рисунок 38 – Фрагмент макрофага. В цитоплазме множественные структуры гранулярной эндоплазматической сети с расширенными полостями. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 1-й группы на 14-е сутки после операции. Ув. $\times 2000$

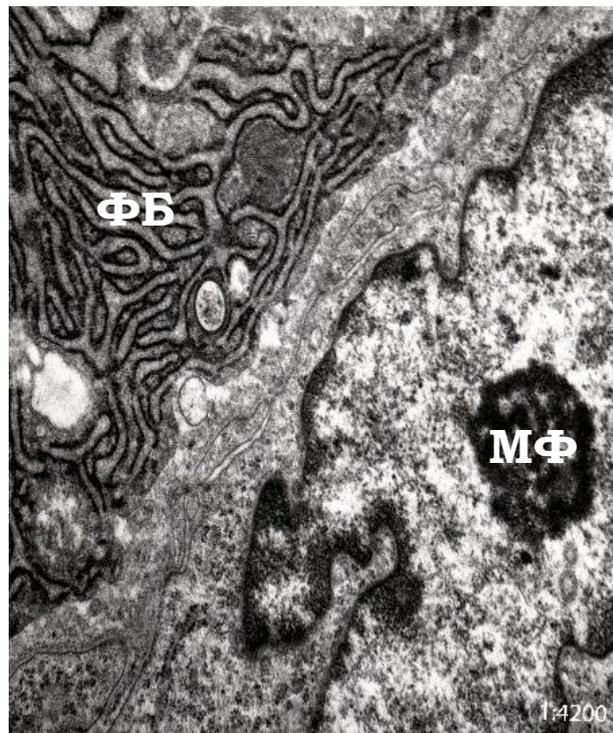


Рисунок 39 – Фрагменты двух клеток. Макрофаг (МФ) имеет крупное ядро с хорошо выраженным эухроматином и ядрышком, фибробласт (ФБ) с очень хорошо развитой гранулярной ЭПС. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 1-й группы на 14-е сутки после операции. Ув. $\times 4200$

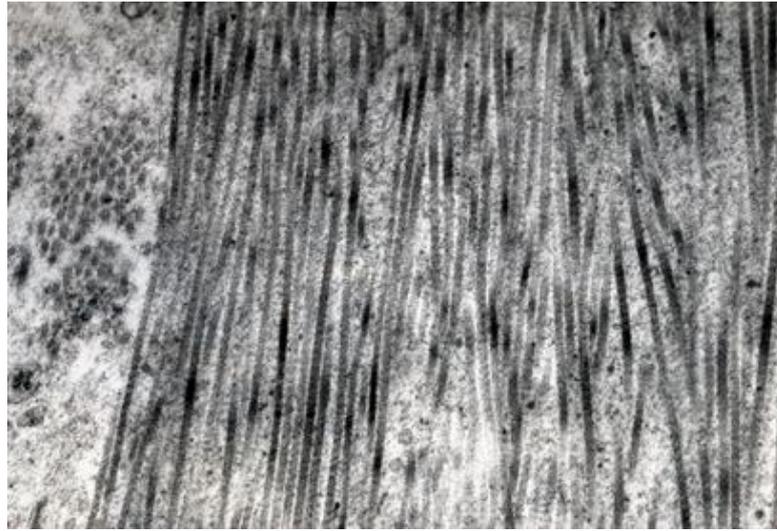


Рисунок 40 – Пучки коллагеновых фибрилл. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 1-й группы на 14-е сутки после операции.

Ув. $\times 5200$

Эндотелиоциты капилляров опорно-двигательной культуры имели различную электронную плотность цитоплазмы. В одних эндотелиальных клетках выявлялись локальные просветления цитоплазмы и множество микровезикул, связанных с базальной и люминальной плазмолеммой, в других – более тёмная цитоплазма из-за большего числа микровезикулярных и мелкогранулярных структур (Рисунок 41).

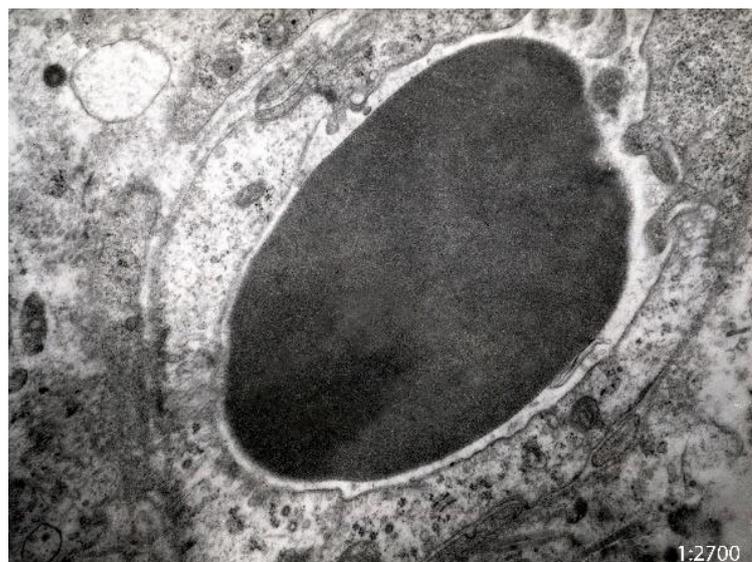


Рисунок 41 – Фрагмент микрососуда, в просвете – эритроцит. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 1-й группы на 14-е сутки после операции. Ув. $\times 2700$

У животных 2-й группы, по данным световой микроскопии, на 14-е сутки после эвисцероэнуклеации с использованием орбитального имплантата из никелида титана в полости опорно-двигательной культы глазного яблока наблюдалось разрастание рыхлой волокнистой соединительной ткани со значительным отёком и умеренно выраженной лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрацией. Тонкие коллагеновые волокна располагались хаотично (Рисунок 42), между ними обнаруживались тонкостенные капилляры, единичные артериолы и венулы.

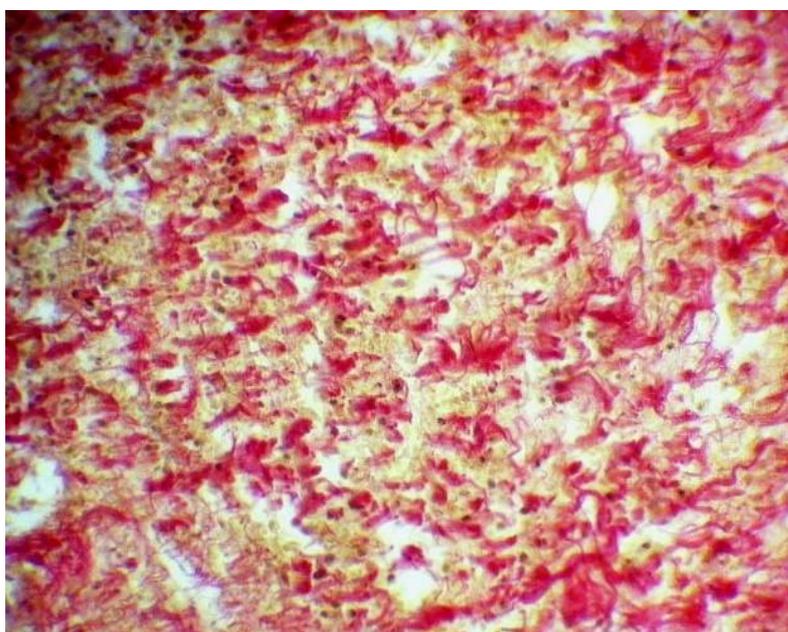


Рисунок 42 – Хаотично расположенные тонкие коллагеновые волокна в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 2-й группы на 14-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией никелида титана. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по методу Ван Гизона. Ув. $\times 200$

По результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 2-й группы на 14-е сутки после операции с использованием орбитального имплантата из никелида титана в ткани опорно-двигательной культы глаза встречались, преимущественно, фибробласты и макрофаги. Цитоплазма фибробластов имела хорошо развитую гранулярную ЭПС, большое число рибосом, встречались электронно-плотные секреторные гранулы. Кристы

митохондрий были фрагментированы. В ядрах фибробластов преобладал эухроматин, ядрышко не визуализировалось (Рисунок 43).

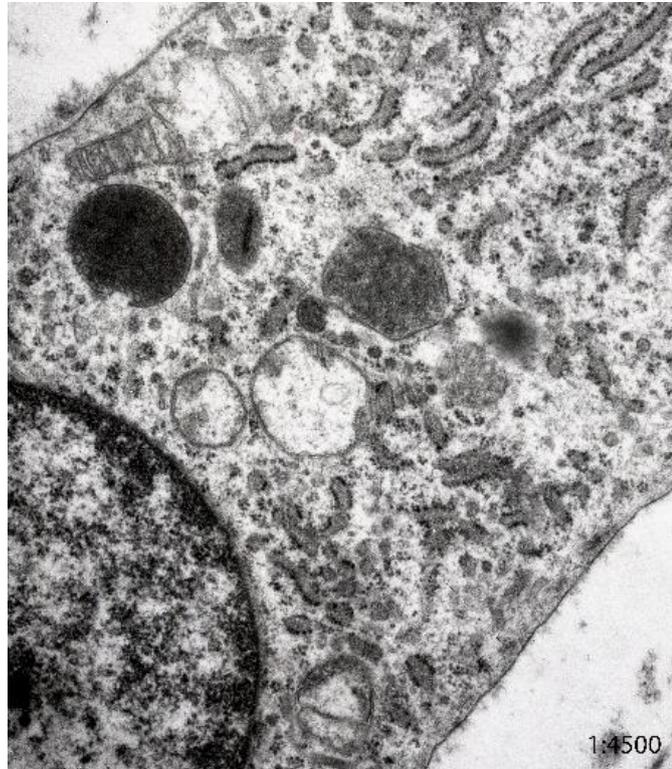


Рисунок 43 – Фрагмент фибробласта. Хорошо развита гранулярная эндоплазматическая сеть, много рибосом. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 2-й группы на 14-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией никелида титана. Ув. $\times 4500$

В межклеточном веществе опорно-двигательной культуры глазных яблок крыс обнаруживались продольно ориентированные пучки коллагеновых фибрилл (Рисунки 44, 45). Эндотелиоциты новообразованных микрососудов имели хорошо развитые органеллы и типичное строение ядра. Между эндотелиальными клетками определялись зоны плотного контакта (Рисунок 46).

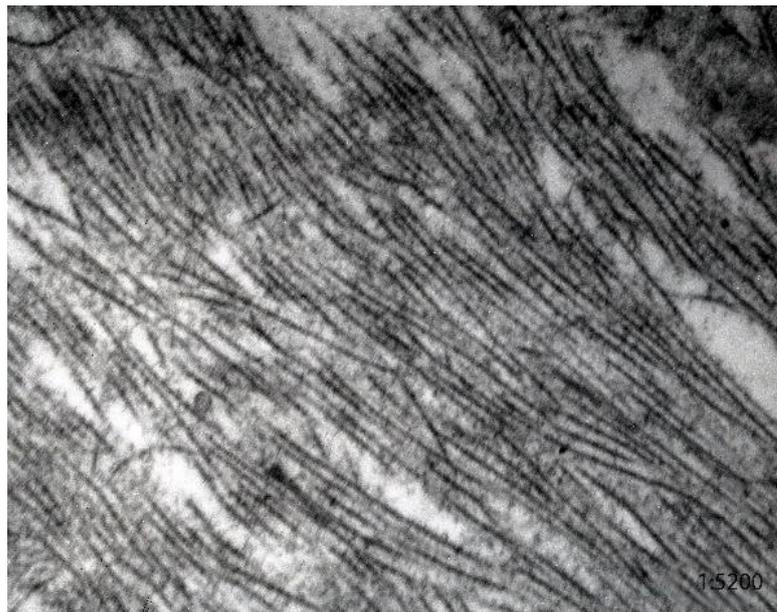


Рисунок 44 – Тонкие пучки коллагеновых фибрилл, ориентированные продольно. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 2-й группы на 14-е сутки после операции. Ув. $\times 5200$

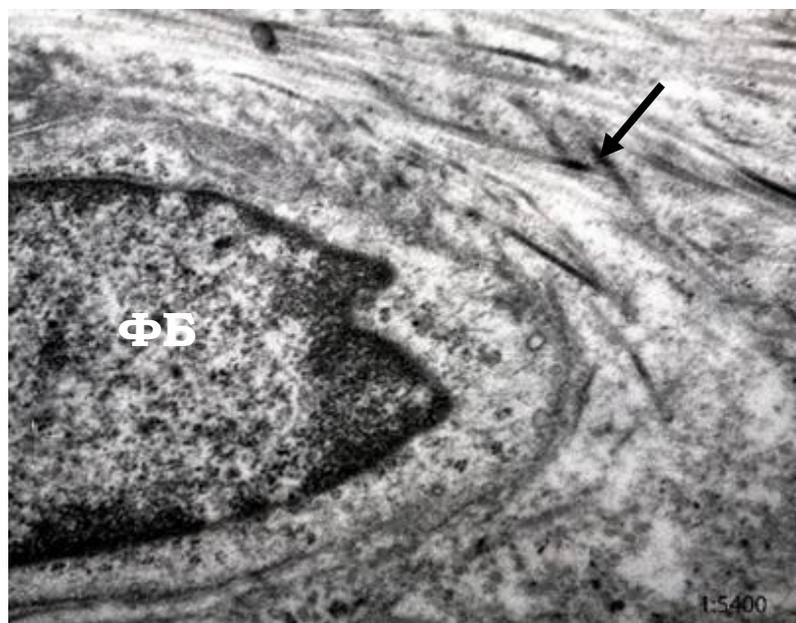


Рисунок 45 – Фрагмент соединительной ткани. Фибробласт (ФБ) с ядром. Коллагеновые фибриллы в межклеточном веществе (стрелка). Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 2-й группы на 14-е сутки после операции. Ув. $\times 5400$



Рисунок 46 – Микрососуд. В просвете – эритроциты. Стенка образована несколькими эндотелиоцитами. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 2-й группы на 21-е сутки после операции. Ув. $\times 3200$

У животных 3-й группы на 14-е сутки после эвисцероэнуклеации и имплантации в склеральный мешок биоматериала из подкожно-жировой клетчатки, по данным световой микроскопии, в полости опорно-двигательной культи глазного яблока между жировыми дольками имплантата отмечались незначительная лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация и разрастание тонких коллагеновых волокон (Рисунок 47). Вокруг имплантата обнаруживались единичные новообразованные сосуды.

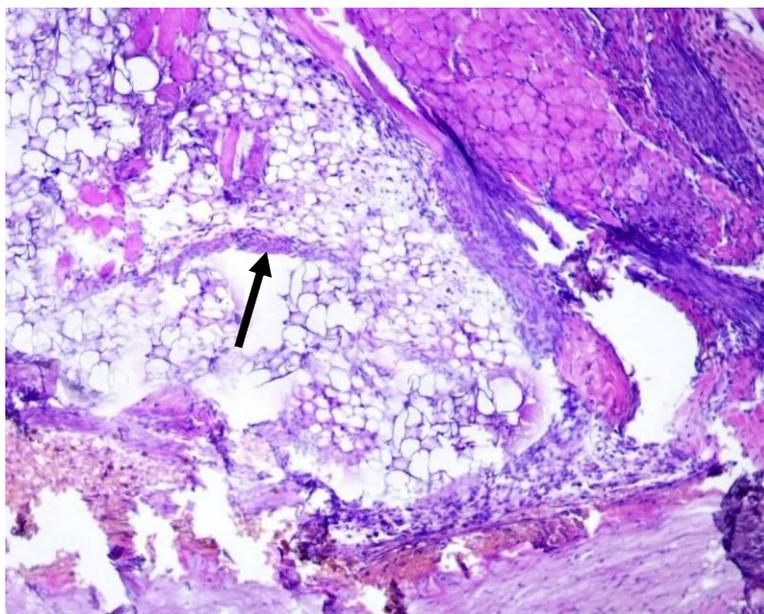


Рисунок 47 – Разрастание коллагеновых волокон (показаны стрелка) между жировыми дольками имплантата в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 3-й группы на 14-е сутки после эвисцерезнуклеации с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

По результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 3-й группы на 14-е сутки после операции с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки в полости опорно-двигательной культы глаза преобладали адипоциты с однотипной организацией цитоплазмы с крупными липидными каплями. Между адипоцитами встречались фибробласты с хорошо развитой гранулярной эндоплазматической сетью с широким просветом (Рисунок 48). В ядрах фибробластов преобладал эухроматин, ядрышко не определялось. Вокруг фибробластов располагались неупорядоченные пучки коллагеновых фибрилл (Рисунок 49). Кроме того, между адипоцитами отмечались фрагменты клеток с выраженными деструктивными изменениями. Митохондрии с признаками деструкции выявлялись вплоть до фрагментации наружной митохондриальной мембраны (Рисунок 48).

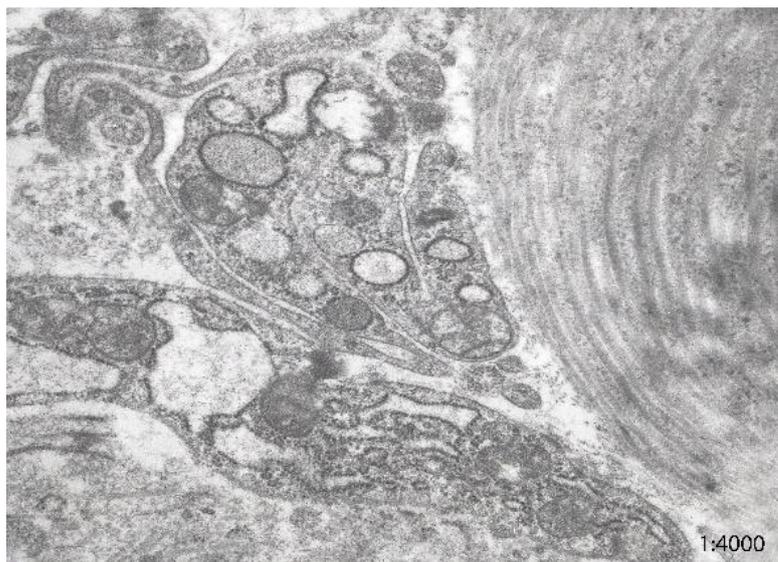


Рисунок 48 – Участки цитоплазмы фибробластов с хорошо развитой гранулярной ЭПС с расширенным просветом. Митохондрии с признаками деструкции. Пучки коллагеновых фибрилл. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 3-й группы на 14-е сутки после операции. Ув. $\times 4000$

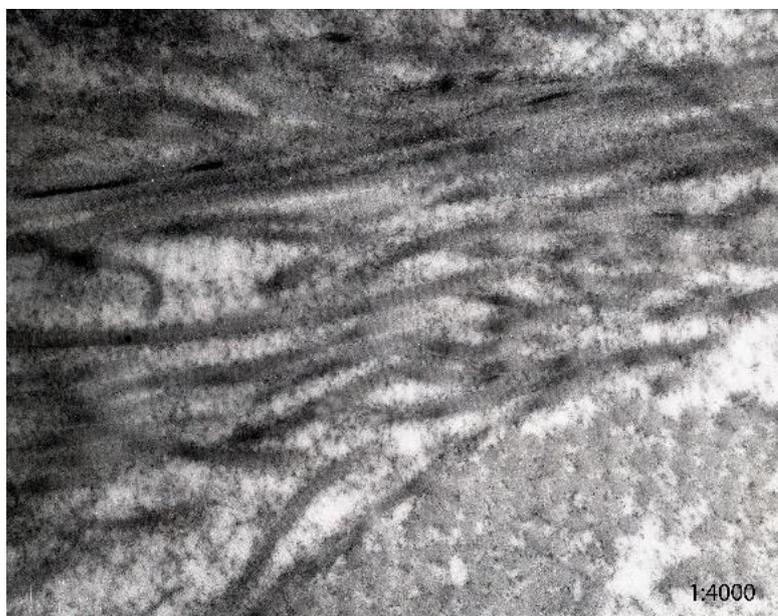


Рисунок 49 – Пучки коллагеновых фибрилл. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 3-й группы на 14-е сутки после операции. Ув. $\times 4000$

В ткани опорно-двигательной культи глаза визуализировались единичные новообразованные сосуды, эндотелиоциты которых с неправильной формой ядра, светлой цитоплазмой, множественными полисомами и микровезикулами, расположенными преимущественно под плазмолеммой (Рисунок 50).

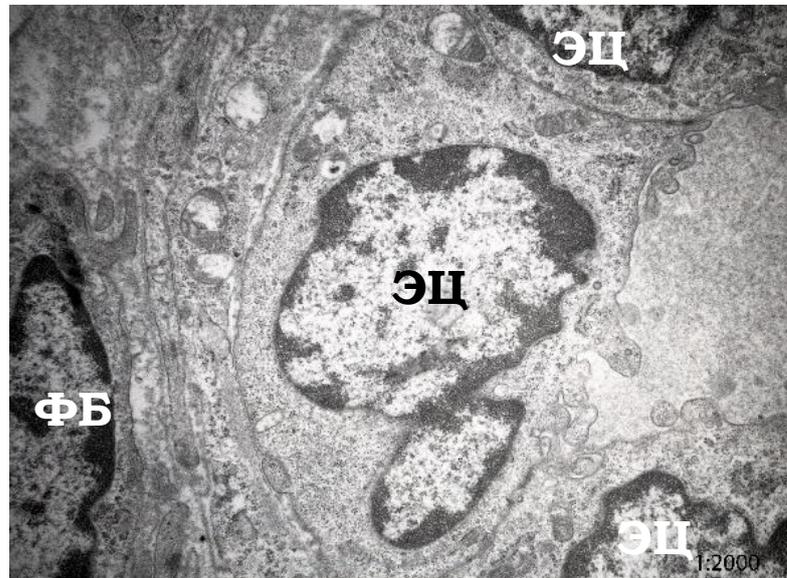


Рисунок 50 – Фрагмент микрососуда. Эндотелиоциты (ЭЦ) с неправильной формой ядра, фрагмент фибробласта (ФБ). Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 3-й группы на 14-е сутки после операции.

Ув. × 2000

На 21-е сутки после оперативного вмешательства, по данным световой микроскопии, у животных 1-й группы в полости опорно-двигательной культи глазного яблока с тканеинженерной конструкцией из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови обнаруживалась зрелая соединительная ткань. Толстые пучки коллагеновых волокон располагались компактно и упорядоченно (Рисунок 51). Вокруг имплантата из никелида титана выявлялись мелкоочаговые скопления мононуклеарных клеток, разделённые участками фиброзной ткани. Среди пучков коллагеновых волокон обнаруживались множественные новообразованные артериолы и венулы (Рисунок 52).



Рисунок 51 – Толстые пучки коллагеновых волокон (показаны стрелками) в опорно-двигательной культуре глазного яблока крысы 1-й группы на 21-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по методу Ван Гизона. Ув. $\times 400$

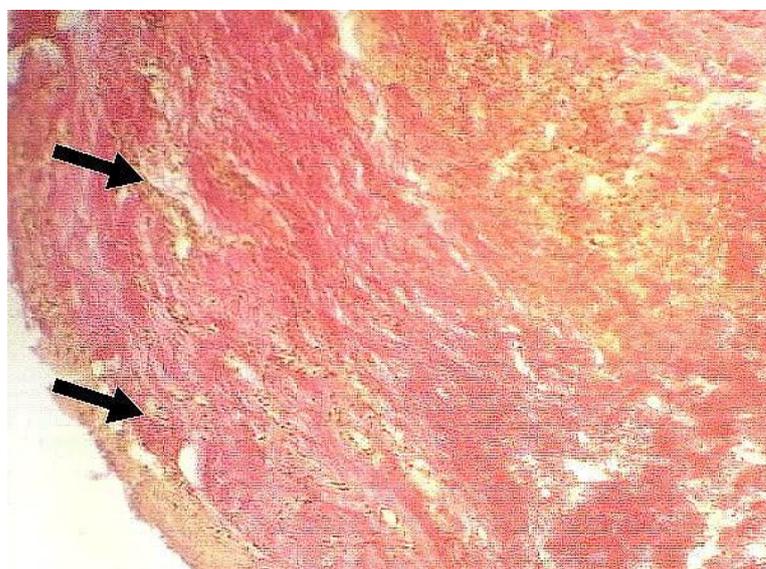


Рисунок 52 – Новообразованные сосуды (показаны стрелками) среди пучков соединительной ткани в опорно-двигательной культуре глазного яблока крысы 1-й группы на 21-е сутки после операции. Окраска пикрофуксином по методу Ван Гизона. Ув. $\times 300$

Согласно результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 1-й группы на 21-е сутки после операции в полости опорно-двигательной культы глазного яблока с тканеинженерной конструкцией из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеаров крови среди клеток преобладали фибробласты, цитоплазма которых содержала хорошо развитый белок-синтетический аппарат, множественные микровезикулы и митохондрии с нормальной морфологией. Ядра фибробластов имели вытянутую форму, в них преобладал эухроматин (Рисунок 53). В межклеточном веществе коллагеновые волокна в виде толстых пучков располагались компактно и упорядоченно (Рисунок 54). Среди эндотелиоцитов новообразованных микрососудов в опорно-двигательной культе глазного яблока обнаруживались эндотелиальные клетки (Рисунок 55) с митохондриями и множественными микровезикулами, как свободными, так и связанными с плазмолеммой.

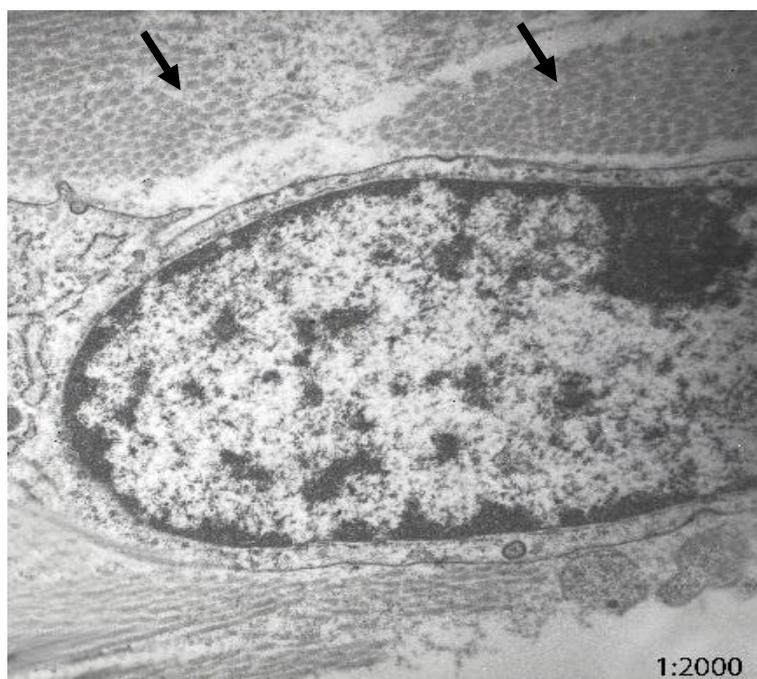


Рисунок 53 – Фрагмент соединительной ткани. Пучки коллагеновых фибрилл (показаны стрелками) вокруг фибробласта. Электронограмма опорно-двигательной культы глаза животного 1-й группы на 21-е сутки после операции.

Ув. $\times 2000$

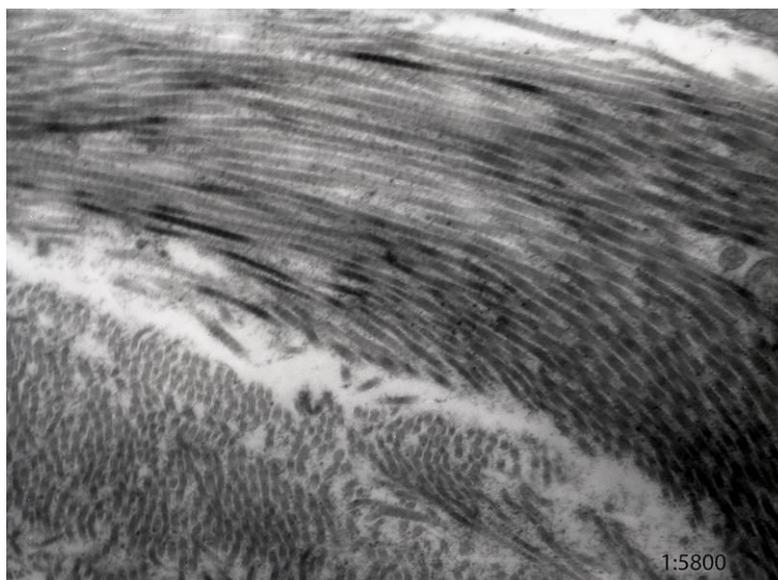


Рисунок 54 – Пучки коллагеновых волокон. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 1-й группы на 21-е сутки после операции.

Ув. $\times 5800$

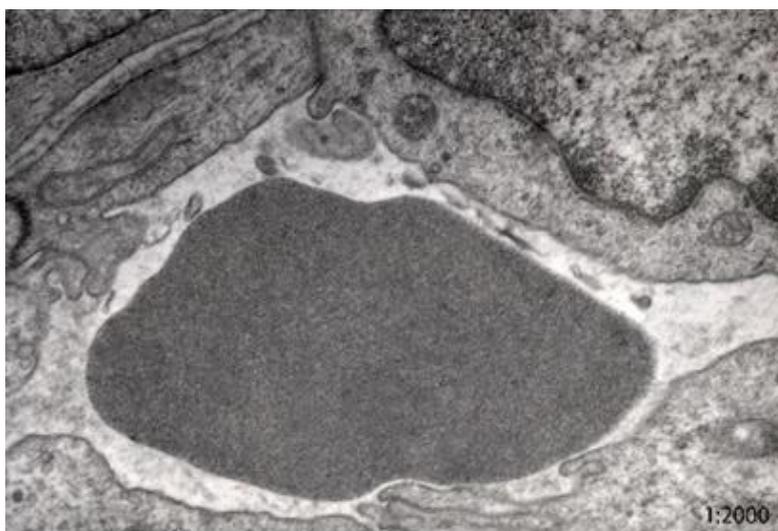


Рисунок 55 – Фрагмент микрососуда. Эритроцит в просвете. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 1-й группы на 21-е сутки после операции. Ув. $\times 2000$

У животных 2-й группы на 21-е сутки после оперативного вмешательства, по результатам световой микроскопии, в полости опорно-двигательной культи глазного яблока с имплантатом из никелида титана обнаруживалась рыхлая соединительная ткань с тонкими коллагеновыми волокнами, неупорядоченно

расположенными вокруг имплантата (Рисунок 56). Между пучками коллагеновых волокон выявлялись диффузная мононуклеарная инфильтрация и небольшое число новообразованных сосудов (Рисунки 56, 57).

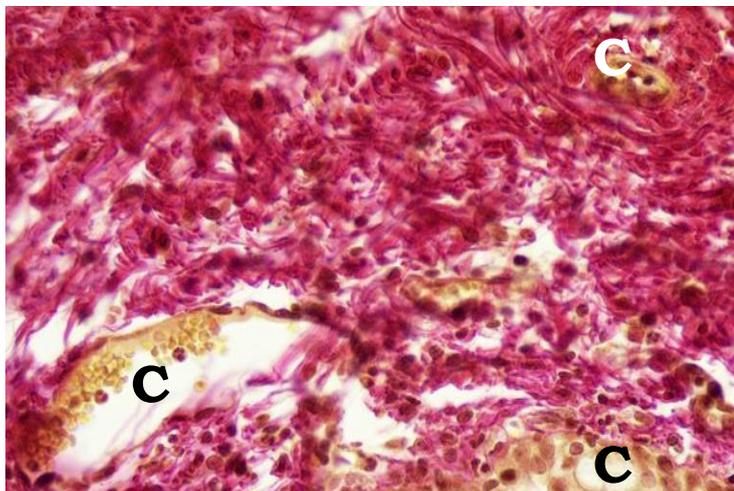


Рисунок 56 – Пучки коллагеновых волокон и умеренно полнокровные сосуды (С) в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 2-й группы на 21-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией никелида титана. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по методу Ван Гизона. Ув. $\times 400$

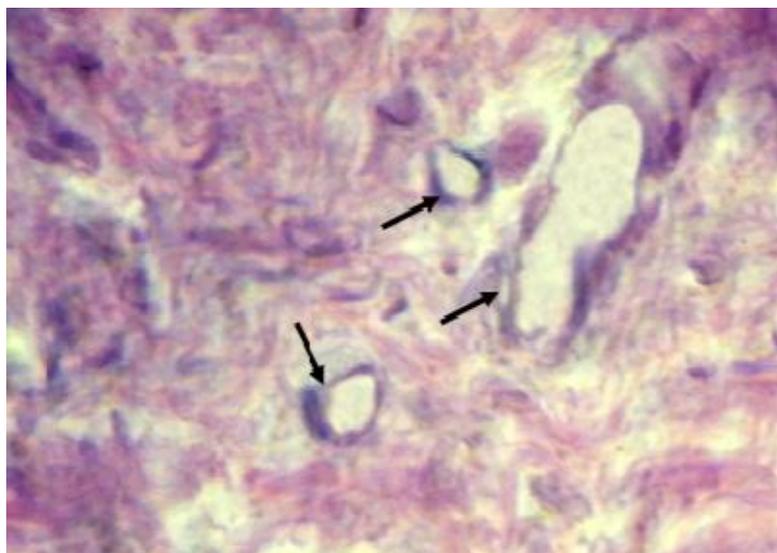


Рисунок 57 – Новообразованные сосуды (показаны стрелками) и хаотично расположенные пучки коллагеновых волокон в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 2-й группы на 21-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

По результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 2-й группы на 21-е сутки после операции с применением имплантата из никелида титана в клеточном составе опорно-двигательной культи глазного яблока преобладали макрофаги и фибробласты. В цитоплазме макрофагов обнаруживались множественные свободные рибосомы/полисомы. В ядрах фибробластов преобладал эухроматин, ядрышко не визуализировалось. В цитоплазме встречались множество мелких везикул (Рисунок 58).

Межклеточное вещество полости опорно-двигательной культи было представлено небольшим количеством тонких коллагеновых фибрилл, ориентированных продольно (Рисунки 58, 59).



Рисунок 58 – Фрагмент фибробласта и продольно ориентированные коллагеновые фибриллы. Электронограмма опорно-двигательной культи глаза животного 2-й группы на 21-е сутки после операции. Ув. $\times 3800$

Эндотелиоциты микрососудов имели разную электронную плотность цитоплазмы. Органеллы эндотелиальных клеток были представлены

преимущественно свободными полисомами и немногочисленными цистернами гранулярной ЭПС, множественными микровезикулами. В ядрах некоторых эндотелиоцитов обнаруживалось ядрышко, по краю кариолеммы – гетерохроматин (Рисунок 60).

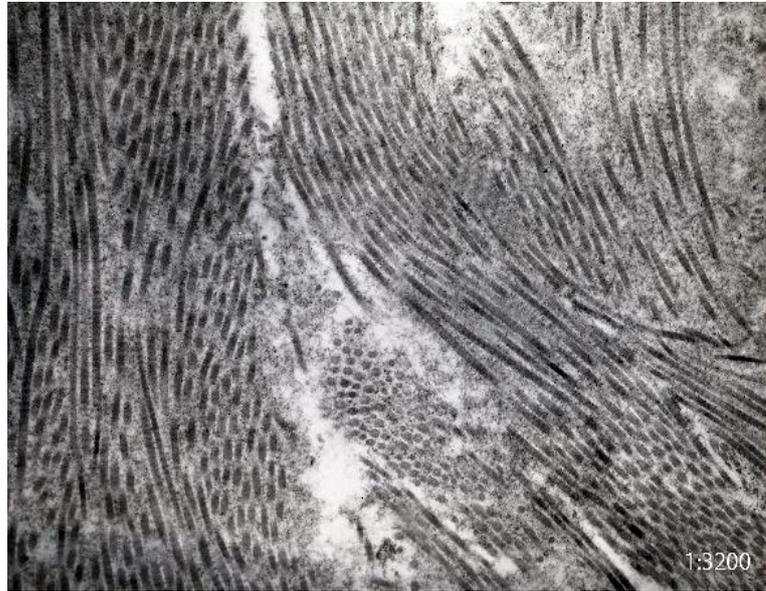


Рисунок 59 – Пучки коллагеновых фибрилл. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 2-й группы на 21-е сутки после операции. Ув. $\times 3200$

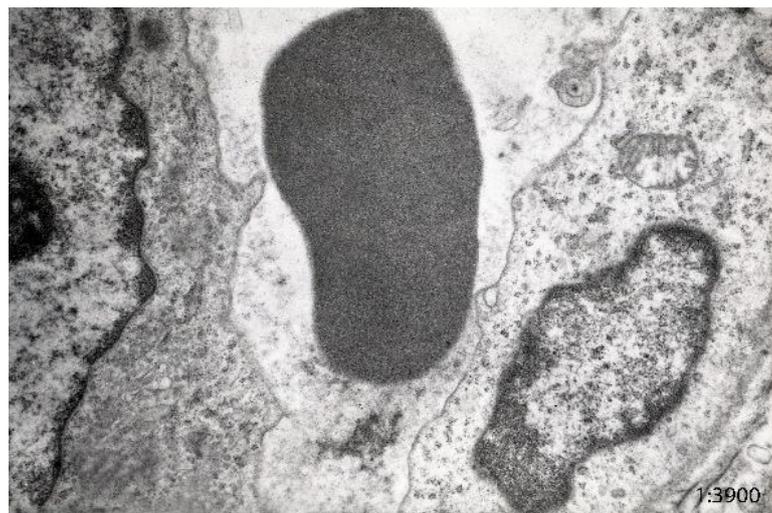


Рисунок 60 – Фрагмент микрососуда, в просвете эритроцит. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 2-й группы на 21-е сутки после операции. Ув. $\times 3900$

У животных 3-й группы на 21-е сутки после операции с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки, по данным световой микроскопии, в полости опорно-двигательной культы глазного яблока обнаруживалась жировая ткань, между дольками которой выявлялись незначительная мононуклеарная инфильтрация и рыхло расположенные коллагеновые волокна (Рисунок 61). Вокруг имплантата располагались единичные умеренно полнокровные новообразованные сосуды. Вместе с тем, на некоторых участках культы вблизи имплантата встречались эпителиоидные клетки, а также группы гигантских многоядерных клеток Пирогова–Лангханса, что указывает на развитие гранулематозного воспаления (Рисунок 62).

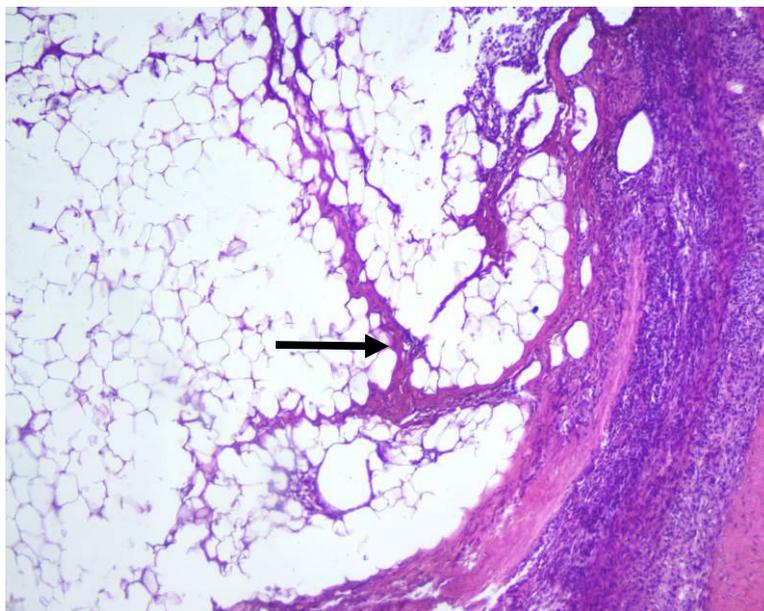


Рисунок 61 – Коллагеновые волокна (показаны стрелкой) между дольками жировой ткани в опорно-двигательной культе глазного яблока крысы 3-й группы на 21-е сутки после эвисцероэнуклеации с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

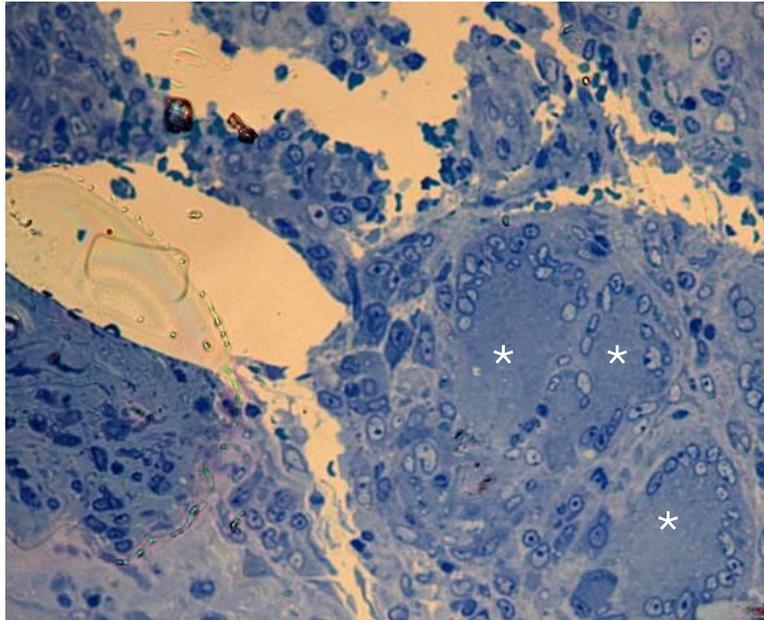


Рисунок 62. Гигантские многоядерные клетки Пирогова–Лангханса (показаны звездочками) в опорно-двигательной культуре глазного яблока крысы 3-й группы на 21-е сутки после операции. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. $\times 600^*$

Согласно результатам трансмиссионной электронной микроскопии, у животных 3-й группы на 21-е сутки после операции с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки в клеточном составе опорно-двигательной культуры глазного яблока преобладали адипоциты, между которыми обнаруживались фрагменты клеток с множественными деструктивными изменениями. В цитоплазме клеток обнаруживалась редукция мембранных и немембранных органелл с очаговыми неравномерными просветлениями в цитозоле. Выраженная деструкция мембран митохондрий. Множественные аутофагосомы и лизосомы. В ядрах некоторых соединительнотканых клеток – гиперконденсация хроматина, кариорексис (Рисунки 63–65).

Визуализировались продольно ориентированные пучки коллагеновых фибрилл (Рисунок 66).

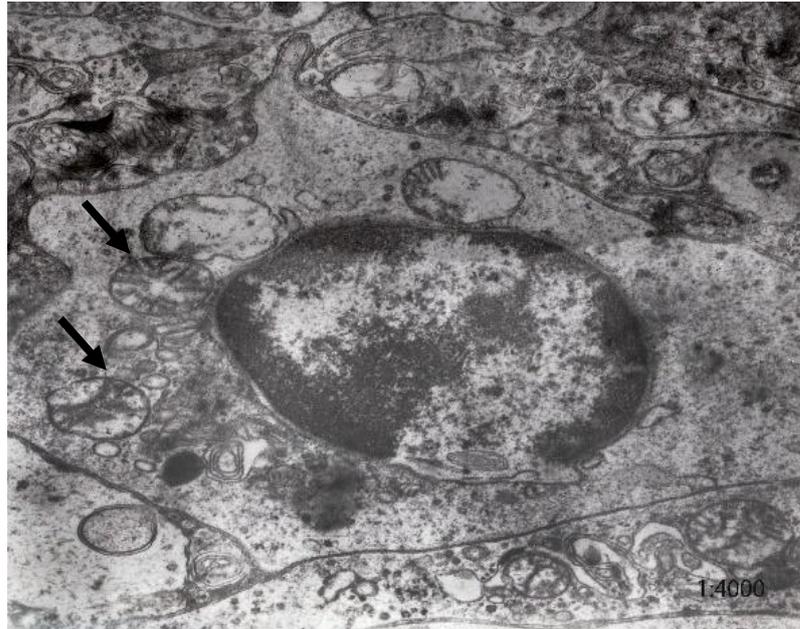


Рисунок 63 – Участки клеток с множественными деструктивными изменениями. Выраженная деструкция митохондрий (показана стрелками). Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 3-й группы на 21-е сутки после эвисцерознуклеации с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки. Ув. $\times 4000$



Рисунок 64 – Фрагмент клетки. Отёк цитоплазмы. Фрагментация мембран органелл. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 3-й группы на 21-е сутки после операции. Ув. $\times 4000$



Рисунок 65 – Фрагмент клетки с выраженными деструктивными изменениями.

Кариорексис, гетерохроматин в виде глыбок-агрегатов локализуется в центральной части ядра (показаны стрелкой). Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 3-й группы на 21-е сутки после операции.

Ув. $\times 3200$

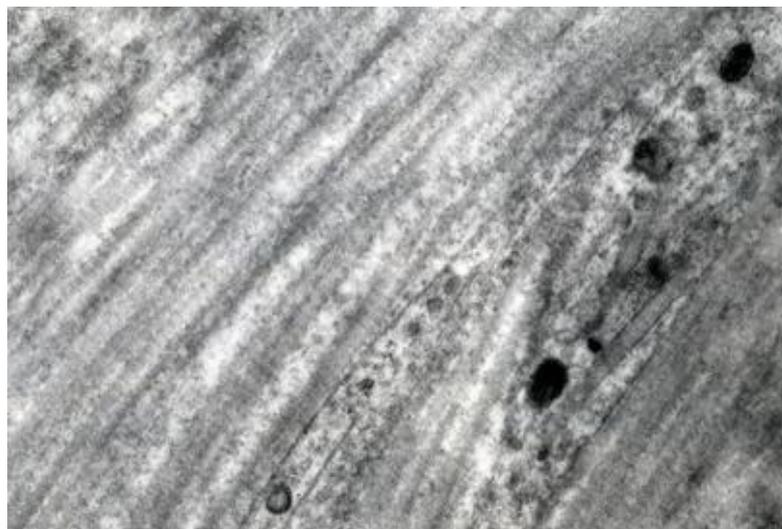


Рисунок 66 – Пучки продольно ориентированных коллагеновых фибрилл. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 3-й группы на 21-е сутки после операции. Ув. $\times 4000$

Среди эндотелиоцитов новообразованных микрососудов встречались клетки с низкой электронной плотностью цитоплазмы и множественными микровезикулами, как свободными, так и связанными с плазмолеммой (Рисунок 67).

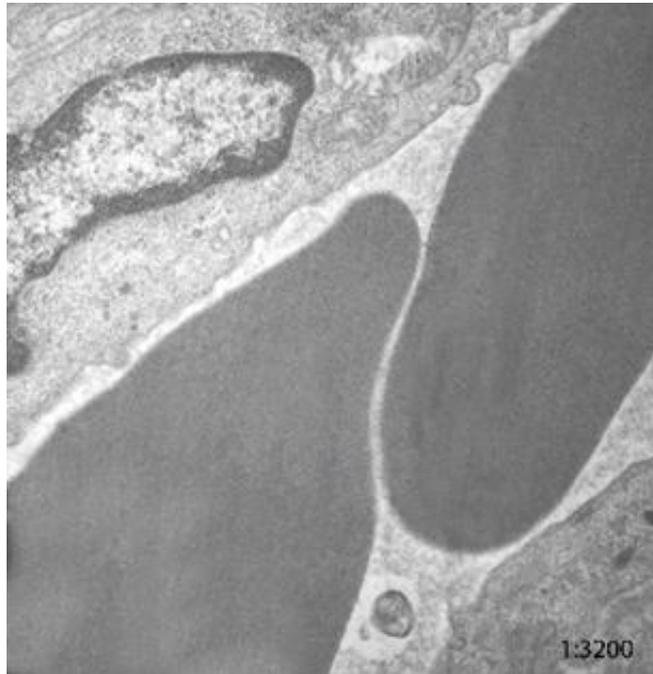


Рисунок 67 – Микрососуд. Эритроциты в просвете. Электронограмма опорно-двигательной культуры глаза животного 3-й группы на 21-е сутки после операции.

Ув. $\times 3200$

Таким образом, результаты световой и электронной микроскопии показали, что у животных 1-й группы с тканеинженерной конструкцией из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови в опорно-двигательной культуре глаза к 21-м суткам сформировалась зрелая соединительная ткань, в то время, как у животных 2-й группы с имплантацией никелида титана в этот же срок исследования в опорно-двигательной культуре глаза обнаруживалась рыхлая соединительная ткань. В 3-й группе животных с имплантацией биоматериала из подкожно-жировой клетчатки с 14-х суток в опорно-двигательной культуре глаза определялись признаки биодеструкции (дистрофические и некротические изменения биоматериала).

Согласно теории L.A. Peer (1950), дистрофические и некротические изменения в жировой ткани происходят вследствие недостатка кровоснабжения центральных отделов трансплантата [182]. По периферии трансплантата жировая ткань сохраняет свою структуру, так как возникают анастомозы между его кровеносными сосудами и окружающими тканями. Недостаточное кровоснабжение центральных отделов снижает доставку кислорода и питательных веществ к адипоцитам, что приводит к ишемии и дальнейшим деструктивно-некротическим процессам [182].

C A. Carpaneda и M. T. Ribeiro (1994) обнаружили, что выживаемость трансплантата составляет около 40% при расстоянии не более 1,5 мм от васкуляризованного края окружающих тканей [129].

K. Yoshimura и соавт. (2011) на основании исследований на животных показали, что почти все адипоциты (кроме тех, которые расположены в пределах 300 мкм от края ткани культуры) погибают в течение первых нескольких дней после пересадки жира. Липидные капли поглощаются макрофагами путем фагоцитоза. Это исследование убедительно доказало динамическое ремоделирование жировой ткани после трансплантации [154].

3.3 Сравнительный анализ морфогенеза опорно-двигательной культуры глазного яблока у крыс в зависимости от вида орбитального имплантата

Согласно результатам морфометрического анализа, в клеточном составе опорно-двигательной культуры глазного яблока у крыс трёх групп на протяжении всего эксперимента (21 сутки) преобладали моноклеарные клетки (Таблица 1). При этом у животных 1-й группы с орбитальным имплантатом из тканеинженерной конструкции численность клеток данной популяции в ходе эксперимента статистически значимо превышала таковую у животных остальных групп. Так, на 7-е сутки после операции число моноклеарных клеток в опорно-двигательной культуре глазного яблока у крыс 1-й группы ($n = 6$) в 3,3 раза ($p = 0,034$) превышало значение данного показателя у животных 2-й группы ($n = 6$) с орбитальным имплантатом из никелида титана и значительно

превышало данный показатель ($p = 0,0002$) у животных 3-й группы ($n = 6$) с орбитальным имплантатом из биоматериала (Таблица 1).

На 14-е сутки после оперативного вмешательства численность клеток данной популяции в опорно-двигательной культуре глазного яблока у крыс 1-й группы превышала таковую у крыс 2-й группы в 1,9 раза ($p_U = 0,01$), на 21-е сутки – в 2,2 раза ($p = 0,02$). Различия данного показателя с таковым у животных 3-й группы были значительной ($p = 0,0001$) (Таблица 1).

Выявленная закономерность объясняется как непосредственным введением суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови в тканеинженерную конструкцию при формировании опорно-двигательной культуры глазного яблока у крыс 1-й группы, так и дополнительной миграцией клеток данной популяции вследствие индуцирующего – за счет секреции биологически активных веществ – влияния экзогенно введенных моноклеаров.

На протяжении всего эксперимента численная плотность лимфоцитов также преобладала у животных 1-й группы с орбитальным имплантатом из тканеинженерной конструкции. Так, на 7-е сутки после операции число лимфоцитов у крыс 1-й группы в 3,1 раза ($p = 0,028$) превышало значение данного показателя у животных 2-й группы. На 14-е и 21-е сутки численность лимфоцитов в 1,9–2,0 раза была выше, чем у животных 2-й группы (Таблица 1).

При сравнении клеточной плотности полиморфно-ядерных лейкоцитов выявлены следующие результаты. У крыс 1-й и 2-й групп данные показатели на протяжении всего эксперимента были примерно одинаковыми в связи с умеренной воспалительной реакцией на 7-е сутки после операции, стиханием воспалительного процесса, уменьшением числа полиморфноядерных лейкоцитов к 21-м суткам после операции (Таблица 1).

В связи с тем, что в 3-й группе животных основная ткань является жировой, клеточность на протяжении всего эксперимента была низкой, поэтому разница показателей лимфоцитов и полиморфно-ядерных лейкоцитов в 1-й и 2-й группах по сравнению с показателями 3-й группы оказалась существенной ($p = 0,0002$).

Таблица 1 – Содержание клеток в 1 мм² среза опорно-двигательной культуры глазного яблока у экспериментальных животных в зависимости от вида имплантата, $Me (Q1; Q3)$

Вид клеток	Группа животных	Срок наблюдения		
		7-е сут	14-е сут	21-е сут
Моноциты-макрофаги	1-я (n = 6)	3249,88 (492,84; 9856,80) $p_1 = 0,034$ $p_2 = 0,0002$	5869,76 (2957,04; 9363,96) $p_1 = 0,01$ $p_2 = 0,0001$	2657,04 (1971,36; 3942,72) $p_1 = 0,02$ $p_2 = 0,0002$
	2-я (n = 6)	958,68 (492,84; 1971,36)	2964,20 (492,84; 5698,80)	1189,26 (492,84; 2957,04)
	3-я (n = 6)	65,28 (15,46; 156,54)	55,34 (10,24; 143,26)	60,62 (10,24; 123,46)
Фибробласты	1-я (n = 6)	30,86 (0; 62,44) $p_1 = 0,034$; $p_2 = 0,028$	492,84 (246,42; 1478,52) $p_1 = 0,0001$; $p_2 = 0,0002$	410,26 (246,42; 1256,48) $p_2 = 0,0002$
	2-я (n = 6)	10,24 (0; 62,44)	12,46 (0; 123,26)	492,84 (62,44; 958,68)
	3-я (n = 6)	10,24 (0; 30,86)	18,48 (0; 62,44)	56,74 (0; 246,42)
Лимфоциты	1-я (n = 6)	3196,36 (492,84; 4928,40) $p_1 = 0,028$; $p_2 = 0,0002$	4435,56 (492,84; 5914,28) $p_2 = 0,0002$	2210,84 (246,42; 3449,88) $p_2 = 0,0002$
	2-я (n = 6)	1031,26 (246,42; 2435,56)	2334,56 (492,84; 3942,72)	1105,86 (246,42; 2957,04)
	3-я (n = 6)	56,24 (15,46; 143,26)	52,48 (10,24; 123,46)	48,56 (10,24; 111,36)
Полиморфно-ядерные лейкоциты	1-я (n = 6)	246,42 (0; 1478,52) $p_2 = 0,0001$	123,26 (0; 958,68) $p_2 = 0,0002$	60,62 (0; 492,84) $p_2 = 0,0004$
	2-я (n = 6)	246,42 (0; 1971,36)	123,26 (0; 958,68)	62,44 (0; 492,84)
	3-я (n = 6)	62,44 (0; 246,42)	62,44 (0; 123,26)	30,86 (0; 62,44)

Примечание. p_1 – Уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями во 2-й группе; p_2 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями в 3-й группе; n – число животных в группе.

Численная плотность фибробластов у животных всех трёх экспериментальных групп на 7-е сутки после операции была низкой (Таблица 1).

На 14-е сутки у крыс 1-й группы выявлено повышение численности фибробластов, что свидетельствует о сдвиге воспалительной реакции в фазу регенерации, и значительное превышение данного показателя (в 22 раза) по сравнению с наблюдаемым у животных 2-й группы ($p = 0,0001$). На 21-е сутки у животных 1-й группы выявлено уменьшение численной плотности фибробластов (см. Таблицу 1), что, в сочетании с другими гистологическими признаками, свидетельствует о созревании соединительной ткани. У животных 2-й группы повышение численности фибробластов отмечено к 21-м суткам (см. Таблицу 1), что указывает на начало созревания соединительной ткани. У животных 3-й группы статистически значимого изменения величины данного показателя не выявлено, отмечено незначительное увеличение численности фибробластов к 21-м суткам, что указывает на формирование соединительной ткани между жировыми дольками в биоматериале.

Удельный объём соединительной ткани в опорно-двигательной культе глазного яблока у животных 1-й группы с орбитальным имплантатом из тканеинженерной конструкции, начиная с 7-х суток после операции и на протяжении всего эксперимента (21 сутки), также статистически значимо превышал таковой у животных остальных групп (Таблица 2). Так, на 7-е сутки после оперативного вмешательства у крыс 1-й группы значение данного показателя было в 7,9 раза ($p = 0,048$) выше, чем у животных 2-й группы, и в 15,8 раза ($p = 0,039$) выше, чем у животных 3-й группы (Таблица 2).

На 14-е сутки после операции объём соединительной ткани в опорно-двигательной культе глазного яблока у животных 1-й группы достигал наибольшего значения по сравнению с таковым у животных других групп (Таблица 2).

На 21-е сутки после операции у животных 1-й группы выявлено статистически значимое – в 1,2 раза – уменьшение объёма стромы опорно-двигательной культы глазного яблока по сравнению с показателем на 14-е сутки

($p = 0,0019$) (Таблица 2), что обусловлено созреванием соединительной ткани в культе (упорядоченно расположенные толстые пучки коллагеновых волокон, множественные новообразованные артериолы и венулы).

У животных 2-й группы объём стромы опорно-двигательной культуры глаза на 21-е сутки после операции в 1,19 раза был выше, чем у животных 1-й группы ($p = 0,0019$) и в 17,9 раза – по сравнению с показателями крыс 3-й группы с имплантатом из биоматериала ($p = 0,0003$) (Таблица 2).

Необходимо отметить, что у всех животных 2-й группы на данном сроке наблюдения (21-е сутки после операции) в соединительной ткани опорно-двигательной культуры глазного яблока, по результатам световой и электронной микроскопии, обнаруживались признаки её незрелости (неупорядоченно расположенные тонкие коллагеновые волокна, диффузная клеточная инфильтрация, небольшое число новообразованных сосудов).

Таблица 2 – Удельный объём стромы и новообразованных сосудов в 1 мм² среза опорно-двигательной культуры глазного яблока у экспериментальных животных в зависимости от вида имплантата, $M \pm m$

Срок наблюдения	Удельный объём стромы, %			Удельный объём сосудов, %		
	Группа экспериментальных животных					
	1-я группа (n = 6)	2-я группа (n = 6)	3-я группа (n = 6)	1-я группа (n = 6)	2-я группа (n = 6)	3-я группа (n = 6)
7-е	0,16 ± 0,10	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,005	0,040 ± 0,027	0,020 ± 0,014	0,010 ± 0,006
14-е	95,00 ± 2,10 $p_1 = 0,0002$ $p_2 = 0,0001$	0,30 ± 0,14	0,20 ± 0,11	5,00 ± 2,10 $p_1 = 0,04$ $p_2 = 0,03$	0,04 ± 0,03	0,02 ± 0,01
21-е	79,1 ± 3,4 $p_2 = 0,005$	94,7 ± 1,9	5,3 ± 1,9	20,9 ± 3,1 $p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,003$	5,3 ± 1,9	2,2 ± 1,2

Примечание. p_1 – Уровень значимости различий по сравнению со 2-й группой; p_2 – уровень значимости различий по сравнению с 3-й группой; n – число животных в группе

У крыс 3-й группы с орбитальным имплантатом из биоматериала объём стромы опорно-двигательной культуры глаза на 21-е сутки после операции был ниже в 14,9 раза по сравнению с показателями 1-й группы ($p = 0,005$) и в 17,9 раза – по сравнению с показателями 2-й группы ($p = 0,003$) (см. Таблицу 2).

Численная плотность новообразованных сосудов в опорно-двигательной культуре глазного яблока у животных 1-й группы, начиная с 14-х суток после эвисцероэнуклеации с имплантацией тканеинженерной конструкции и до завершения эксперимента (21-е сутки), статистически значимо превышала таковую у крыс остальных групп (см. Таблицу 2). Так, на 14-е сутки после операции у крыс 1-й группы в опорно-двигательной культуре глазного яблока обнаруживались новообразованные сосуды с признаками дифференцировки в артериолы и венулы. У животных 2-й группы на этом же сроке эксперимента визуализировались тонкостенные капилляры.

На 21-е сутки после операции у крыс 1-й группы численная плотность новообразованных сосудов в 4,0 раза была статистически значимо выше таковой у животных 2-й группы ($p = 0,001$), и в 9,8 раза выше ($p = 0,0003$), чем у животных 3-й группы (см. Таблицу 2).

При этом у крыс 1-й группы в опорно-двигательной культуре глаза регистрировались множественные новообразованные артериолы и венулы, что также указывает на созревание соединительной ткани. Во 2-й и 3-й группах животных определялось небольшое число новообразованных сосудов, которые начинали дифференцировку в артериолы и венулы, что указывает на незрелость соединительной ткани в опорно-двигательной культуре глаза.

Таким образом, результаты проведённого нами экспериментального исследования показывают, что дополнительное введение аутологичных мононуклеарных клеток крови в структуру имплантата из никелида титана после эвисцероэнуклеации способствует ускоренному созреванию соединительной ткани в опорно-двигательной культуре глаза, обеспечивая прочную фиксацию имплантата в склеральном мешке и снижая риск его отторжения.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Благодаря достижениям современной офтальмологии лечение многих тяжёлых заболеваний органа зрения становится всё более эффективным, однако в ряде случаев, несмотря на проводимые лечебные мероприятия, не удается сохранить глазное яблоко [4].

Необходимо отметить, что около 75% энуклеаций выполняются без формирования опорно-двигательной культи и имплантации орбитального вкладыша [4, 57]. Это приводит к развитию анофтальмического синдрома. Клиническая картина данного осложнения характеризуется западением орбитопальпебральной борозды, деформацией век, птозом и неполным смыканием глазной щели [127, 208].

Лечение анофтальмического синдрома представляет собой трудоёмкий и многоэтапный процесс, направленный на восстановление объёма конъюнктивальной полости и других анатомических структур, а также восполнение дефицита объёма тканей орбиты с помощью имплантата из инертного биосовместимого материала. К настоящему времени имеется целый ряд материалов для орбитальной имплантации. Некоторые из них, такие как хрящ, гидроксиапатит, углеродные композиты, достаточно широко применяются в офтальмохирургии, другие же, например, тантал, керамика, гидрогель, силикон, имеют ограниченное применение, как из-за высокой стоимости имплантата, так и большого числа осложнений [41, 57].

На современном этапе повысился интерес офтальмохирургов к пористым материалам, структура которых обеспечивает достаточно быстрое врастание окружающих тканей, способствуя, тем самым, прочной фиксации имплантата в орбите. Однако и при применении пористых материалов нередко возникают такие осложнения, как обнажение имплантата, его инфицирование и отторжение, особенно в отдалённые сроки после операции. Возможное решение проблемы – использование при орбитальной имплантации клеточных технологий, которые в последние десятилетия активно применяются в медицине и представляют собой

трансплантацию ауто-, алло- или ксеногенных живых клеток с целью стимуляции процессов регенерации поврежденной ткани [50, 67, 92, 94, 125, 164].

Целью настоящего исследования явилось изучение в эксперименте *in vivo* морфологических особенностей формирования опорно-двигательной культи глазного яблока у крыс с помощью тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови.

При сравнительном анализе результатов эксперимента установлено, что имплантация в орбитальную полость крыс тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеаров крови способствует более интенсивному по сравнению с другими видами имплантатов развитию соединительной ткани и неоваскулогенезу. Так, результаты световой и электронной микроскопии у животных 1-й группы с имплантатом из тканеинженерной конструкции показали начало созревания соединительной ткани на 7-е сутки после оперативного вмешательства. Межклеточное вещество состояло из рыхло расположенных пучков коллагеновых фибрилл, между которыми обнаруживались новообразованные капилляры с широким просветом.

В то же время у животных 2-й группы с имплантатом из никелида титана на 7-е сутки после операции, по данным световой и электронной микроскопии, в полости опорно-двигательной культи глазного яблока в межклеточном веществе обнаруживались ориентированные в разных направлениях тонкие коллагеновые фибриллы, а также единичные новообразованные сосуды.

У животных 3-й группы с имплантатом из подкожно-жировой клетчатки подошвы человека на 7-е сутки после оперативного вмешательства в полости опорно-двигательной культи глаза ультраструктурные характеристики показали преобладание адипоцитов, между которыми обнаруживались пучки коллагеновых фибрилл со слабо выраженной направленностью и единичные микрососуды.

Таким образом, на 7-е сутки эксперимента в 1-й группе животных с имплантатом из тканеинженерной конструкции началось формирование

соединительной ткани. При этом численная плотность фибробластов у животных 1-й группы статистически значимо в 3,2 раза превышала данный значения данного показателя у животных 2-й группы и в 3,3 раза – у животных 3-й группы ($p < 0,05$).

Имплантация никелида титана в различные органы и ткани, а также его влияние на процессы созревания соединительной ткани активно изучаются в последние десятилетия. Например, при использовании сетчатого имплантата из никелида титана для замещения пострезекционного дефекта перикарда, диафрагмы и грудной стенки, Г.Ц. Дамбаев и соавт. (2012) в эксперименте наблюдали на 7-е сутки после операции асептическое воспаление, проявляющееся морфологически повышенным скоплением лейкоцитов, незначительным отёком и очагами кровоизлияний [79].

А. Н. Стеблюк и Г. М. Могильная (2012), изучая морфологические изменения тканей глаза при имплантации никелида титана в экспериментах на кроликах, выявили на 7-е сутки после операции умеренную воспалительную реакцию с переходом в стадию формирования грануляционной ткани с элементами лимфоидно-макрофагального типа [93].

Д. Н. Корнилов и соавт. (2014) изучали особенности формирования рубца при использовании шовного материала на основе никелида титана при повреждении сухожилий в эксперименте на крысах. На 7-е сутки после операции они выявили образование рыхлой соединительной ткани с высокой плотностью активных ориентированных фибробластов и коллагеновых нитей, формирующих капсулу вокруг никелида титана [81].

Таким образом, во многих исследованиях с использованием никелида титана было установлено, что на 7-е сутки после операции начинается формирование соединительной ткани.

На 14-е сутки нашего исследования после операции у крыс 1-й группы было выявлено статистически значимое увеличение численности фибробластов в 22 раза по сравнению с наблюдаемым у животных 2-й группы ($p = 0,0001$). Данные световой и электронной микроскопии показали обширное разрастание

волокнистой соединительной ткани с более упорядоченным по сравнению с 7-ми сутками расположением коллагеновых волокон, вокруг которых обнаруживались зрелые фибробласты веретенообразной и звёздчатой формы, а также множественные новообразованные артериолы и венулы, что косвенно указывает на созревание соединительной ткани.

У животных 2-й группы на 14-е сутки эксперимента в межклеточном веществе обнаруживались слабо упорядоченные коллагеновые фибриллы, между которыми выявлялись тонкостенные капилляры, единичные артериолы и венулы, что указывает на формирование соединительной ткани.

У животных 3-й группы на этом сроке исследования, по результатам световой и электронной микроскопии, в полости опорно-двигательной культуры глаза преобладали адипоциты, между которыми располагались неупорядоченные пучки коллагеновых волокон, единичные новообразованные сосуды, что свидетельствует формирование соединительной ткани между жировыми клетками.

Изучая тканевые реакции при использовании никелида титана в других органах и тканях, профессор Г.Ц. Дамбаев и соавт. (2012) в экспериментальном исследовании обнаружили на 14-е сутки после операции тканевой регенерат вокруг имплантата из никелида титана, который был представлен рыхлой неоформленной соединительной тканью с умеренным количеством фибробластов и фибробластоподобных клеток, коллагеновыми волокнами с тенденцией к перпендикулярному строению [79]. В исследовании, проведённом Д. Н. Корниловым и соавт (2014) на крысах, в эти же сроки после операции вокруг нити из никелида титана сформировалась капсула, представленная плотной соединительной тканью с компактным расположением ориентированных коллагеновых волокон [81].

С. В. Надеждин и соавт. (2016) в эксперименте на крысах *in vivo* изучали биосовместимость имплантата из никелида титана с тканями организма животных. На 14-е сутки после операции вокруг имплантата сформировался соединительнотканый каркас, выявлены толстые коллагеновые волокна, расположенные упорядоченно, плотные слои фибробластов [73].

Таким образом, на 14-е сутки после операции, по данным многих исследований с использованием никелида титана, формируется рыхлая соединительная ткань.

На 21-е сутки после операции ультраструктурные характеристики соединительной ткани у животных 1-й группы показали в межклеточном веществе толстые пучки коллагеновых волокон, которые располагались компактно и упорядоченно. Между волокнами – множественные новообразованные артериолы и венулы. Вокруг имплантата из никелида титана выявлялись мелкоочаговые скопления мононуклеарных клеток, разделённые участками фиброзной ткани. Численная плотность новообразованных сосудов у животных 1-й группы на этом сроке эксперимента была статистически значимо в 4,0 раза выше, чем у животных 2-й группы ($p = 0,001$), и в 9,8 раза выше по сравнению со значениями этого показателя у животных 3-й группы ($p = 0,003$). Это объясняется ускоренной дифференцировкой эндотелиоцитов под влиянием экзогенно введённых мононуклеаров крови.

Таким образом, по результатам морфометрических и гистологических исследований, у животных 1-й группы с тканеинженерной конструкцией из никелида титана и суспензией аутологичных мононуклеарных клеток крови к 21-м суткам после операции формируется плотная неоформленная соединительная ткань (толстые, упорядоченно расположенные пучки коллагеновых волокон, множественные новообразованные артериолы и венулы) в опорно-двигательной культе глаза.

У животных 2-й группы с имплантатом из никелида титана на 21-е сутки после операции межклеточное вещество было представлено небольшим количеством тонких коллагеновых фибрилл, ориентированных продольно. Между ними – небольшое число новообразованных сосудов, которые начинали преобразовываться в артериолы и венулы. Таким образом, у животных 2-й группы на 21-е сутки после операции в опорно-двигательной культе глаза, по данным световой и электронной микроскопии, обнаруживались признаки незрелости соединительной ткани.

В 3-й группе крыс с имплантатом из подкожно-жировой клетчатки подошвы человека результаты световой и электронной микроскопии выявили некротические деструктивные изменения имплантата на 21-е сутки после операции. В клеточном составе опорно-двигательной культы глазного яблока преобладали клетки с выраженной деструкцией мембран митохондрий, множественными аутофагосомами, в ядрах клеток – кариорексис, гиперконденсация хроматина. Между клетками определялись тонкие, хаотично расположенные пучки коллагеновых волокон. Таким образом, морфометрические и гистологические исследования выявили дистрофические и некротические изменения биоматериала в опорно-двигательной культе глаза. Мы предполагаем, что деструктивные изменения в клетках происходят вследствие недостатка кровоснабжения центральных отделов трансплантата.

Формирование зрелой соединительной ткани вокруг имплантата из никелида титана через 3–4 недели после оперативного вмешательства подтверждается также другими исследованиями. Так, в эксперименте было показано, что при замещении пострезекционных дефектов анатомических структур грудной клетки сетчатым имплантатом из никелида титана на 30-е сутки после операции выявлено активное развитие соединительной ткани с прорастанием имплантата коллагеновыми волокнами, новообразованными сосудами. Коллагеновые волокна располагались упорядоченно и формировали пучки [79].

Ю. М. Ирьянов и соавт. (2017) при использовании сетчатых имплантатов из никелида титана отметили прочную фиксацию имплантата на 21-е сутки после операции. Рост соединительной ткани происходил во всей конструкции, обеспечивая полную интеграцию его элементов [56].

Результаты нашего экспериментального исследования показали, что у крыс 1-й группы с имплантатом из тканеинженерной конструкции объясняются как непосредственным введением аутологичных мононуклеаров крови в структуру пористого имплантата из никелида титана, так и дополнительной миграцией клеток данной популяции вследствие секреции цитокинов экзогенно введенными мононуклеарами.

К мононуклеарным клеткам относятся лимфоциты (Т-, В- и НК-клетки), моноциты и дендритные клетки. Частота встречаемости этих популяций варьирует у разных людей [101]. По данным А. Miyahira (2012), среди мононуклеарных клеток крови лимфоциты составляют 70–90%, моноциты – 10–30%, дендритные клетки – только 1–2%. При этом в популяции лимфоцитов Т-клетки составляют 70–85%, В-клетки – 5–20% и НК-клетки – 5–20% [141].

Общепризнанно, что аутологичные мононуклеары крови играют центральную роль, как в воспалении, так и защите организма, а также являются ключевыми регуляторами восстановления и регенерации тканей [52, 55, 169]. Так, А. Medina и соавт. (2007) в своём исследовании выявили, что мононуклеарные клетки крови в условиях, созданных для фибробластов, стимулируют секрецию коллагена и способствуют созреванию соединительной ткани [212].

N. Nami с соавт. (2016) показали в исследовании, что при повреждении тканей происходит активация мононуклеарных клеток, которая приводит к повышению секреции VEGF, bFGF и IL-10, что, в свою очередь, способствует регенерации поврежденной ткани [134].

R. Yoshida и M. M. Murray (2013) в ходе проведённого исследования изучали стимулирующее влияние мононуклеаров крови на фибробласты. Они выявили, что мононуклеарные клетки, стимулируя секрецию цитокинов, приводят к увеличению экспрессии проколлагена I и III типов, коллагенового белка фибробластами и пролиферации клеток, что способствует созреванию соединительной ткани [222].

Разнообразие, неоднородность и пластичность являются отличительными признаками и важными характеристиками клеток линии моноцитов и макрофагов [169].

Цитокины и факторы роста, секретлируемые аутологичными мононуклеарными клетками, управляют различными процессами, начиная от регуляции локального и системного воспаления до клеточной пролиферации, хемотаксиса и регенерации тканей [106, 120].

Мы предполагаем, что при имплантации конструкции из никелида титана в орбитальную полость крыс с дополнительным введением аутологичных моноклеарных клеток крови в структуру имплантата в культуре глазного яблока ускоряется смена клеточных фаз воспаления и его переход в фазу регенерации. Моноклеары крови секретируют про- и противовоспалительные цитокины (Рисунок 68). Под влиянием фактора некроза опухолей α (TNF α) и интерферона γ (IFN γ) происходит активация M1 макрофагов. Они, секретируя провоспалительные цитокины IL-1, IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ , тромбоцитарный фактор роста (PDGF) [7, 71, 89, 203, 20], приводят к активации фибробластов в очаге воспаления [116, 172, 209, 221]. Попадая в поток тканевой жидкости и фиксируясь цитоскелетом к элементам внеклеточного матрикса, фибробласты начинают процесс фиброгенеза, включающий синтез и выделение в межклеточную среду белков – коллагена и эластина, а также гликозаминогликанов, из которых внеклеточно осуществляются образование различных типов волокон и аморфного вещества, синтез и секреция коллагена и других компонентов матрикса [59, 221]. IL-8 стимулирует фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), способствуя пролиферации, миграции и выживанию эндотелиальных клеток [244]. Тромбоцитарный фактор роста PDGF является мощным стимулом для восстановления тканей, активирует пролиферацию фибробластов, усиливает выработку коллагена [7, 47, 59].

Кроме того, моноклеарные клетки секретируют противовоспалительные цитокины, такие как IL-4, IL-10, IL-13, трансформирующий фактор роста β (TGF β) и VEGF, которые играют решающую роль в неоваскулогенезе и регенерации тканей, а также в пролиферации и дифференцировке клеток, синтезе макромолекул межклеточного вещества (Рисунок 68) [47, 169, 188, 221].

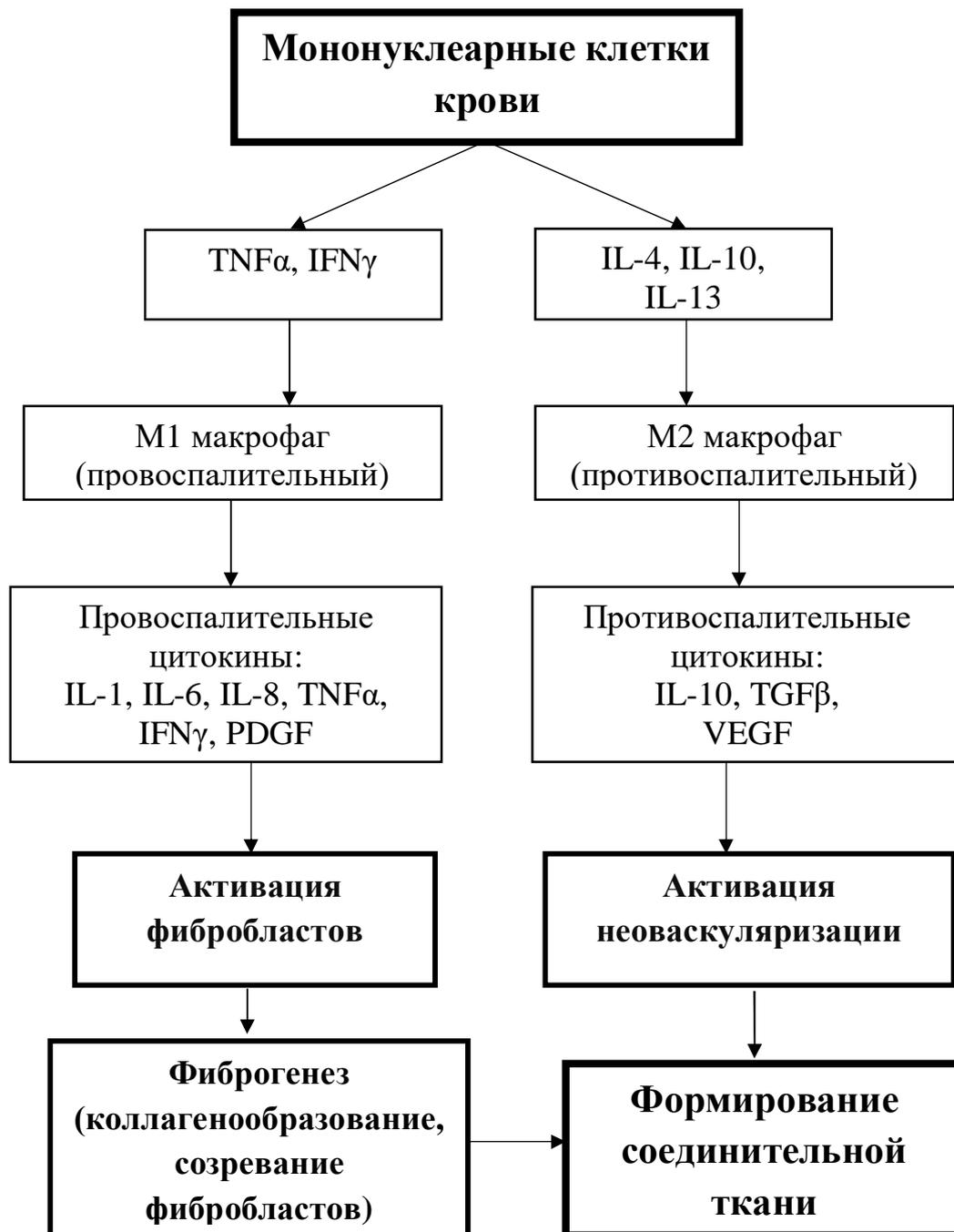


Рисунок 68 – Участие мононуклеарных клеток крови в формировании соединительной ткани (с учётом данных R. Yoshida и M. M. Murray (2013) [222]; A. L. Mescher (2017) [172])

Ангиогенез – сложный процесс формирования новых кровеносных сосудов – является важным аспектом репаративных процессов. Основным регулятором ангиогенеза выступает фактор роста эндотелия сосудов VEGF,

который увеличивает проницаемость сосудистой стенки, избирательно активирует эндотелиальные клетки, контролирует их миграцию [63, 156]. TGF β стимулирует синтез белков внеклеточного матрикса, способствуя укреплению стенки новообразованных сосудов [195]. Восстановление кровотока в повреждённых тканях обеспечивает последние кислородом и питательными веществами, необходимыми для поддержки роста и функции репаративных клеток [156, 196] (см. Рисунок 68).

В качестве имплантата для создания тканеинженерной конструкции при формировании опорно-двигательной культуры глаза у крыс линии Wistar в работе использовался пористый никелид титана, который является биосовместимым материалом с эффектом памяти формы и сверхэластичностью. Он способен полностью возвращать исходные состояния после больших (до 10–12%) деформаций, что делает его наиболее подходящим материалом для инженерно-медицинских конструкций [28].

Высокая коррозионная стойкость никелида титана в биологических средах является показателем его хорошей биохимической совместимости, так как минимизирует высвобождение ионов никеля из сплава. На поверхности сплава происходят слабые ионные реакции благодаря оксидной пленке TiO₂ толщиной 10 мкм, которая защищает переход ионов через межфазную поверхность [27]. После имплантации данного сплава в различные органы и ткани на его поверхности адсорбируются кальций и фосфор с образованием фосфатной пленки, близкой по составу к апатиту [29].

Необходимо отметить, что никелид титана не оказывает негативного влияния на живые ткани и не деградирует от их воздействия. Физико-механические свойства этого материала максимально близки к таковым тканей организма, с которыми он функционально взаимодействует, обеспечивая опорную и структурообразующую функцию в поврежденном органе [27, 43].

Никелид титана применяется в России в медицинской практике с 1980 г. Сплав полностью соответствует стандартам Министерства здравоохранения РФ, предъявляемым к имплантатам, устойчив к дезинфекции и стерилизации в

различных режимах [16]. Химическая и термическая стерилизация никелида титана не вызывает его механических повреждений и не изменяет его коррозионную устойчивость [16].

P. Gill с соавт. (2015), изучая коррозионную стойкость никелида титана, выявили, что защитный слой TiO_2 улучшает клеточную адгезию и эндотелизацию, снижает риск чувствительности к никелю и повышает биосовместимость материала [207].

Chu C. L. с соавт. (2009) обнаружили, что оксидная пленка TiO_2 подавляет выщелачивание никеля из сплава во время 10-недельного испытания [173].

Yang D. и соавт. (2014) в ходе экспериментального исследования выявили, что оксидная пленка TiO_2 не только эффективно предотвращает высвобождение ионов никеля из сплава, но также способствует формированию очаговой адгезии, усилению энергетического обмена [210].

Перспективное применение никелида титана – это клеточная и тканевая инженерия. Пористый никелид титана может служить матриксом для клеточной суспензии в тканеинженерной конструкции, быть своего рода биоинкубатором, играющим роль каркаса и термостабильной системы, обеспечивающей питание клеткам, стимулирующим регенерацию повреждённых тканей и защиту от иммунологической реакции организма [125, 196].

Преимущества использования никелида титана в качестве материала для имплантата и способность данного сплава стимулировать репаративные процессы изучали многие авторы. В ходе различных экспериментов микропористая поверхность никелида титана обеспечивала адгезию и прорастание клеток. В местах контакта со сплавом отсутствовали признаки деструкции и некроза тканей, а также биологическая реакция отторжения на имплантат. Установлено, что новообразованная ткань прорастает сквозь материал, формируя регенерат, восстанавливая анатомо-физиологическое строение поврежденной области (Рисунок 69).



Рисунок 69 – Формирование соединительной ткани при имплантации никелида титана (с учётом данных А. Н. Стеблюк, Г. М. Могильной (2012) [93], J. Rouwkema, A. Khademhosseini (2016) [196])

Таким образом, имплантат из никелида титана показал высокую биосовместимость, возможность длительного пребывания в организме с минимальными изменениями окружающих тканей, отсутствие осложнений в виде отторжения, инфицирования материала [68, 73, 79, 81, 93, 110, 111].

В нашем исследовании использовался имплантат из пористого никелида титана, так как для формирования опорно-двигательной культы глазного яблока имплантационный материал должен обладать высокой биосовместимостью, возможностью длительного пребывания в организме без развития реакции отторжения, способностью стимулировать процессы регенерации поврежденной ткани, обеспечивать опорную и структурообразовательную функцию, вызывать минимальные изменения окружающих тканей.

Анализируя все вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что имплантация в эксперименте *in vivo* тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных мононуклеарных клеток крови обеспечивает эффективное формирование опорно-двигательной культы глазного яблока. Имплантат из никелида титана надёжно фиксируется в орбитальной полости благодаря прорастанию соединительной ткани, стабильно поддерживая форму опорно-двигательной культы глазного яблока. Хорошо переносится тканями глаза, отсутствует смещение, обнажение, отторжение имплантата. Кроме того, он служит матриксом для аутологичных мононуклеарных клеток крови, которые, фиксируясь к имплантату, запускают процессы пролиферации и дифференцировки клеток, что способствует созреванию соединительной ткани (см. Рисунок 69).

Результаты проведённого нами исследования подтверждают возможность применения тканеинженерной конструкции из никелида титана для формирования опорно-двигательной культы глаза, а аутологичных мононуклеарных клеток крови – для ускоренного созревания соединительной ткани и обеспечения прочной фиксации имплантата в опорно-двигательной культе глазного яблока.

ВЫВОДЫ

1. Течение воспалительно-репаративной реакции при формировании опорно-двигательной культы глаза в эксперименте *in vivo* с применением тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови характеризуется быстрым переходом воспаления в стадию регенерации с ускоренной дифференцировкой фибробластов и эндотелиоцитов.

2. Формирование опорно-двигательной культы глаза в эксперименте *in vivo* с помощью тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови характеризуется более интенсивным коллагенообразованием и преобладанием стромального компонента культы, а также индуцирует ангиогенез и более выраженное увеличение численной плотности сосудов культы по сравнению с таковыми при использовании имплантата из никелида титана и биоматериала из подкожно-жировой клетчатки.

3. Ускоренное (с 14-х суток) созревание соединительной ткани и интенсивный рост сосудов при формировании опорно-двигательной культы глазного яблока с помощью тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови обеспечивают прочную фиксацию имплантата и стабильную форму культы глаза в эксперименте *in vivo*.

4. Применение тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови в качестве имплантата при формировании опорно-двигательной культы глазного яблока в эксперименте *in vivo* характеризуется отсутствием интра- и послеоперационных осложнений в виде обнажения и отторжения имплантата, присоединения вторичной инфекции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЭПС – эндоплазматическая сеть

FGF – fibroblast growth factor (фактор роста фибробластов)

IL – interleukin (интерлейкин)

INF γ – interferon γ (интерферон γ)

TNF α – tumor necrosis factor α (фактор некроза опухолей α)

VEGF – vascular endothelial growth factor (фактор роста эндотелия сосудов)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакаева, Т. В. Материалы, применяемые в хирургии орбиты / Т. В. Бакаева, Я. О. Груша // Вестник офтальмологии. – 2010. – №2. – С. 46–50.
2. Балашова, П. М. Посттравматическая энуклеация глазного яблока среди взрослого населения Красноярского края / П. М. Балашова, В. Т. Гололобов, Е.В. Козина и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – Том 61, №3. – С. 36–39.
3. Бараш, А. Н. Медико-социальные проблемы при анофтальмическом синдроме / А.Н. Бараш, Т.М. Шаршакова, Г.Ф. Малиновский // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – Том 44, №2. – С. 4–7.
4. Бараш, А. Н. Медицинская, социальная и экономическая эффективность метода формирования опорно-двигательной культуры для глазного протеза при эвисцерации / А. Н. Бараш, Т. М. Шаршакова, Г. Ф. Малиновский // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. – 2018. – № 1. – С. 102–106.
5. Березовская, А. А. Использование имплантатов на основе никелида титана при лечении тяжелых отслоек сетчатки : автореф. диссертации ... кандидата медицинских наук : 14.00.08 / А. А. Березовская ; научн. рук. И. В. Запускалов. – Красноярск, б. и., 2001. – 24 с.
6. Бессонова, Л. А. Клиническое наблюдение отторжения имплантата «Карботекстим-М» в отдаленном послеоперационном периоде / Л. А. Бессонова, Т. И. Полтанова // Точка Зрения. Восток – Запад. – 2014. – №2. – С. 21–22.
7. Бикбов, М. М. Цитокины в офтальмологии / М. М. Бикбов, Н. Е. Шевчук, В. Б. Мальхамов. – Уфа, 2008. – 152 с.
8. Бойко, Э. В. Органосохранная хирургия при тяжелой травме глаза / Э. В. Бойко, Д. В. Шамрей // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2011. – Том 6, №3. – С. 105–110.
9. Васильев, А. В. «Дорожная карта» регенеративной медицины / А. В. Васильев, М. Батин // Гены и клетки. – 2010. – Том 5, №2. – С. 89–90.

10. Введение в методы культуры клеток, биоинженерии органов и тканей / В. П. Шахов, И. А. Хлусов, Г. Ц. Дамбаев и др. – Томск: STT, 2004. – 386 с. – ISBN 5-93629-147-2.
11. Вериго, Е. Н. Исторические аспекты глазного протезирования / Е. Н. Вериго, В. А. Тучин, И. А. Пряхина // Вестник офтальмологии. – 2012. – №5. – С. 44–47.
12. Вериго, Е. Н. Психологические аспекты в реабилитации пациентов с анофтальмом / Е. Н. Вериго, Р. А. Гундорова, И. А. Пряхина // Офтальмология. – 2012. – Том 9, №3. – С. 81–85.
13. Вериго, Е. Н. Сравнительная характеристика подвижности культи и протеза в зависимости от метода удаления глазного яблока / Е. Н. Вериго, Р. А. Гундорова, Е. П. Садовская // Российский офтальмологический журнал. – 2012. – Том 5, №2. – С. 14–19.
14. Вериго, Е. Н. Травматическая патология как одна из основных причин удаления глазного яблока / Е. Н. Вериго, Е. П. Садовская, Н. В. Лаврентьева // Сборник научных трудов III Офтальмологического форума. – Москва, 2010. – С. 38–42.
15. Вильям, Д. Ф. Имплантаты в хирургии : пер. с англ. / Д. Ф. Вильям, Р. Роуф. – Москва : Медицина, 1978. – 552 с.
16. Влияние условий стерилизации на прочностные свойства пористых титана и никелида титана / Е. Н. Коростелева, М. З. Миргазизов, Р. Ю. Абдулсабиров и др. // Проблемы нейростоматологии и стоматологии. – 1998. – № 2. – С. 23–25.
17. Вопросы эпидемиологии и реабилитации лиц с анофтальмом на территории Российской Федерации / Р. А. Гундорова, Е. Н. Вериго, М. П. Харлампики и др. // Вестник офтальмологии. – 2007. – №3. – С. 42–46.
18. Галимова, Л. Ф. Косметические результаты хирургического лечения посттравматической субатрофии глазного яблока с применением биоматериалов «Аллоплант» и с последующим протезированием / Л. Ф. Галимова, Э. Р. Мулдашев, С. А. Муслимов и др. // Вестник офтальмологии. – 2000. – Том 116, №6. – С. 28–31.

19. Глазопротезирование пациентов с посттравматической субатрофией глазного яблока / Л. М. Цурова, О. В. Братко, И. Г. Татаренко и др. // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – Том 11, №1 (61). – С. 99–101.
20. Грачев, Н. Н. Новые возможности повышения косметического эффекта протезирования после энуклеации / Н. Н. Грачев, С. Ф. Васильева // Глазное протезирование и пластическая хирургия в области орбиты : сборник научных трудов. – Москва, 1987. – С. 56–58.
21. Григорьев, Д. В. Клиническое обоснование возможности формирования опорно-двигательной культи глазного яблока имплантатом из политетрафторэтилена при задней эквисцерации / Д. В. Григорьев, А. Н. Куликов, С. В. Сосновский // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2011. – №3. – С. 90–91.
22. Груша, Я. О. Сравнительное экспериментальное исследование современных имплантационных материалов, применяемых в хирургии орбиты / Я. О. Груша, А. А. Федоров, Т. В. Бакаева // Вестник офтальмологии. – 2012. – Том 128, №2. – С. 27–33.
23. Гундорова, Р.А. Значение психологической подготовки больного при показаниях к удалению глазного яблока / Р.А. Гундорова, П.В. Лазук // Восстановительное лечение при последствиях особо тяжелых повреждений органа зрения, полученных в чрезвычайных ситуациях : Материалы науч.-практ. конф. – Москва, 2002. – С. 5–6.
24. Гундорова, Р. А. Осложнения тяжелых проникающих ранений, показания и способы удаления глазного яблока : пособие для врачей / Р. А. Гундорова, Е. Н. Вериги, Л. Т. Архипова. – Москва, 2002. – 30 с.
25. Гундорова, Р. А. Энуклеация с хрящевым имплантатом / Р. А. Гундорова, М. Г. Катаев // Глазное протезирование и пластическая хирургия в области орбиты : сборник научных работ. – Москва, 1987. – С. 48–50.
26. Гущина, М. Б. Хирургический подход к косметической реабилитации пациентов с анофтальмом / М. Б. Гущина, В. М. Треушников, В. В. Треушников // Визит к офтальмологу. – 2007. – №8. – С. 11–16.

27. Гюнтер, В. Э. Закономерности деформационного поведения металлических медицинских материалов и имплантатов / В. Э. Гюнтер // Сборник трудов Международной конференции «Материалы и имплантаты с памятью формы в медицине». – Томск : НПП МИЦ, 2014. – С. 7–16.
28. Гюнтер, В. Э. Медицинские материалы и имплантаты с памятью формы : (в 14 т.). Т. 1 / НИИ мед. материалов и имплантатов с памятью формы Сиб. физ.-техн. ин-та при Том. гос. ун-те ; под ред. В. Э. Гюнтера. – Томск : Изд-во МИЦ, 2011. – 534 с.
URL: <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Repository/vtls:000432914>
29. Гюнтер, В. Э. Проблемы металловедения в медицине и особенности деформационного поведения сверхэластичных материалов и имплантатов с памятью формы / В. Э. Гюнтер // Имплантаты с памятью формы. – 2012. – № 1-2. – С. 98–109.
30. Давыдов, Д. В. Гидрогелевые имплантаты в реконструктивно-пластической хирургии орбиты / Д. В. Давыдов, И. В. Решетов, Н. Е. Копылова и др. // IV Российский симпозиум по рефракционной и пластической хирургии глаза. – Москва, 2002. – С. 213–215.
31. Даниленко, А. С. Эвисцерация глаза с использованием вкладыша из керамического гидроксиапатита и мембран «Тутопласт» / А. С. Даниленко // VIII съезд офтальмологов России : Тезисы докладов. – Москва, 2005. – С. 644–645.
32. Динамика энуклеаций при глаукоме в сравнении с другими нозологиями за последние одиннадцать лет / О. С. Коновалова, Н. Г. Мальцев, Н. А. Коновалова и др. // Вестник ТГУ. – 2015. – Т. 20, №3. – С. 615–618.
33. Длительная нормотермическая консервация лимбальных трансплантатов как способ повышения количества и активности ММСК-подобных лимбальных клеток / С. А. Борзенко, Н. А. Онищенко, Х. Д. Тонаева и др. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Том 14, №2. – С. 77–85.

34. Дрянова, Ю. С. Формирование культуры после энуклеации / Ю.С. Дрянова, Р.Г. Валеева, Е.В. Гудкова // Вестник офтальмологии. – 1990. – №6. – С. 28–29.
35. Душин, Н. В. Проблемы формирования опорно-двигательной культуры при удалении глазного яблока / Н. В. Душин, В. Ю. Иванов, В. В. Шклярчук // Вестник офтальмологии. – 2006. – №2. – С. 36–42.
36. Евсеев, И. С. Перспективы применения тканеинженерных конструкций для восстановления структуры поврежденной склеры / И. С. Евсеев, И. В. Видяшева, Н. В. Петрова // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2014. – Том 4, №4. – С. 306.
<https://medconfer.com/files/archive/2014-04/2014-04-1149-T-3514.pdf>
37. Елисеев, В. Г. Основы гистологии и гистологической техники / В. Г. Елисеев, М. Я. Субботин. – Москва : Медицина, 1967. – 268 с.
38. Ибрагимзаде Г. Т. Формирование опорно-двигательной культуры при различных стадиях субатрофии / С. М. Аскерова, Г. Т. Ибрагимзаде // Альманах клинической медицины. 2011. №25.
<https://cyberleninka.ru/article/n/formirovanie-oporno-dvigatelnoy-kulti-pri-razlichnyh-stadiyah-subatrofii>.
39. Иванов, В. В. Современные проблемы создания мобильной культуры для косметического протезирования глаза / В. В. Иванов // Сибирское медицинское обозрение. – 2009. – № 4. – С. 15–20.
40. Иванов, Д. В. Клеточные технологии в восстановительной медицине : Монография / Под ред. А. Н. Лищука. – Тула : Тульский полиграфист, 2011. – 180 с.
41. Иволгина, И. В. Особенности применения различных имплантатов при формировании опорно-двигательной культуры после энуклеации / И. В. Иволгина // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2015. – Том 20, №3. – С. 577–579.
<https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-primeneniya-razlichnyh-implantatov-dlya-formirovaniya-oporno-dvigatelnoy-kulti-posle-enukleatsii-i-analiz-rezultatov>

42. Изучение безопасности и эффективности применения имплантата из пористого политетрафторэтилена при задней эквисцерации для формирования опорно-двигательной культы глазного яблока / Д. В. Григорьев, А. Н. Куликов, С. А. Повзун и др. // Профилактическая и клиническая медицина. – 2012. – № 1. – С. 44–47.
43. Имплантат носитель клеточного материала из пористого проницаемого титана / В. И. Итин, Г. А. Прибытков, И. А. Хлусов и др. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2006. – Том 5, №3. – С. 59–63.
44. Исследование пространственной структуры и биоинтегративных характеристик орбитальных пористых имплантационных материалов / Я. О. Груша, А. А. Федоров, П. Ю. Баранов и др. // Вестник офтальмологии. – 2010. – Том 126, №5. – С. 9–13.
45. Канюков, В. Н. Современные возможности профилактики и лечения травматической субатрофии глазного яблока у детей с применением биоматериала «Аллоплант» / В. Н. Канюков, Ж. Х. Санеева // Точка зрения. Восток–Запад : сборник научных трудов. – Уфа, 2015. – С. 228.
46. Карупу, В. Я. Электронная микроскопия / В. Я. Карупу. – Киев : Вища школа, 1984 . – 208 с.
47. Кетлинский, С. А. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции реакции воспаления и иммунитета / С. А. Кетлинский, Н. М. Калинина // Иммунология. – 1995. – № 5. – С. 30–37.
48. Клеточные технологии, клеточная терапия в офтальмологии – состояние и перспективы / А. В. Киселев, С. Н. Сахнов, А. Г. Заболотный и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – №5. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28062>.
49. Клинико-морфологические особенности использования ксеноперикарда при пластике век и орбиты / Я. О. Груша. А. А. Федоров, В. В. Дземешкевич, И. В. Блинова // Вестник офтальмологии. – 2004. – №5. – С. 19–21.
50. Коллагеновый имплантат и мононуклеарные клетки пуповинной крови позволяют восстановить движение задних конечностей после удаления

- участка спинного мозга / С. И. Рябов, М. А. Звягинцева, Е. О. Осидак и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. – Том 164, №9. – С. 377–380.
51. Красильникова В. Л. Анализ трансплантационных материалов, используемых для создания опорно-двигательной культи глазного протеза при анофтальме // Вестник ВГМУ. 2005. №4. <https://cyberleninka.ru/article/n/analiz-transplantatsionnyh-materialov-ispolzuemyh-dlya-sozdaniya-oporno-dvigatelnoy-kulti-glaznogo-proteza-pri-anoftalme/>
52. Кривошеина, О. И. Патогенетические особенности развития пролиферативной витреоретинопатии / О. И. Кривошеина, И. В. Запускалов. – Томск : СибГМУ, 2006. – 184 с.
53. Кульбаев, Н. Д. Хирургическая реабилитация больных с анофтальмом на основе применения биоматериалов «Аллоплант» : автореферат диссертации ... кандидата медицинских наук : 14.00.08 / Н. Д. Кульбаев ; научн. рук. В. У. Галимова. – Челябинск, б. и., 2003. – 24 с.
54. Лакин, Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – Москва : Высшая школа, 1990. – 352 с.
55. Левченко, Н. А. Влияние аутологичных мононуклеаров крови на регенераторные процессы при стромальных повреждениях роговицы в эксперименте / Н. А. Левченко, О. И. Кривошеина // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Том 10, № 4. – С. 27–31.
56. Лечение полостного дефекта кости в условиях имплантации сетчатых конструкций из никелида титана / Ю. М. Ирьянов, Н. С. Стрелков, Н. А. Кирьянов и др. // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2017. – Том 12, №2. – С. 152–156.
57. Лузьянина, В. В. Изучение свойств имплантатов для пластики опорно-двигательной глазной культи / В. В. Лузьянина, В. В. Егоров, Г. П. Смолякова // Вестник ОГУ. – 2009. – №12. – С. 84–87.
58. Лузьянина, В. В. Особенности офтальмопластики для глазного протезирования / В. В. Лузьянина // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – Том 61, №3. – С. 32–35.

59. Маянский, Д. Н. Хроническое воспаление / Д. Н. Маянский. – Москва : Медицина, 1991. – 272 с.
60. Медведев, Н. И. Техника создания мобильной культуры после энуклеации / Н. И. Медведев // Вестник офтальмологии. – 1942. – №5. – С. 11–13.
61. Медико-социальные проблемы протезирования / М. И. Разумовский, Л. А. Кожушко, А. М. Разумовская и др. // Медико-социальная экспертиза и реабилитация. – 2014. – №2. – С. 50–53. <https://cyberleninka.ru/article/n/mediko-sotsialnye-problemy-oftalmoprotezirovaniya>.
62. Мезен, Н. И. Стволовые клетки : учеб.-метод. пособие / Н. И. Мезен. – Минск : БГМУ, 2014. – 62 с.
63. Механизмы и факторы ангиогенеза / Е. Н. Шамитова, И. С. Сымулова, М. М. Леванова и др. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – № 9. – С. 30–34.
64. Милюдин, Е. С. Амниопластика в современной офтальмологии / Е. С. Милюдин, А. В. Золотарев // VIII Всеросс. науч.-практич. конф. «Федоровские чтения – 2009». – Москва, 2009. – С. 508–509.
65. Милюдин, Е. С. Применение соединительнотканых аллоплантов в пластической хирургии / Е. С. Милюдин // Избранные вопросы офтальмохирургии : сборник научных трудов. – Самара, 1992. – С. 59–61.
66. Молекулярные механизмы реакции стромальных стволовых клеток и мононуклеарных лейкоцитов крови на кратковременный контакт с искусственными материалами / И. А. Хлусов, К. А. Нечаев, М. В. Дворниченко и др. // Вестник науки Сибири. – 2012. – №1. – С. 321–327.
67. Морфологический анализ биологической совместимости аутологичных костных мононуклеарных клеток с синтетическим каркасом на основе полиэтилентерефталата / И. В. Гилевич, И. С. Поляков, В. А. Порханов и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Том 163, №3. – С. 388–392.
68. Морфологическая характеристика зоны имплантации сетчатого протеза из никелида титана после эзофагокардиопексии в эксперименте / Г. Ф. Петлин,

- Г. Ц. Дамбаев, В. Э. Гюнтер и др. // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2015. – №2. – С. 80–84.
69. Николаенко, В. П. Современные пористые материалы для изготовления орбитальных имплантатов / В. П. Николаенко, Ю. С. Астахов // *Офтальмологические ведомости*. – 2008. – Том 1, №2. – С. 35–40.
70. Основные направления организации службы глазного протезирования / Р. А. Гундорова, Е. Н. Вериги, Е. П. Садовская и др. // *Вестник офтальмологии*. – 2003. – Том 119, №3. – С. 3–6.
<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23494364>
71. Основы клинической цитокинотерапии : учебное пособие / под. ред. В. А. Ситникова, С. Н. Стяжкиной. – Ижевск, 1998. – 68 с.
72. От клеточных технологий к биомедицинским клеточным продуктам: опыт использования препаратов на основе жизнеспособных клеток человека в Российской Федерации / Е. В. Мельникова, О. В. Меркулова, И. В. Борисевич и др. // *Цитология*. – 2018. – Том 60, №4. – С. 231–240.
73. Оценка биосовместимости и биорезистентности заготовок имплантатов из никелида титана с модифицированными наноразмерными поверхностными слоями в опытах *in vivo* / С. В. Надеждин, М. Г. Ковалёва, А. Я. Колпаков и др. // *Биомедицина*. – 2016. – №1. – С. 95–101.
74. Биология стволовых клеток и клеточные технологии : в двух томах. Том 2 / под ред. М. А. Пальцева. – Москва : Медицина, 2009. – 456 с.
75. Первый опыт применения политетрафторэтиленовых имплантатов в глазном протезировании в Рязанской клинике / В. А. Соколов, А. Е. Севостьянов, М. С. Петрова и др. // *Восток – Запад. Точка зрения*. – 2014. – №1. – С. 261–262.
76. Персонализированная клеточная терапия в офтальмологии. I. Метод получения и цитофенотип аутологичного клеточного продукта / С. Э. Аветисов, А. М. Суббот, А. И. Антохин и др. // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2011. – Том 6, №2. – С. 38–42.
77. Пластическая эффективность различных имплантатов при замещении дефектов мягких и костных тканей / Ю. М. Ирьянов, В. Ф. Чернов,

- С. А. Радченко и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155. – № 4. – С. 517-520.
78. Полянская, Н. К. Трансплантация амниотической мембраны в офтальмологии / Н. К. Полянская // Вестник офтальмологии. – 2008. – №2. – С. 60–62.
79. Реакция тканей на сетчатый имплантат из никелида титана после замещения пострезекционных дефектов анатомических структур грудной клетки / Г.Ц. Дамбаев, Е.Б. Топольницкий, Н.А. Шефер и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. – №3. – С. 366–370.
80. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – Москва : МедиаСфера, 2002. – 312 с.
81. Результаты применения сверхэластичного имплантата из никелида титана при повреждении сухожилия в эксперименте, морфологическое обоснование / Д. Н. Корнилов, И. В. Попов, Л. Ю. Раевская и др. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2014. – №3. – С. 21–25.
82. Розанова, И. Б. Биодеструкция имплантатов / И. Б. Розанова // Биосовместимость / под ред. В. И. Севастьянова. – Москва : ИЦВ НИИ геосистем, 1999. – С. 212–242.
83. Роль анатомо-клинических проявлений травмы в выборе метода удаления глаза / И. А. Филатова, Е. Н. Вериго, И. А. Пряхина [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2014. – Том 7, №4. – С. 52–59.
84. Роль первичного и ступенчатого протезирования в реабилитации лиц с анофтальмом / Е. Н. Вериго, Е. П. Садовская, М. Г. Катаев и др. // Вестник офтальмологии. – 2010. – №5. – С. 21–25.
85. Салихов, А. Ю. Первичная пластика биоматериалами Аллоплант в офтальмоонкологии : автореферат диссертации ... доктора медицинских наук : 14.00.08 / А. Ю. Салихов ; научн. конс. В. У. Галимова – Москва, б. и., 2004. – 44 с.

86. Свердлов, Д. Г. Новый метод образования культи после энуклеации путем пересадки в тенонову капсулу трупного хряща / Д. Г. Свердлов // Вестник офтальмологии. – 1941. – Том 19, Вып. 5–6. – С. 46–50.
87. Сердюк, В. Н. Модифицированная методика задней эвисцерации с имплантацией интраорбитального вкладыша из политетрафторэтилена «Экофлон» / В. Н. Сердюк, С. И. Волок // Восток – Запад. Точка зрения. – 2014. – №1. – С. 260–261.
88. Сироткина, И. А. Возможности прогнозирования результатов глазного протезирования при проведении оргоуносящих операций / И. А. Сироткина // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. – №4(133). – С. 331–336. <https://cyberleninka.ru/article/n/vozmozhnosti-prognozirovaniya-rezultatov-glaznogo-protezirovaniya-pri-provedenii-organounosyaschih-operatsiy>.
89. Ситников, В. А. Основы клинической цитокинолтерапии / В. А. Ситников, С. Н. Стяжкина. – Ижевск, 1998. – 67 с.
90. Смолянинов, А. Б. Клеточная медицина: концепция ее развития / А. Б. Смолянинов // Клиническая патофизиология. – 2004. – № 1. – С. 10–18.
91. Сосновский, С. В. Способ косметической реабилитации пациентов после тяжелой травмы глаза / С. В. Сосновский, А. Н. Куликов, Д. В. Шамрей // Тихоокеанский мед. журнал. – 2014. – №4. – С. 78–80.
92. Стволовые клетки в регенеративной медицине: достижения и перспективы / А. Н. Лызилов, Б. Б. Осипов, А. Г. Скуратов и др. // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – Том 45, №3. – С. 4–9.
93. Стеблюк, А. Н. Сравнительная морфо-гистохимическая характеристика тканей глаза при имплантации монолитного и пористого никелида титана в эксперименте на кроликах / А. Н. Стеблюк, Г. М. Могильная // Офтальмологические ведомости. – 2012. – Том 5, №3. – С. 29–35. <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnaya-morfo-gistohimicheskaya-harakteristika-tkaney-glaza-pri-implantatsii-monolitnogo-i-poristogo-nikelida-titana-v>.

94. Суббот, А. М. Обзор подходов к клеточной терапии в офтальмологии / А. М. Суббот, Е. А. Каспарова // Вестник оториноларингологии. – 2015. – Том 131, №5. – С. 74–81. <http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=322829>.
95. Тактика хирургического лечения травматических повреждений средней зоны лица на основе применения имплантатов из сетчатого никелида титана / Ю. А. Медведев, С. В. Шаманаев, Л. С. Шаманаева и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2003. – №1. – С. 78–79.
96. Уикли, Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли ; Под. ред. Ю. В. Полякова ; пер. с англ. И.В. Викторова. – Москва : Мир, 1975. – 336 с.
97. Филатова, И. А. Анофтальм. Патология и лечение / И. А. Филатова. – Москва, Медицина, 2007. – 214 с.
98. Филатова, И. А. Обнажение орбитальных имплантатов: причины и лечение / И. А. Филатова, М. Г. Катаев, А. Х. Харб // Вестник офтальмологии. – 2008. – Том 124, №3. – С. 36–41.
99. Филатова, И. А. Особенности имплантации материала Карботекстима-М в пластической офтальмохирургии / И. А. Филатова // Клиническая офтальмология. – 2001. – Том 2, №3. – С. 107–110.
100. Филатова, И. А. Роль анатомо-клинических проявлений травмы в выборе метода удаления глаза / И. А. Филатова, Е. Н. Вериги, И. А. Пряхина и др. // Российский офтальмологический журнал. – 2014. – Том 7, №4. – С. 52–59.
101. Фрейдлин, И. С. Система мононуклеарных фагоцитов / И. С. Фрейдлин. – Москва : Медицина, 1984. – 272 с.
102. Харлампики, М.П. Разработка оптимальных способов энуклеации для улучшения косметических показателей глазного протезирования : автореферат диссертации ... кандидата медицинских наук : 14.00.08 / М.П. Харлампики ; науч. рук. М. Г. Катаев – Москва : б. и., 2002. – 24 с.
103. Цурова, Л. М. Сравнительный анализ использования различных орбитальных имплантатов для формирования постэнуклеационной опорно-двигательной культи / Л. М. Цурова, Е. С. Милюдин // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2014. – №12. – С. 334–337.

https://studylib.ru/doc/2555301/sravnitel._nyj-analiz-ispol._zovaniya-razlichnyh-orbital._nyh.

104. Чеглаков, П. Ю. Формирование опорно-двигательной культуры при эвисцероэнуклеации и эндопротезировании с применением имплантата для повышения подвижности глазного протеза : автореферат диссертации ... кандидата медицинских наук : 14.00.08 / П. Ю. Чеглаков ; научн. рук. Л. Ф. Линник. – Москва : б. и., 2005. – 24 с.
105. Черепанова, Т. В. Применение модифицированных никелид-титановых имплантатов для замещения дефектов брюшной стенки в эксперименте / Т. В. Черепанова // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2019. – Том 21, №1. – С. 129–132.
106. Шаимова, В. А. Роль провоспалительных цитокинов при заболеваниях глаз / В. А. Шаимова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Том 4, № 2. – С. 13–15.
107. Шехтер, А. Б. Тканевая реакция на имплантат / А. Б. Шехтер, И. Б. Розанова // Биосовместимость / под ред. В.И. Севастьянова. – Москва, 1999. – С. 174–211.
108. Шиф, Л. В. Глазное протезирование / Л. В. Шиф. – Москва : Медицина, 1981. – 124 с.
109. Шляхтов, М. И. Особенности использования гидроксиапатитового орбитального имплантата при формировании опорно-двигательной культуры методом эвисцерации с резекцией заднего полюса / М. И. Шляхтов // Офтальмология. – 2008. – Том 5, №2. – С. 73–77.
110. Экспериментальное изучение интеграционных особенностей пористо-проницаемого и сетчатого никелида титана *in vivo* / М. Ш. Мирзоев, М. Н. Шакиров, Е.Д. Порохова и др. // Вестник Авиценны. – 2020. – Том 22, №3. – С. 434–439.
111. Экспериментальное обоснование использования имплантатов с памятью формы при формировании толстокишечных анастомозов у собак / Б. Р. Башкуев, В. П. Саганов, Г. Ц. Дамбаев и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – №4. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26639>

112. Яковчук, В. В. Имплантация пористого никелида титана при повторных антиглаукоматозных операциях / В. В. Яковчук, А. Н. Стеблюк // Имплантаты с памятью формы. – 1994. – №1. – С. 22–24.
113. A comparative assessment of prosthetic outcome on enucleation and evisceration in three different etiological eye defects: A case series / N. B. Jamayet, J. K. Kirangi, A. Husein et al. // *European Journal of Dentistry*. – 2017. – Vol. 11, No. 1. – P. 130–134.
114. A histopathologic study of orbital implant vascularization / K. Tambe, S. Pushpoth, H. S. Mudhar et al. // *Orbit*. – 2009. – Vol. 28, №1. – P. 50–57. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19229746/>
115. Al-Farsi, H. A. Orbital implant exposure following enucleation or evisceration / H. A. Al-Farsi, B. I. Sabt, A. S. Al-Mujaini // *Oman. J. Ophthalmol.* – 2017. – Vol. 10, No. 2. – P. 87–90.
116. Altered Expression of Growth Factors and Cytokines in Keratoconus, Bullous Keratopathy and Diabetic Human Corneas / M. Saghizadeh, M. Chwa, A. Aoki et al. // *Exp. Eye Res.* – 2001. – Vol. 73. – P. 179–189.
117. Anderson, R. L. Capsular calcification of alloplastic orbital implants / R. L. Anderson, M. T. Yen // *Am. J. Ophthalmol.* – 2002. – Vol. 133. – P. 289–290. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11812447/>
118. Anderson, R. L. The quasi-integrated porous polyethylene orbital implant / R. L. Anderson, M. T. Yen, L. M. Lucci // *Ophtal. Plast. Reconstr. Surg.* – 2002. – Vol. 18. – P. 50–55.
119. Anophthalmic socket: choice of orbital implants for reconstruction / S. A. Schellini, R. El Dib, R. M. Limongi, R. Mörschbacher // *Arq Bras Oftalmol.* – 2015. – Vol. 78, No. 4. – P. 260–263. doi:10.5935/0004-2749.20150068
120. Arango Duque, G. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases / G. Arango Duque, A. Descoteaux // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 491.
121. Arat, Y. O. Bovine pericardium versus homologous sclera as a wrapping for hydroxyapatite orbital implants / Y. O. Arat, D. J. Shetlar, M. Boniuk // *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* – 2003. – Vol. 19, No. 3. – P. 189–193.

122. Aryasit, O. Indications and results in anophthalmic socket reconstruction using dermis - fat graft / O. Aryasit, P. Preechawai // *Clin. Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 9. – P. 795–799. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25999688/>
123. Autologous fibroblasts, peripheral blood mononuclear cells, and fibrin glue accelerate healing of refractory cutaneous ulcers in diabetic mice / T. Mizoguchi, K. Ueno, M. Yanagihara et al. // *Am. J. Transl. Res.* – 2018. – Vol. 10. – P. 2920–2928.
124. Bains, F. Orbital implants: State-of-the-art review with emphasis on biomaterials and recent advances / F. Bains, I. Potestio // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2016. – Vol. 69. – P. 1410–1428.
125. Bio-based materials with novel characteristics for tissue engineering applications – A review / L. Badian, A. M. Villalba-Rodríguez, G. Hernández-Vargas et al. // *International Journal of Biological macromolecules.* – 2017. – Vol. 98. – P. 837–846.
126. Biocompatibility of a porous alumina orbital implant. Preliminary results of an animal experiment / X. Morel, A. Rias, B. Briat et al. // *J. Fr. Ophthalmol.* – 1998. – Vol. 21, No. 3. – P. 163–169.
127. Bohman, E. Pain and discomfort in the anophthalmic socket / E. Bohman, M. L. Roed Rasmussen, E. D. Kopp // *Curr. Opin. Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 25, No. 5. – P. 455–460. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24878963/>
128. Borodic, G. E. Dermis fat graft in eviscerated sockets / G. E. Borodic, D. J. Townsend, C. K. Beyer-Machule // *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* – 1989. – Vol. 5. – P. 144–149. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2487209/>
129. Carpaneda, C. A. Percentage of graft viability versus injected volume in adipose autotransplants / C. A. Carpaneda, M. T. Ribeiro // *Aesthetic. Plast. Surg.* – 1994. – Vol. 18. – P. 17–19.
130. Chen, Y. H. Amniotic membrane transplantation for porous sphere orbital implant exposure / Chen Y. H., Cui H. G. // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* – 2007. – Vol. 8, No. 9. – P. 616–619. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17726741/>
131. Chen, Y. H. High density porous polyethylene material (Medpor) as an unwrapped orbital implant / Chen Y. H., Cui H. G. // *J. Zhejiang. Univ. Sci. B.* – 2006. – Vol. 7, No. 8. – P. 679–682.

132. Cleres, B. Porous orbital implants / B. Cleres, H. W. Meyer-Rüsenberg // *Ophthalmologie*. – 2014. – Vol. 111, No. 6. – P. 572–576.
133. Clinical and histopathologic review of 18 explanted porous polyethylene orbital implants / Chuo J. Y., P. J. Dolman, T. L. Ng et al. // *Ophthalmology*. – 2009. – Vol. 116, No. 2. – P. 349–354. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19091412/>
134. Crosstalk between platelets and PBMC: New evidence in wound healing / N. Nami, L. Feci, L. Napoliello et al. // *Platelets*. – 2016. – Vol. 27, No. 2. – P. 143–148.
135. Cui, H. G. Effect of basic fibroblast growth factor (bFGF) on the treatment of exposure of the orbital implants / Cui H. G., Li H. Y. // *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. – 2007. – Vol. 8, No. 9. – P. 620–625.
136. Custer, P. L. Porous implant exposure: incidence, management and morbidity / P. L. Custer, K. M. Trinkaus // *Ophthalm. Plast. and Reconst. Surg.* – 2007. – Vol. 23, No. 1. – P. 1–7.
137. Delmas, J. Repair of orbital implant exposure using Müller's muscle flap / J. Delmas, J. P. Adenis, P. Y. Robert // *Journal Francais d'Ophthalmologie*. 2014. – Vol. 37, No. 8. – P. 618–622.
138. Different Intraorbital Implant Situations and Ocular Prosthetic Rehabilitation / H. Aggarwal, P. Kumar, P. Eachempati et al. // *Journal of Prosthodontics*. – 2016. – Vol. 25. – P. 687–693.
139. Donor sclera-wrapped acrylic orbital implants following enucleation: experience in 179 patients in the Netherlands / H. P. Jongman, M. Marinkovic, I. Notting et al. // *Acta Ophthalmol.* – 2016. – Vol. 94. – P. 253–256.
140. Dutton, J. J. Coralline hydroxyapatite as an ocular implant / J. J. Dutton // *Ophthalmology*. – 1991. – Vol. 98, No. 3. – P. 370–377.
141. Electrophysiological, Morphological, and Ultrastructural Features of the Injured Spinal Cord Tissue after Transplantation of Human Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells Genetically Modified with the VEGF and GDNF Genes / Y. O. Mukhamedshina, Z. E. Gilazieva, S. S. Arkhipova et al. // *Neural Plasticity*. – 2017. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28421147/>

142. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report / S. D. Schwartz, J. P. Hubschman, G. Heilwell et al. // *Lancet*. – 2012. – Vol. 379, No. 9817. – P. 713–720.
143. Evisceration surgery in a highly specialized center in Mexico: A retrospective study of 7 years of experience / M. G. Arellano-Ganem, F. Zuazo, M. González et al. // *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* – 2017. – Vol. 92, No. 2. – P. 58–62. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27688179/>
144. Fibrovascularization of intraorbital hydroxyapatite-coated alumina sphere in rabbits / Chung W. S., Song S. J., Lee S. H. et al. // *Korean J. Ophthalmol.* – 2005. – Vol. 19, No. 1. – P. 9–17. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15929481/>
145. Gayre, G. S. Bovine pericardium as a wrapping for orbital implants / G. S. Gayre // *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* – 2001. – Vol. 17, No. 5. – P. 381–387.
146. Glaros, T. Macrophages and fibroblasts during inflammation, tissue damage and organ injury / T. Glaros // *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*. – 2009. – Vol. 14. – P. 3988–3993.
147. Green, P. J. Promiscuity of fibroblast growth factor receptors / P. J. Green, F. S. Walsh, P. Doherty // *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*. – Vol. 18, No. 8. – P. 639–646.
148. Human corneal endothelial cell growth on a silk fibroin membrane / P. W. Madden, J. N. Lai, K. A. George et al. // *Biomaterials*. – 2011. – Vol. 32, No. 17. – P. 4076–4084.
149. Influence of octacalcium phosphate coating on osteoinductive properties of biomaterials / P. Habibovic, C. M. van der Valk, C. A. van Blitterswijk et al. // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2004. – Vol. 15, No. 4. – P. 373–380.
150. Injectable silicone rubber for ocular implantation after evisceration / Zheng P. F., You Q. S., Li Q. et al. // *PloS one*. – 2018. – Vol. 13, No. 3. – e0193448.
151. Inkster, C. F. Primary banked scleral patch graft in the prevention of exposure of hydroxyapatite orbital implants / C. F. Inkster, S. G. Ng, B. Leatherbarrow // *Ophthalmology*. – 2002. – Vol. 109, No. 2. – P. 389–392.

152. Integrated versus non-integrated orbital implants for treating anophthalmic sockets / S. Schellini, R. El Dib, L. R. Silva et al. // The Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2016. – Vol. 11, No. 11. – CD010293.
153. Intra-arterial Transplantation of Human Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells in Sub-acute Ischemic Stroke Increases VEGF Expression in Rats / Y. Ramli, A. S. Alwahdy, M. Kurniawan et al. // J Stem Cells Regen Med. – 2018. – Vol. 14, No. 2. – P. 69–79.
154. *In vivo* manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction / K. Yoshimura, H. Eto, H. Kato et al. // Regenerative medicine. – 2011. – Vol. 6. – P. 33–41.
155. Jagur-Grodzinski, J. Polymers for tissue engineering, medical devices, and regenerative medicine. Concise general review of recent studies / J. Jagur-Grodzinski // J. Polym. Adv. Technol. – 2006. – Vol. 17. – P. 395–418.
156. Johnson, K. E. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair / K. E. Johnson, T. A. Wilgus // Advances in wound care. – 2014. – Vol. 3, No. 10. – P. 647–661.
157. Jordan, D. R. Anophthalmic Orbital Implants: Current Concepts and Controversies / D. R. Jordan, S. R. Klapper // Compr. Ophthalmol. Update – 2005. – Vol. 6, No. 6. – P. 287–295.
158. Jordan, D. R. Coralline hydroxyapatite orbital implant (bio-eye): experience with 158 patients / D. R. Jordan, S. Gilberg, A. Bawazeer // Ophthal. Plast. Reconstr. Surg. – 2004. – Vol. 20, No. 1. – P. 69–74.
159. Jordan, D. R. Problems after evisceration surgery with porous orbital implants: experience with 86 patients / D. R. Jordan // Ophthal. Plast. Reconstr. Surg. – 2004. – Vol. 20, No. 5. – P. 374–380.
160. Jordan, D. R. The use of vicryl mesh in 200 porous orbital implants: a technique with few exposures / D. R. Jordan, S. R. Klapper, S. M. Gilberg // Ophthal. Plast. Reconstr. Surg. – 2003. – Vol. 19, No. 1. – P. 53–61.
161. Kamal, S. Autologous serum for anterior tissue necrosis after porous orbital implant / S. Kamal, S. Kumar, R. Goel // Middle East Afr. J. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 21, No. 2. – P. 193–195. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24791115/>

162. Karesh, J. W. High-density porous polyethylene (Medpor) as a successful anophthalmic socket implant / J. W. Karesh, S. C. Dresner // *Ophthalmology*. – 1994. – Vol. 101, No. 10. – P. 1688–1695.
163. Khademhosseini, A. Progress in tissue engineering / A. Khademhosseini, J. P. Vacanti, R. Langer // *Scientific American*. – 2009. – Vol. 300, No. 5. – P. 64–71.
164. Li, M. D. The global landscape of stem cell clinical trials / M. D. Li, H. Atkins, T. Regen Bubela // *Regen Med*. – 2014. – Vol. 9, No. 1. – P. 27–39. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24236476/>
165. Lin, C. W. Long-term complications of different porous orbital implants: a 21-year review / Lin C. W., Liao S. L. // *British Journal of Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 101. – P. 681–685.
166. Low-cost three-dimensional printed orbital template-assisted patient-specific implants for the correction of spherical orbital implant migration / T. V. Dave, S. Tiple, S. Vempati et al. // *Indian. J. Ophthalmol*. – 2018. – Vol. 66. – P. 1600–1607.
167. Management of porous orbital implants requiring explantation: a clinical and histopathological study / F. M. Quaranta-Leoni, C. Moretti, S. Sposato et al. // *Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2014. – Vol. 30, №2. – P. 132–136.
168. Mandai, M. Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration / M. Mandai, Y. Kurimoto, M. Takahashi // *New England Journal of Medicine*. – 2017. – Vol. 376, No. 11. – P. 1038–1046.
169. Mason, C. Assessing the value of autologous and allogeneic cells for regenerative medicine / C. Mason, P. Dunnill // *Regenerative medicine*. – 2009. – Vol. 4, No. 6. – P. 835–853.
170. Mast cells, macrophages, and crown-like structures distinguish subcutaneous from visceral fat in mice / M. M. Altintas, A. Azad, B. Nayer et al. // *J. Lipid Res*. – 2011. – Vol. 52. – P. 480–488.

171. Medpor motility coupling post: a rabbit model / J. C. Choi, M. A. Iwamoto, S. Bstandig et al. // *Ophthal. Plast. Reconstr. Surg.* – 1999. – Vol. 15. – P. 190–201.
172. Mescher, A. L. Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration / A. L. Mescher // *Regeneration (Oxf).* – 2017. – Vol. 4, No. 2. – P. 39–53.
173. Microstructure, nickel suppression and mechanical characteristics of electropolished and photoelectrocatalytically oxidized biomedical nickel titanium shape memory alloy / Chu C. L., Guo C., Sheng X. B. et al. // *Acta Biomater.* – 2009. – Vol. 5, No. 6. P. 2238–2245.
174. Morel, X. Conjunctival break over orbital implant after enucleation / X. Morel, F. D’Hermies, G. Renard // *Abstract book of 16th Meeting of ESOPRS.* – Budapest, 1998. – P. 53.
175. Mourits, M. P. A short history of contemporary oculoplastic surgery (and the need for RCTs): excerpts from the Mustardé lecture 2011 / M. P. Mourits // *Orbit.* – 2012. – Vol. 31, No. 4. – P. 270–273. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22616612/>
176. Naik, M. N. Comparison of vascularization of Medpor and Medpor-Plus orbital implants: a prospective, randomized study / M. N. Naik, R. K. Murthy, S. G. Honavar // *Ophthal. Plast. Reconstr. Surg.* – 2007. – Vol. 23, No. 6. – P. 463–467.
177. Nunery, W. Psychological aspects of enucleation surgery / W. Nunery // *J. Ophthalmic Prosthetics.* – 2002. – Vol. 7. – P. 1–8.
178. Ocular implants-methods of ocular reconstruction following radical surgical interventions / C. T. Catalu, S. L. Istrate, L. M. Voinea et al. // *Rom. J. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 62, No. 1. – P. 15–23. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29796430/>
179. Ophthalmologic stem cell transplantation therapies / T. A. Blenkinsop, B. Corneo, S. Temple et al. // *Stern J. H. Regen. Med.* – 2012. – Vol. 7. – P. 32–39.
180. Orbital implants in enucleation surgery : a report by the American Academy of Ophthalmology / P. L. Custer, R. H. Kennedy, J. J. Woog et al. // *Ophthalmology.* –

2003. – Vol. 110, No. 10. – P. 2054–2061. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14522788/>
181. Our experience with dermofat graft in reconstruction of anophthalmic socket / E. B. Kuzmanovic, M. Basic, D. Bosnar et al. // *Orbit.* – 2010. – Vol. 29, No. 4. – P. 209–212.
182. Peer L. A. Loss of weight and volume in human fat grafts with postulation of a “Cell Survival Theory” / L. A. Peer // *Plast. Reconstr. Surg.* – 1950. – Vol. 5. – P. 217–230.
183. Pelletier, C. Use of temporalis fascia for exposed hydroxyapatite orbital implants / C. Pelletier, S. Gilberg, D. R. Jordan // *Opthalm. Plast. Reconstr. Surg.* – 1998. – Vol. 14, No. 3. – P. 198–203.
184. Peripheral blood mononuclear cell secretome for tissue repair / L. Beer, M. Mildner, M. Gyöngyösi et al. // *Apoptosis.* – 2016. – Vol. 21, No. 12. – P. 1336–1353.
185. Perry, A. C. Integrated orbital implants / A. C. Perry // *Adv. Ophthalmic Plast. Reconstr. Surg.* – 1990. – Vol. 8. – P. 75–81. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2174242/>
186. Phan, L. T. Evisceration in the modern age / L. T. Phan, T. N. Hwang, T. J. McCulley // *Middle East Afr. J. Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 19, No. 1. – P. 24–33.
187. Porous and nonporous orbital implants for treating the anophthalmic socket: A meta-analysis of case series studies / S. Schellini, E. Jorge, R. Sousa et al. // *Orbit.* – 2016. – Vol. 35, No. 2. – P. 78–86.
188. Preliminary observations of a new approach to tissue repair: Peripheral blood mononuclear cells in platelet-rich plasma injected into skin graft area / C. Orlandi, E. Bondioli, M. Venturi et al. // *Exp. Dermatol.* – 2018. – Vol. 27. – P. 795–797.
189. Quaranta-Leoni, F. M. Secondary orbital ball implants after enucleation and evisceration: surgical management, morbidity, and long-term outcome / F. M. Quaranta-Leoni, S. Sposato, D. Lorenzano // *Ophthal. Plast. Reconstr. Surg.* – 2015. – Vol. 31, No. 2. – P. 115–118.

190. Reconstruction of Contracted Eye Socket With Autogenic Dermal Sphere Connected to Epidermis / Tian R., Xu H., Huang X. et al. // The Journal of Craniofacial Surgery. – 2018. – Vol. 29, No. 6. – P. 1591–1595.
191. Regeneration-associated cell transplantation contributes to tissue recovery in mice with acute ischemic stroke / T. Nakayama, E. Nagata, H. Masuda et al. // PLoS One. – 2019. – Vol. 14, No. 1. – P. e0210198.
192. Repair of orbital implant exposure using Müller's muscle flap / J. Delmas, J. P. Adenis, P. Y. Robert et al. // J. Fr. Ophtalmol. – 2014. – Vol. 37, No. 8. – P. 618–622. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25262055/>
193. Reynolds, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds. // J. Cell Biology. – 1963. – No. 17. – P. 208–212.
194. ROCK inhibitor converts corneal endothelial cells into a phenotype capable of regenerating *in vivo* endothelial tissue / N. Okumura, N. Koizumi, M. Ueno et al. // The American Journal of Pathology. – 2012. – Vol. 181, No. 1. – P. 268–277.
195. Rogers, M. S. Common polymorphisms in angiogenesis / M. S. Rogers, R. J. D'Amato // Cold Spring Harbor perspectives in medicine. – 2012. – Vol.2. - № 11. – a006510.
196. Rouwkema, J. Vascularization and angiogenesis in tissue engineering: beyond creating static networks / J. Rouwkema, A. Khademhosseini // Trends in Biotechnology. – 2016. – Vol. 34, No. 9. – P. 733–745.
197. Sadiq, S. A. Integrated orbital implants – a comparison of hydroxyapatite and porous polyethylene implants / S. A. Sadiq, L. S. Mengher, J. Lowry et al. // Orbit. – 2008. – Vol. 27, No. 1. – P. 37–40.
198. Sami, D. Perspective on orbital enucleation implants / D. Sami, S. Young, R. Petersen // Surv. Ophthalmol. – 2007. – Vol. 52, No. 3. – P. 244–265.
199. Sarvananthan, N. Synthetic hydroxyapatite orbital implants: a clinical and MRI evaluation / N. Sarvananthan, A. J. Liddicoat, G. T. Fahy // Eye. – 1999. – Vol. 13. – P. 205–208.

200. Secretion of immunoregulatory cytokines by mesenchymal stem cells / D. Kyurkchiev, I. Bochev, E. Ivanova-Todorova et al. // World Journal of Stem Cells. – 2014. – Vol. 6, No. 5. – P. 552–570.
201. Shields, C. L. Hydroxyapatite orbital implant after enucleation. Experience with initial 100 consecutive cases / C. L. Shields, J. A. Shields, P. De Potter // Arch. Ophthalmol. – 1992. – Vol. 110, No. 3. – P. 333–338. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1311918/>
202. Shoamanesh, A. Complications of orbital implants: a review of 542 patients who have undergone orbital implantation and 275 subsequent PEG placements / A. Shoamanesh, N. K. Pang, J. H. Oestreicher // Orbit. – 2007. – Vol. 26, No. 3. – P. 173–182. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17891645/>
203. Simultaneous detection of 15 human cytokines in a single sample of stimulated peripheral blood mononuclear cells / W. De Jager, H. te Velthuis, B. J. Prakken et al. // Clinical and diagnostic laboratory immunology. – 2003. – Vol. 10, No. 1. – P. 133–139.
204. Stimulation of corneal endothelial cell proliferations *in vitro* by fibroblast and epidermal growth factors / D. Gospodarowicz, A. L. Mescher, C. R. Birdwell // Experimental Eye Research. – 1977. – Vol. 25, No. 1. – P. 75–89.
205. Streilein, J. W. Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature / J. W. Streilein // Nature reviews. Immunology. – 2003. – Vol. 3, No. 11. – P. 879–889.
206. Sundelin, K. C. Complications associated with secondary orbital implantations / K. C. Sundelin, E. M. Dafgård Kopp // Acta Ophthalmol. – 2015. – Vol. 93, No. 7. – P. 679–683. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26290377/>
207. Surface modification of Ni-Ti alloys for stent application after magnetoelectropolishing / P. Gill, V. Musaramthota, N. Munroe et al. // Materials science and engineering. C, Materials for biological applications. – 2015. – Vol. 50. - P. 37–44.
208. The Anophthalmic Socket – Reconstruction Options / S. Schmitzer, C. Simionescu, C. Alexandrescu et al. // Journal of Medicine and Life. – 2014. – Vol. 7, No. 4. – P. 23–29.

209. The cytokine secretion profile of mesenchymal stromal cells is determined by surface structure of the microenvironment / D. G. Leuning, N. R. M. Beijer, N. A. du Fossé et al. // *Scientific reports*. – 2018. – Vol. 8, No. 1. – P. 7716.
210. The molecular mechanism for effects of TiN coating on NiTi alloy on endothelial cell function / D. Yang, X. Lü, Y. Hong et al. // *Biomaterials*. – 2014. – Vol. 35, No. 24. – P. 6195-205.
211. The porous polyethylene (Medpor) spherical orbital implant: a retrospective study of 136 cases / S. M. Blaydon, T. R. Shepler, R. W. Neuhaus et al. // *Ophthal. Plast. Reconstr. Surg.* – 2003. – Vol. 19. – P. 364–371. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14506421/>
212. Transdifferentiation of peripheral blood mononuclear cells into epithelial-like cells / A. Medina, R. T. Kilani, N. Carr et al. // *Am. J. Pathol.* – 2007. – Vol. 171, No. 4. – P. 1140–1152.
213. Trounson, A. Stem Cell Therapies in Clinical Trials: Progress and Challenges / A. Trounson, C. McDonald // *Cell Stem Cell*. – 2015. – Vol. 17, No. 1. – P. 11–22.
214. Turner, L. D. The versatility of the temporoparietal fascial graft (TPFG) in orbital implant exposure / L. D. Turner, A. S. Haridas, T. J. Sullivan // *Orbit*. – 2014. – Vol. 33, No. 5. – P. 352–355. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24926776/>
215. Use of Extraocular Muscle Flaps in the Correction of Orbital Implant Exposure / Chu H. Y., Liao Y. L., Tsai Y. J. et al. // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – No. 9. – P. e72223.
216. Vagefi, M. R. Autologous dermis graft at the time of evisceration or enucleation / M. R. Vagefi, T. F. McMullan, J. R. Burroughs et al. // *Br. J. Ophthalmol.* – 2007. – Vol. 91, No. 11. – P. 1528–1531. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17947269/>
217. Viswanathan, P. UK national survey of enucleation, evisceration and orbital implant trends / P. Viswanathan, M. S. Sagoo, J. M. Olver // *Br. J. Ophthalmol.* – 2007. – Vol. 91, No. 5. – P. 616–619.
218. Wang, J. K. Late exposure of the bioceramic orbital implant / J. K. Wang, P. C. Lai, S. L. Liao // *American Journal of Ophthalmology*. – Vol. 147, No. 1. – P. 162–170.e1.

219. Weakley, B. S. A beginner's handbook in biological electron microscopy / B. S. Weakley. – Edinburgh : Churchill Livingstone, 1972.
220. Wynn, T. A. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis / T. A. Wynn, K. M. Vannella // Immunity. – 2016. – Vol. 44, No. 3. – P. 450–462.
221. Xi, X. Ocular fibroblast diversity: implications for inflammation and ocular wound healing / X. Xi, D. H. McMillan, G. M. Lehmann // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2011. – Vol. 52, No. 7. – P. 4859–4865.
222. Yoshida, R. Peripheral blood mononuclear cells enhance the anabolic effects of platelet-rich plasma on anterior cruciate ligament fibroblasts / R. Yoshida, M. M. Murray // Journal of Orthopaedic Research : official publication of the Orthopaedic Research Society. – 2013. – Vol. 31, No. 1. – P. 29–34.