

На правах рукописи

Горбунова Евгения Александровна

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

1.5.22. Клеточная биология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Томск – 2021

Работа выполнена на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

**Логвинов
Сергей Валентинович**

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

**Кривошеина
Ольга Ивановна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой судебной медицины ИПО
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Красноярский государственный
медицинский университет имени профессора В.Ф.
Войно-Ясенецкого» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

**Алябьев
Фёдор Валерьевич**

доктор медицинских наук, профессор, заместитель
директора по научной работе Новосибирского
филиала федерального государственного
автономного учреждения «Национальный
медицинский исследовательский центр» МНТК
«Микрохирургия глаза им. акад. С.Н. Фёдорова»
Министерства здравоохранения Российской
Федерации

**Трунов
Александр Николаевич**

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ТюмГМУ Минздрава России) (г. Тюмень).

Защита состоится « ____ » _____ 2021 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 21.2.068.03 при ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России по адресу: 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, д. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на сайте www.ssmu.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2021 года

Учёный секретарь
диссертационного совета

Мустафина Лилия Рамильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 (Бараш А. Н. и др., 2015; Балашова П. М. и др., 2016).

Ежегодно в России выполняется свыше 12 тыс. подобных операций (Вериго Е. Н., и др., 2012; Филатова И. А., и др., 2014), 58% прооперированных составляют лица трудоспособного возраста (Чеглаков П. Ю., 2005; Красильникова В. Л., 2007). Это обуславливает необходимость получения максимального косметического эффекта от данного хирургического вмешательства (Филатова И. А., 2007; Jamayet N. V. et al., 2017).

Необходимо отметить, что около 75% энуклеаций выполняются без формирования опорно-двигательной культи и имплантации орбитального вкладыша (Лузьянина В. В., 2016), что, в свою очередь, приводит к развитию анофтальмического синдрома, который характеризуется западением верхнего века в области верхней орбито-пальпебральной борозды, провисанием нижнего века, неполным смыканием глазной щели (Streilein J. W., 2003; Bohman E. et al., 2014).

Для лечения анофтальмического синдрома, восстановления объёма конъюнктивальной полости и других анатомических структур необходимо поместить в орбиту имплантат из инертного биосовместимого материала (Иволгина И. В., 2015; Лузьянина В. В., 2016). По данным некоторых авторов, частота обнажения орбитальных имплантатов варьирует от 4 до 38% случаев (Al-Farsi H. A., 2017). Для снижения частоты осложнений и укрепления опорно-двигательной культи глаза применяют различные материалы: кожно-жировой лоскут, апоневроз с височной зоны, донорскую склеру, твёрдую мозговую оболочку и др. (Gayr G. S., 2001; Inkster C. F. et al., 2002; Arat Y. O. et al., 2003; Jordan D. R. et al., 2003; Груша Я. О. и др., 2004; Cui H.-G., Li H. Y., 2007; Vagefi M. R. et al., 2007; Viswanathan P. et al., 2007; Филатова И. А. и др., 2008; Tambe K. et al., 2009; Delmas J. et al., 2014). Однако существует предположение, что покрытие имплантата некоторыми из них может препятствовать васкуляризации (Viswanathan P. et al., 2007), имеется опасность передачи реципиенту различных инфекций (Wang J. K. et al., 2009).

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 (Итин В. И. и др., 2006; Груша Я. О. и др., 2010; Khademhosseini A. et al., 2009; Cleres B., Meyer-Rüsenberg H. W., 2014; Bedian L. et al., 2017).

Однако и при использовании пористых материалов, особенно в отдаленные сроки после операции, вероятно развитие таких осложнений, как обнажение имплантата, его инфицирование и отторжение. Возможное решение проблемы – использование клеточных технологий при орбитальной имплантации, которые в последние десятилетия активно применяются в медицине, в том числе для лечения офтальмологических заболеваний (Васильев А. В., Батин М., 2010; Иванов Д. В., 2011; Li M. D. et al., 2014; Суббот А. М., Каспарова Е. А., 2015; Мельникова Е. В. и др., 2018). Они представляют собой трансплантацию жизнеспособных аутологичных, аллогенных или ксеногенных живых клеток с целью стимуляции процессов регенерации поврежденной ткани (Мезен Н. И., 2014; Mukhamedshina Y. O. et al., 2017). Возможна пересадка как стволовых клеток (Смолянинов А. Б., 2004; Васильев А. В. Батин М., 2010; Иванов Д. В., 2011; Лызиков А. Н. и др., 2015; Киселев А. В. и др., 2018; Мельникова Е. В. и др., 2018; Dave T. V. et al., 2018), так и клеток крови, в том числе мононуклеарных (Altintas M. M. et al., 2011; Arango Duque G., Descoteaux A., 2014; Nami N. et al., 2016; Гилевич И. В. и др., 2017; Mizoguchi T. et al., 2018).

Таким образом, недостаточная эффективность различных методов орбитальной имплантации и способов укрепления опорно-двигательной культи глаза, недостаточная 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 (Khademhosseini A. et al., 2009; Груша Я. О. и др., 2010; Bedian L. et al., 2017). Однако и при использовании пористых материалов возможно развитие осложнений в различные сроки после операции (Лузьянина В. В. и др., 2009; Kamal S. et al., 2014; Иволгина И. В., 2015).

В связи с этим в настоящее время активно изучается применение клеточных технологий, которые совместно с имплантатами формируют так называемые тканеинженерные конструкции. Материал для подобных конструкций имеет пористое строение, необходимое для интеграции в него клеточной суспензии. Применение клеток различных популяций, в том числе мононуклеаров крови, обеспечивает усиление регенераторного потенциала в зоне оперативного вмешательства, что значительно снижает риск развития послеоперационных осложнений (Иванов Д. В., 2011; Евсеев И. С. и др., 2014; Arango Duque G., Descoteaux A., 2014; Гилевич И. В. и др., 2017; Bedian L. et al., 2017; Mizoguchi T. et al., 2018).

Поэтому перспективным направлением в офтальмохирургии является использование имплантата из пористого никелида титана и аутологичных моноклеарных клеток крови в составе тканеинженерной конструкции для формирования и укрепления опорно-двигательной культы глазного яблока. Однако в научной литературе до настоящего времени отсутствуют данные о морфогенезе культы 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 культы 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 культы 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 культы 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 культы глаза в зависимости от вида имплантата в эксперименте *in vivo*.

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

Научная новизна

Разработан новый метод формирования опорно-двигательной культы 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 для формирования опорно-двигательной культы глаза в эксперименте *in vivo*.

Впервые при формировании опорно-двигательной культы 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 культы глаза.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты экспериментальных исследований *in vivo* расширяют имеющиеся представления о морфогенезе опорно-двигательной культы 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 и снижая 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.

Методология и методы исследования

Работа выполнена в дизайне экспериментального исследования *in vivo*. Методологической основой исследования является сравнительное изучение морфогенеза опорно-двигательной культы 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 культы 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 культы 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 культы глаза в эксперименте *in vivo* способствует ускоренной дифференцировке фибробластов и эндотелиоцитов и быстрому переходу воспаления в стадию регенерации.

3. Формирование опорно-двигательной культы 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 культи 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 Минобрнауки РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора медицинских наук, 2 – в изданиях, входящих в базы 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 и автореферата выполнены лично автором.

Структура и объём диссертации

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, материалов 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

В первой главе проведён анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме исследования. Представлены сведения о современных принципах формирования опорно-двигательной культи глазного яблока. Обобщён опыт использования различных имплантационных материалов при формировании орбитальной культи. Проанализированы морфологические аспекты формирования опорно-двигательной культи глаза из различных имплантатов, механизмы их фиксации в орбитальной полости, осложнения при орбитальной имплантации.

Вторая глава диссертации посвящена описанию материалов и методов исследования.

Представленная научная работа включает в себя серию экспериментов *in vivo*. Исследование выполнено на базе ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск) в лаборатории биологических моделей после утверждения протокола экспериментального исследования локальным этическим комитетом (регистрационный № 7794 от 27.05.2019). Работы с животными и выведение их из эксперимента проводили в соответствии с законодательством Российской Федерации, положениями с соблюдением требований «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1968) и Хельсинской декларации (2013).

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 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 культю 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 культю 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 культю глазного яблока с помощью биоматериала из подкожно-жировой клетчатки подошвы человека.

Процедуру выделения моноклеаров крови проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Моноклеарные клетки из крови экспериментального животного выделяли методом фракционирования в градиенте плотности на разделяющем растворе фиколл-верографин. Чистота полученных на градиенте моноклеаров составляла 96–98%. Жизнеспособность клеточного материала оценивали в тесте с трипановым синим. Доля окрашенных (погибших) элементов составляла 1,5–2,0%, что не превышало допустимое количество (3%).

Орбитальный имплантат из никелида титана 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.

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.

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 культи глазного яблока, краёв операционной раны и швов, а также наличия и характера отделяемого в конъюнктивальной полости, фоторегистрацию.

Забор материала производили на 7-, 14-, 21-е сутки. Из каждой группы в условиях глубокого наркоза выводили по 6 животных с последующей энуклеацией оперированного глаза. Полученный в ходе экспериментов материал фиксировали для световой и электронной микроскопии.

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

Для подготовки к световой микроскопии энуклеированные глазные яблоки животных фиксировали в жидкости Карнуа, затем их препарировали, дегидратировали, заливали в парафиновую среду Histomix (БиоВитрум, Россия).

На санном микротоме (Микром, Россия) изготавливали парафиновые срезы толщиной 5–6 мкм, которые затем монтировали на предметные стекла и окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по методу Ван Гизона. Микропрепараты просматривали в проходящем свете на микроскопе Axioskop 40 (Carl Zeiss, Германия) на малом (50-, 100- и 200-кратном) и большом (400-кратном) увеличении.

Изучение ультраструктуры проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии (Лакин Г. Ф., 1990). Ультратонкие срезы толщиной 60–100 нм готовили на ультратоме Ultrotome III (“ЛКВ”, Швеция) по методике Б. Уикли (1975). 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.

Для количественной оценки изменений проводили морфометрическое исследование. Подсчёт различных структурных компонентов и клеточной плотности выполняли при помощи светового микроскопа «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.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 20. Нормальность распределения показателей проверяли с помощью теста 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. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

В третьей главе диссертации представлены результаты собственных исследований.

В послеоперационном периоде, по данным наружного осмотра, орбитальная культя у всех экспериментальных животных имела округлую форму, поверхность её была гладкой. Веки смыкались полностью. В ходе эксперимента (21 сутки) не выявлено ни одного случая обнажения или отторжения имплантата у животных всех трёх групп.

В ходе гистологических исследований были получены следующие данные.

На 7-е сутки после операции

У животных 1-й группы в полости опорно-двигательной культы глазного яблока обнаруживались обширные скопления моноклеарных клеток, небольшое количество лимфоцитов и единичные полиморфно-ядерные лейкоциты. Вокруг имплантата из никелида титана – очаговые скопления незрелых фибробластов, рыхло расположенные тонкие, умеренно отечные коллагеновые волокна, между ними – новообразованные капилляры с широким просветом. По данным электронной микроскопии преобладали макрофаги и фибробласты с хорошо развитой эндоплазматической сетью (ЭПС). В ядрах

преобладал эухроматин. В межклеточном веществе визуализировались пучки коллагеновых фибрилл с продольной исчерченностью.

У крыс 2-й группы в полости опорно-двигательной культи обнаруживались умеренно выраженный отёк, мелкие кровоизлияния, а также диффузная равномерная лимфолейкоцитарная инфильтрация и небольшое количество фибробластов. Вокруг имплантата выявлялись отёчные рыхлые коллагеновые волокна и единичные новообразованные сосуды. По результатам электронной микроскопии среди клеток встречались макрофаги со светлой цитоплазмой, небольшим количеством мембранных органелл. В межклеточном веществе обнаруживалось небольшое количество хаотично расположенных тонких коллагеновых фибрилл. Капилляры были заполнены эритроцитами.

У животных 3-й группы полость опорно-двигательной культи была заполнена жировой тканью, между дольками которой обнаруживались единичные моноклеарные клетки, небольшое количество полиморфно-ядерных лейкоцитов, тонкие коллагеновые волокна и единичные новообразованные сосуды. По данным электронной микроскопии среди клеток преобладали адипоциты с большим содержанием крупных липидных капель, между которыми встречались макрофаги с крупным ядром, содержащим гетерохроматин. В межклеточном веществе – хаотично направленные пучки коллагеновых фибрилл, единичные микрососуды с эритроцитами в просвете.

На 14-е сутки после операции

У крыс 1-й группы в полости орбитальной культи наблюдалось обширное разрастание волокнистой соединительной ткани. При этом коллагеновые волокна располагались более упорядоченно, чем на 7-е сутки, и между ними выявлялись скопления моноклеаров крови, большинство из которых были подвержены лизису. Вокруг имплантата – новообразованные сосуды, встречались веретенообразной и звёздчатой формы зрелые фибробласты. По данным электронной микроскопии, среди клеток визуализировались макрофаги и фибробласты, в ядре преобладал эухроматин, в цитоплазме – множественные расширенные цистерны гранулярной ЭПС, митохондрии с нормальной структурой. В межклеточном веществе обнаруживались более упорядоченные, чем на 7-е сутки, пучки коллагеновых фибрилл, ориентированные продольно.

У животных 2-й группы в полости орбитальной культи наблюдалось разрастание рыхлой волокнистой соединительной ткани, характеризовавшейся значительным отёком и умеренно выраженной лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрацией. Тонкие коллагеновые волокна располагались хаотично, между ними обнаруживались тонкостенные капилляры, единичные артериолы и вены. По результатам электронной микроскопии, среди клеток преобладали, как и на 7-е сутки, макрофаги и фибробласты. Цитоплазма фибробластов имела хорошо развитую гранулярную ЭПС, большое число рибосом. В ядрах преобладал эухроматин. В межклеточном веществе обнаруживались слабо упорядоченные коллагеновые фибриллы. Между ними встречались капилляры.

У крыс 3-й группы в полости орбитальной культи между жировыми дольками имплантата встречалась незначительная лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация и разрастание тонких коллагеновых волокон.

Вокруг имплантата обнаруживались единичные новообразованные сосуды. По данным электронной микроскопии, среди клеток преобладали адипоциты, между которыми встречались фибробласты и неупорядоченные пучки коллагеновых фибрилл. Также между адипоцитами имели место фрагменты клеток с выраженными деструктивными изменениями. Митохондрии с признаками деструкции вплоть до фрагментации наружной митохондриальной мембраны. Эндотелиоциты микрососудов встречались с неправильной формой ядра.

На 21-е сутки после операции

У животных 1-й группы в полости опорно-двигательной культы глаза обнаруживалась зрелая соединительная ткань. Толстые пучки коллагеновых волокон располагались компактно и упорядоченно, среди них отмечались множественные новообразованные артериолы и вены. Согласно результатам электронной микроскопии, среди клеток преобладали фибробласты с хорошо развитой гранулярной ЭПС. Эндотелиоциты новообразованных микрососудов встречались с митохондриями и множественными микровезикулами.

У крыс 2-й группы в полости опорно-двигательной культы глаза обнаруживалась рыхлая соединительная ткань с тонкими неупорядоченно расположенными вокруг имплантата коллагеновыми волокнами, между которыми выявлялась диффузная мононуклеарная инфильтрация и небольшое число новообразованных сосудов. По результатам электронной микроскопии, в клеточном составе преобладали макрофагии фибробласты, в цитоплазме которых обнаруживалось множество мелких везикул. Эндотелиоциты новообразованных сосудов имели хорошо развитые органеллы и типичное строение ядра.

У животных 3-й группы в полости опорно-двигательной культы глазного яблока обнаруживалась жировая ткань, между дольками которой выявлялись незначительная мононуклеарная инфильтрация и рыхло расположенные коллагеновые волокна. Вокруг имплантата располагались единичные 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. По результатам электронной микроскопии, среди адипоцитов обнаруживались фрагменты клеток с множественными деструктивными изменениями. В цитоплазме клеток – редукция мембранных и немембранных органелл, выраженная деструкция мембран митохондрий, множественные аутофагосомы и лизосомы. В ядрах некоторых соединительнотканых клеток – гиперконденсация хроматина, кариорексис.

Таким образом, результаты световой и электронной микроскопии показали, что у животных 1-й группы в опорно-двигательной культе глаза к 21-м суткам после операции сформировалась зрелая плотная неоформленная соединительная ткань, в то время как у крыс 2-й группы обнаруживалась рыхлая соединительная ткань. В 3-й группе животных с 14-х суток в опорно-двигательной культе глаза определялись признаки биодеструкции имплантата (дистрофические и некротические изменения биоматериала).

Согласно результатам морфометрического анализа, в клеточном составе опорно-двигательной культы глазного яблока у крыс всех трёх групп на протяжении эксперимента (21 сутки) преобладали моноклеарные клетки (Таблица 1). При этом у животных 1-й группы 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 культе глаза у крыс 1-й группы ($n = 6$) в 3,3 раза ($p = 0,034$) превышало значения данного показателя у животных 2-й группы ($n = 6$) и у крыс 3-й группы ($n=6$) ($p = 0,0002$) (Таблица 1). На 14-е сутки численность клеток данной популяции в опорно-двигательной культе глазного яблока у крыс 1-й группы превышала таковую у крыс 2-й группы в 1,9 раза ($p = 0,01$), на 21-е сутки – в 2,2 раза ($p = 0,02$). Различия данного показателя с таковым у животных 3-й группы также были статистически значимыми ($p = 0,0001$) (Таблица 1).

Численная плотность лимфоцитов на протяжении всего эксперимента преобладала у животных 1-й группы. Так, на 7-е сутки число лимфоцитов у крыс 1-й группы в 3,1 раза превышало значение этого показателя у крыс 2-й группы ($p = 0,028$). На 14-е и 21-е сутки численность лимфоцитов в 1,9–2,0 раза превышала таковую у животных 2-й группы (Таблица 1).

При сравнении количества полиморфно-ядерных лейкоцитов у животных 1-й и 2-й групп было обнаружено, что на протяжении всего эксперимента данные показатели были примерно одинаковыми в связи с умеренной воспалительной реакцией на 7-е сутки и стиханием воспалительного процесса к 21-м суткам после операции (Таблица 1).

В связи с тем, что в 3-й группе животных имплантат был представлен в основном жировой тканью, клеточная плотность на протяжении всего эксперимента была низкой, поэтому разница показателей лимфоцитов и полиморфно-ядерных лейкоцитов в 1-й и 2-й группе по сравнению с показателями 3-й группы была очень высокой ($p = 0,0002$).

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 статистически значимое увеличение численности фибробластов в 22 раза по сравнению с наблюдаемым у животных 2-й группы ($p = 0,0001$), что свидетельствует о сдвиге воспалительной реакции в фазу регенерации. На 21-е сутки у животных 1-й группы наблюдалось уменьшение численной плотности фибробластов (Таблица 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 (Таблица 1), что указывает на начало созревания соединительной ткани. У животных 3-й группы статистически значимого изменения величины данного показателя не выявлено, при этом отмечено незначительное увеличение численности фибробластов к 21-м суткам, что указывает на формирование соединительной ткани между жировыми дольками в биоматериале.

Таблица 1 – Содержание клеток в 1 мм² среза опорно-двигательной культы 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.

Удельный объём соединительной ткани в опорно-двигательной культе глазного яблока у животных 1-й группы, начиная с 7-х суток после операции и на протяжении всего эксперимента, также статистически значимо превышал

таковой у животных остальных групп (Таблица 2). Так, у животных 1-й группы на 7-е сутки после операции значение данного показателя было в 7,9 раза выше, чем у крыс 2-й группы ($p = 0,048$), и в 15,8 раза выше, чем у животных 3-й группы ($p = 0,039$) (Таблица 2). На 14-е сутки объём соединительной ткани в опорно-двигательной культе глаза у крыс 1-й группы достигал наибольшего значения по сравнению с таковым у животных других групп (Таблица 2). На 21-е сутки у животных 1-й группы наблюдалось статистически значимое – в 1,2 раза – уменьшение объёма стромы опорно-двигательной культи 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 культи глаза на 21-е сутки после операции был в 1,19 раза выше, чем у крыс 1-й группы ($p = 0,0019$) и в 17,9 раза выше по сравнению с показателями 3-й группы ($p = 0,0003$) (Таблица 2). Необходимо отметить, что у всех животных 2-й группы на данном сроке наблюдения обнаруживались признаки незрелости соединительной ткани (неупорядоченные, рыхло 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 культи 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 животных 3-й группы статистически значимого изменения величины данного показателя не выявлено, при этом имело место незначительное увеличение объёма стромы к 21-м суткам, что указывает на формирование

соединительной ткани между жировыми дольками в биоматериале (см. Таблицу 2).

Численная плотность новообразованных сосудов у крыс 1-й группы, начиная с 14-х суток после операции и до завершения эксперимента (21-е сутки), статистически значимо превышала таковую у крыс остальных групп (см. Таблицу 2). Так, на 14-е сутки в 1-й группе животных обнаруживались новообразованные сосуды с признаками дифференцировки в артериолы и венулы, у животных 2-й группы – тонкостенные капилляры.

На 21-е сутки у крыс 1-й группы численная плотность новообразованных сосудов в 4,0 раза была выше, чем у животных 2-й группы ($p = 0,001$), и в 9,8 раза выше, чем у животных 3-й группы ($p = 0,0003$) (см. Таблицу 2). При этом у животных 1-й группы в опорно-двигательной культе глаза обнаруживались множественные новообразованные артериолы и венулы, что также указывает на созревание соединительной ткани.

Таким образом, результаты проведённого экспериментального исследования показали, что дополнительное введение аутологичных моноклеарных клеток крови в структуру имплантата из никелида титана после эвисцероэнуклеации способствует ускоренному созреванию соединительной ткани в опорно-двигательной культе глаза, что обеспечивает прочную фиксацию имплантата в склеральном мешке и снижает риск развития послеоперационных осложнений (обнажение, отторжение имплантата).

В главе «Обсуждение» был выполнен анализ полученных результатов с привлечением данных литературы.

Полученные результаты экспериментального исследования у животных 1-й группы с имплантатом из тканеинженерной конструкции объясняются как непосредственным дополнительным введением аутологичных моноклеарных клеток крови в структуру пористого имплантата из никелида титана, так и дополнительной миграцией клеток данной популяции вследствие индуцирующего (за счёт секреции биологически активных веществ) влияния экзогенно введенных моноклеаров.

Мы предполагаем, что при имплантации никелида титана в орбитальную полость крыс и дополнительном введении аутологичных моноклеарных клеток крови в структуру имплантата в культе глазного яблока ускоряются смена клеточных фаз воспаления и его переход в фазу регенерации. Моноклеары крови, секретировавшие провоспалительные цитокины – фактор некроза опухолей ($TNF\alpha$), $IFN\gamma$ – активируют M1 макрофаги, которые, в свою очередь, благодаря секреции IL-1, IL-6, IL-8, $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, тромбоцитарного фактора роста (PDGF) (Бикбов М. М. и др., 2008), приводят к активации фибробластов в очаге воспаления (Yang D. et al., 2014) (Рисунок 1). 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 (Nakayama T. et al., 2019) (Рисунок 1).

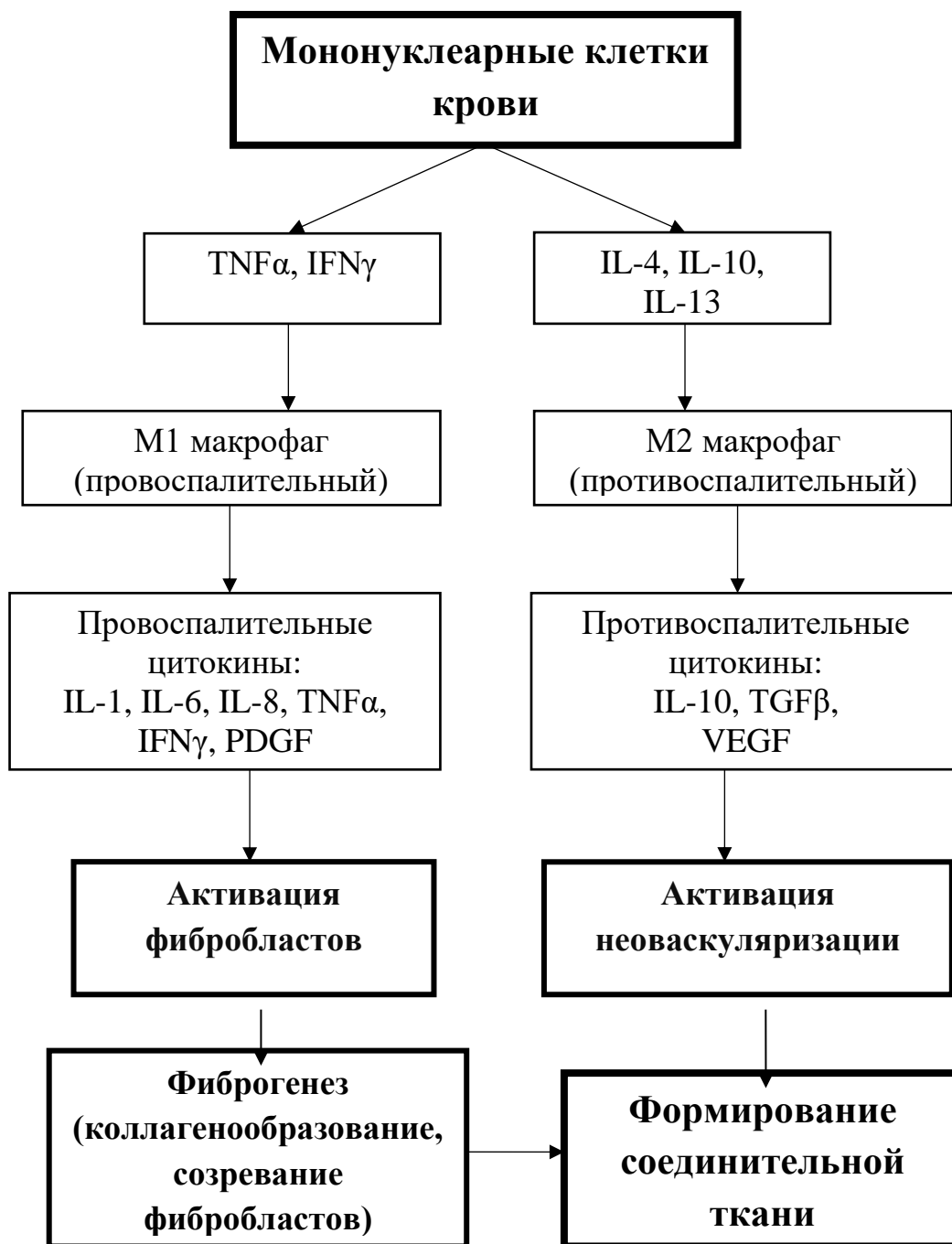


Рисунок 1 – Участие мононуклеарных клеток крови в формировании соединительной ткани (с учётом данных R. Yoshida и M. M. Murray (2013); A. L. Mescher (2017))

L-8 является независимым стимулятором фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), способствует пролиферации, миграции эндотелиальных клеток (Rouwkema J., Khademhosseini A., 2016). PDGF является мощным стимулом для восстановления тканей, активирует пролиферацию фибробластов, усиливает выработку коллагена (Шамитова Е. Н. и др., 2019).

Кроме того, моноклеарные клетки секретируют противовоспалительные цитокины, такие как IL-4, IL-10, IL-13, трансформирующий фактор роста β (TGF- β) и фактор роста эндотелия сосудов VEGF, которые играют решающую роль в неоваскулогенезе, регенерации тканей, а также в пролиферации и дифференцировке клеток, синтезе макромолекул межклеточного вещества (Mescher A. L., 2017) (см. Рисунок 1). VEGF – основной регулятор ангиогенеза - увеличивает проницаемость сосудистой стенки, избирательно активирует эндотелиальные клетки, контролирует их миграцию (Шамитова Е. Н. и др., 2019). TGF- β стимулирует синтез белков внеклеточного матрикса, способствуют стабилизации новообразованных сосудов (Rouwkema J., Khademhosseini A., 2016). Восстановление кровотока в поврежденных тканях обеспечивает их кислородом и питательными веществами, необходимыми для поддержки роста и функции репаративных клеток (Sadiq S. A. et al., 2008).

В нашей работе мы использовали имплантат из пористого никелида титана, который обладает высокой биосовместимостью, способностью стимулировать процессы регенерации поврежденной ткани, обеспечивает опорную и структурообразующую функцию, вызывает минимальные изменения в окружающих тканях. В ходе экспериментов микропористая поверхность никелида титана обеспечивала клеточную адгезию и кооперацию, активацию неоваскуляризации и прорастание сосудов между нитями имплантата (Рисунок 2).

Анализируя всё вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что имплантация в эксперименте *in vivo* тканеинженерной конструкции из никелида титана и суспензии аутологичных моноклеарных клеток крови обеспечивает эффективное формирование опорно-двигательной культивации глазного яблока. Никелид титана надёжно фиксируется в орбитальной полости вследствие прорастания соединительной ткани в местах переплетения нитей имплантата. За счёт своих упруго-эластичных свойств и эффекта памяти формы имплантат из никелида титана длительно и стабильно поддерживает форму опорно-двигательной культивации глазного яблока, хорошо переносится тканями глаза, отсутствуют смещение, обнажение и отторжение имплантата. Также он служит матриксом для аутологичных моноклеарных клеток крови, которые, фиксируясь к имплантату, запускают процессы пролиферации и дифференцировки клеток, что способствует созреванию соединительной ткани. В результате максимально снижается риск обнажения, миграции или отторжения имплантата.

Проведённое нами исследование подтверждает возможность использования тканеинженерной конструкции из никелида титана для формирования опорно-двигательной культивации глазного яблока, а аутологичных моноклеарных клеток крови – для ускоренного созревания соединительной ткани и обеспечения прочной фиксации имплантата в опорно-двигательной культивации глазного яблока.



Рисунок 2 – Формирование соединительной ткани при имплантации никелида титана (с учётом данных А. Н. Стеблюк, Г. М. Могильной (2012), J. Rouwkema, A. Khademhosseini (2016))

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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Формирование орбитальной культы с помощью никелида титана и аутологичных моноклеаров крови / **Е. А. Горбунова**, О. И. Кривошеина, А. А. Березовская, И. В. Запускалов и др. // Актуальные вопросы офтальмологии: сборник материалов Всероссийской юбилейной научно-практической конференции, посвященной 120-летию кафедры и клиники офтальмологии СибГМУ. – Томск, 2011. – С. 25–27.

2. Формирование опорно-двигательной культы при эвисцероэнуклеации с применением имплантата из никелида титана с аутологичными моноклеарами крови / **Е. А. Горбунова**, О. И. Кривошеина, А. А. Березовская, И. В. Запускалов и др. // Актуальные вопросы клинической офтальмологии. Социально значимые проблемы общей медицинской практики: материалы научно-практической конференции. – Северск, 2011. – С. 55–57.

3. Имплантат из никелида титана с аутологичными моноклеарами крови в реконструктивно-пластической хирургии орбиты / **Е. А. Горбунова**, О. И. Кривошеина, А. А. Березовская, И. В. Запускалов и др. // Восток–Запад. Сборник научных трудов научно-практической конференции по офтальмологии с международным участием. - Уфа, 2011. – С. 462–463.

4. Intraorbital Biotechnological Implants of Porous Titanium Nickelide Impregnated with Autologous Blood Monocytes after Evisceration in Vistar Rats / **E. Gorbunova**, A. Berezovskaya, V. Gunter et al. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2011. – Vol. 52, Iss. 14. – P. 730.

5. **Горбунова, Е. А.** Новый способ формирования орбитальной культы с помощью имплантата из никелида титана с аутологичными моноклеарами крови в эксперименте / Е. А. Горбунова // Науки о человеке: сборник статей по

материалам XII Российского конгресса молодых ученых с международным участием. – Томск, 2011. – С. 58–59.

6. Горбунова, Е. А. Использование имплантата из никелида титана и аутологичных мононуклеаров крови для формирования орбитальной культуры в эксперименте / Е. А. Горбунова, О. И. Кривошеина, И. В. Запускалов // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Том 10, №4. – С. 12–14. (ИФ РИНЦ – 0,767).

7. Горбунова, Е. А. Морфологические особенности формирования орбитальной культуры с помощью никелида титана и аутологичных мононуклеаров крови / Е. А. Горбунова, О. И. Кривошеина, И. В. Запускалов // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии. – Москва, 2013. – С. 79–81.

8. Горбунова, Е. А. Способ укрепления орбитальной культуры с помощью аутологичных мононуклеарных клеток крови / Е. А. Горбунова, О. И. Кривошеина, И. В. Запускалов // Восток-Запад. Сборник научных трудов научно-практической конференции по офтальмологии с международным участием. – Уфа, 2013. – С. 402–404.

9. Использование имплантата из никелида титана для формирования орбитальной культуры в эксперименте / Е. А. Горбунова, И. В. Запускалов, О. И. Кривошеина, А. А. Березовская // Материалы и имплантаты с памятью формы в медицине / под ред. проф. В. Э. Гюнтера. – Томск, 2014. – С. 123–124.

10. Горбунова, Е. А. Укрепление орбитальной культуры с помощью аутологичных мононуклеарных клеток крови в эксперименте / Е. А. Горбунова, И. В. Запускалов, О. И. Кривошеина // Офтальмохирургия. – 2014. – №2. – С. 62–65 (ИФ РИНЦ – 0,800).

11. Горбунова, Е. А. Использование аутологичных мононуклеарных клеток крови для укрепления орбитальной культуры / Е. А. Горбунова, И. В. Запускалов, О. И. Кривошеина // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 80-летию офтальмологической службы Алтайского края. – Барнаул. – 2014. – С. 16–20.

12. Горбунова, Е. А. Эффективность использования аутологичных мононуклеарных клеток крови для укрепления орбитальной культуры в эксперименте / Е. А. Горбунова, И. В. Запускалов, О. И. Кривошеина // Современные технологии диагностики и лечения заболеваний органа зрения : материалы Юбилейной научно-практической конференции, посвященной 20-летию курса офтальмологии ФПК и ППС СибГМУ. – Томск, 2014. – С. 13–17.

13. Горбунова, Е. А. Аутологичные мононуклеарные клетки крови как способ укрепления орбитальной культуры в эксперименте / Е. А. Горбунова, И. В. Запускалов, О. И. Кривошеина // Сборник материалов I Российского конгресса с международным участием «Пролиферативный синдром в биологии и медицине», Москва, 2014. – С. 77–82.

14. Горбунова, Е. А. Орбитальный имплантат из никелида титана и мононуклеарных клеток крови в эксперименте / Е. А. Горбунова, И. В. Запускалов, О. И. Кривошеина // Медицинский Вестник

Башкортостана. – Уфа, 2016. – Том 11, №1(61). – С. 107–110 (ИФ РИНЦ – 0,285).

15. Горбунова, Е. А. Современные принципы профилактики анофтальмического синдрома: способы формирования опорно-двигательной культы, виды орбитальных имплантатов / И. В. Запускалов, Е. А. Горбунова, О. И. Кривошеина // Бюллетень сибирской медицины. – Томск, 2017. – Том 16, №1. – С. 118–131 (ИФ РИНЦ – 0,767).

16. Горбунова, Е. А. Применение клеточной терапии при орбитальной имплантации никелида титана в эксперименте / Е. А. Горбунова, О. И. Кривошеина // Современные технологии в офтальмологии. – Москва, 2017. – №4(17). – С. 58–60.

17. Горбунова, Е. А. Современные способы формирования орбитальной культы после энуклеации (обзор литературы) / Е. А. Горбунова, О. И. Кривошеина // Восток-Запад. Сборник научных трудов научно-практической конференции по офтальмологии с международным участием. – Уфа, 2017. – №3. – С. 110–112.

18. Gorbunova, E. Morphological features of the musculoskeletal stump eye formation using titanium nickelide construction / E. Gorbunova, E. Filippova // RAD 7, Book of Abstracts, Seventh International Conference on Radiation in Various Fields of Research, June 10–14, 2019, Montenegro, P. 10.

19. Горбунова, Е. А. Морфологические особенности формирования опорно-двигательной культы глазного яблока с помощью конструкции из никелида титана / Е. А. Горбунова, Е. О. Филиппова // Морфология. – 2019. – Том 155, №2. – С. 83–84 (ИФ РИНЦ – 1,024).

20. Горбунова, Е. А. Использование клеточных технологий при формировании опорно-двигательной культы глаза в эксперименте *in vivo* / Е. А. Горбунова, Е. О. Филиппова // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2019 : Сборник тезисов LXXX научно-практической конференции с международным участием / Отв. ред. Н. А. Гавришева. – СПб., 2019. – С. 192–193.

21. Горбунова, Е. А. Морфологические аспекты имплантации тканеинженерной конструкции из никелида титана и аутологичных моноклеарных лейкоцитов крови при формировании орбитальной культы / Е. А. Горбунова, Е. О. Филиппова // Сборник материалов III Международного молодежного научно-практического форума «Медицина будущего: от разработки до внедрения», посвященного 75-летию Оренбургского государственного медицинского университета. – Оренбург : Изд-во ОрГМУ, 2019. – С. 121.

22. Горбунова, Е. А. Морфологические особенности применения жировой ткани для формирования орбитальной культы *in vivo* / Е. А. Горбунова, Е. О. Филиппова // XVI Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых. – Томск, 2019. – С. 35–37.

23. Горбунова, Е. А. Особенности морфогенеза культы глаза при использовании никелида титана и аутологичных моноклеаров крови

в эксперименте / Е. А. Горбунова, О. И. Кривошеина, С. В. Логвинов // Морфология. – 2019. – Том 156, №6. – С. 91 (ИФ РИНЦ – 1,024).

24. The formation of eyeball musculoskeletal stump using a Ni-Ti implant *in vivo* / E. O. Filippova, E. A. Gorbunova, O. I. Krivosheina et al. // Published under licence by IOP Publishing Ltd IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, Volume 597, Number 1. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 597 (2019) 012065. doi:10.1088/1757-899X/597/1/012065

25. Горбунова Е. А. Формирование опорно-двигательной культи глазного яблока с помощью тканеинженерной конструкции из никелида титана и аутологичных мононуклеарных лейкоцитов крови / Е. А. Горбунова, О. И. Кривошеина, Л. Р. Мустафина // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. XXII. – №1. – С. 157–164 (ИФ РИНЦ – 0,859).

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)