На правах рукописи

МИРИДОНОВА АННА ВЛАДИМИРОВНА

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО – КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАННИХ СРОКОВ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ИДИОПАТИЧЕСКИМИ ЭПИРЕТИНАЛЬНЫМИ МЕМБРАНАМИ

14.01.07 – глазные болезни

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Захаров Валерий Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом витреоретинальной хирургии и диабета глаза ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Борзенок Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН, руководитель Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Файзрахманов Ринат Рустамович – доктор медицинских наук, профессор кафедры Института усовершенствования врачей, заведующий центром офтальмологии ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

Сабурина Ирина Николаевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией клеточной биологии и патологии развития Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московский медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «16» марта 2020 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д.208.014.01 при ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59А.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59А.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук И.А. Мушкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

На протяжении последних десятилетий достигнут значительный прогресс в изучении природы и патогенетических механизмов формирования идиопатического эпиретинального фиброза. Однако некоторые фундаментальные вопросы развития идиопатических эпиретинальных мембран (иЭРМ) до сих пор остаются не до конца понятными.

Фиброзообразование в сетчатке представляет собой динамический процесс, характеризующийся типичным каскадом событий, возникающих в результате повреждения ткани и сопровождающихся мобилизацией клеток воспаления, продуцирующих медиаторы межклеточного взаимодействия, которые вызывают активацию ряда клеток и их трансформацию в миофибробластоподобный фенотип (Мехтиев С.Н. и др., 2014; Шкурупий В.А. и др., 2017; Хорошилова-Маслова И.П. и др., 2018). Именно фибробласты обеспечивают избыточную продукцию и накопление основных видов внеклеточного матрикса с последующим изменением структуры и функции ткани. Так своими исследованиями А.В. Кузнецова с соавторами (2011) подтверждают возможность образования фиброзных структур, в частности ЭРМ, путем активации и последующей пролиферации ряда клеток сетчатки, либо путем их дедифференцировки.

По мнению В.С. Репина и И.Н. Сабуриной (2006, 2010), формирование фиброзных образований сетчатки также зависит от факторов регионального микроокружения. При изменении эпителия на мезенхимальный фенотип образующиеся клетки обладают повышенной подвижностью и инвазивностью, что позволяет им покинуть локальное микроокружение, переместиться в новые условия и дать начало другим типам клеток (Лазаревич Н. Л., 2003). Принято считать, что чередование во времени эпителиальных и мезенхимальных признаков фенотипа является общей биологической закономерностью как в эмбриогенезе, так и в онтогенезе и связано с феноменом эпителиально-мезенхимальной трансформации (пластичности) (ЭМТ), поэтому данный механизм является физиологическим и функционирующим в норме во времени (Репин В.С., Сабурина И.Н., 2006; Сабурина И.Н., 2010). ЭМТ, связанная с эмбриональным развитием тканей и образованием опухолей в онтогенезе, выдвинута и другими авторами (Biamonti G. et al., 2014). Также концепция эмбрионально-мезенхимальной пластичности может лежать в основе перестройки зрелых дифференцированных клеток и тканей при их репарации и фиброзе. Причем формирование преретинального фиброза во времени сопровождается

разной степенью выраженности и зрелости коллагеновых структур, опосредующих степень инвазивности оперативного вмешательства при удалении ЭРМ. Поэтому дальнейшее изучение ЭМТ в настоящее время представляется обоснованным и перспективным направлением медикобиологических исследований. Понимание механизмов ЭМТ может помочь в выявлении важных патогенетических особенностей развития фиброза в различных органах, в том числе в глазном яблоке.

Эпиретинальный фиброз (ЭРФ) по своей структуре представляет собой пролиферативное образование, которое развивается в области контакта стекловидного тела с внутренней поверхностью сетчатки (Балашевич Л.И. и др., 2015). Эпиретинальные мембраны обладают способностью к сокращению и могут приводить к деформации поверхности витреомакулярного интерфейса (ВМИ), приводящие к снижению остроты зрения и развитию метаморфопсий (Пономарева Е.Н., Казарян А.А., 2014; Качалина Г.Ф. и др., 2013; Куранова О.И., 2014). В настоящее время не существует эффективных средств и способов консервативного лечения, способных остановить прогрессирование пролиферативного процесса и констрикцию формирующихся ЭРМ. В этой связи хирургическое удаление иЭРМ остается эффективным и основным методом устранения тракционного воздействия на сетчатку в случае клинически значимого идиопатического эпиретинального фиброза.

До недавнего времени хирургическое лечение иЭРМ выполнялось только при значительном снижении остроты зрения (Rahman R., Stephenson J., 2014). Однако по данным некоторых авторов (Panos G. et al., 2013; Dawson S. et al., 2014), при этом не всегда удается достигнуть высоких зрительных функций, а достижение нормальной толщины сетчатки и нормального фовеального профиля происходило лишь в 5-28% случаев (Massin P., 2000; Mazit C. et al., 2008). Это может быть обусловлено со структурными изменениями зоны витреомакулярного интерфейса (ВМИ), которые выражаются в задержке и незаконченности восстановления ее морфологии и функции после удаления ЭРМ и внутренней пограничной мембраны (ВПМ) (Качалина Г.Ф. и др., 2013; Файзрахманов Р.Р., Зайнуллин Р.М., 2018; Бикбов М.М., Файзрахманов Р.Р., Зайнуллин Р.М., 2018). При этом прослеживается связь с большим количеством и степенью зрелости коллагеновых структур мембран, обеспечивающих высокую степень адгезии к поверхности сетчатки и деструкцию структурных элементов ВМИ. Поэтому в настоящее время ведется активное изучение морфологического состава мембран и измененных ВПМ с целью понимания патогенетических механизмов формирования иЭРМ и степени вызываемых ими нарушений на разных стадиях пролиферативного процесса. Данные последних экспериментальных и

клинических исследований существенно меняют взгляд на патогенетические механизмы ЭРФ и смещают акценты в хирургической стратегии лечения данной патологии. Результаты этих исследований могут способствовать выбору оптимальных сроков проведения хирургического лечения в зависимости от стадии фиброзирования и персонифицированного подхода к ведению пациентов.

Выше приведенные положения определили актуальность и выбор цели данной диссертационной работы.

Цель настоящего исследования

Изучение патофизиологических механизмов формирования и прогрессирования идиопатического эпиретинального фиброза и обоснование сроков хирургического лечения пациентов в зависимости от стадии пролиферативного процесса.

Задачи исследования

1.Создать модель эпителиально-мезенхимальной пластичности в эксперименте in vitro и изучить иммуноцитохимическим методом патофизиологические механизмы перехода клеток в мезенхимальный фенотип на примере ретинального пигментного эпителия.

2.Изучить методом иммуногистохимии морфо-функциональные закономерности эпителиально-мезенхимальной пластичности в формировании и развитии идиопатических эпиретинальных мембран, полученных от пациентов с различной остротой зрения, с учетом фенотипа клеточного состава, типов коллагена и его зрелости.

3.Определить морфологические и клинико-функциональные закономерности между стадиями пролиферативного процесса в зависимости от степени зрелости идиопатических эпиретинальных мембран.

4.Обосновать и оценить анатомическую и клинико-функциональную эффективность хирургического лечения идиопатических эпиретинальных мембран разной степени зрелости у пациентов с различной остротой зрения.

5.На основании корреляционного и регрессионного анализов определить прогностически значимые критерии функциональных исходов хирургического удаления идиопатических эпиретинальных мембран в зависимости от сроков проведения операции.

Научная новизна

1.Впервые изучены в эксперименте in vitro на ретинальном пигментном эпителии эпителиально-мезенхимальная пластичность, проявляющаяся в экспрессии маркеров и индукторов подобного феномена, а именно виментина, a-SM актина, Snail + Slug.

2.Впервые изучены патофизиологические механизмы формирования и прогрессирования идиопатического эпиретинального фиброза и идентифицирован морфологический состав ЭРМ на различных этапах формирования и степени их зрелости, выражающейся в трансформации клеточного состава в мезенхимальный фенотип, проявляющий свойства миофибробластоподобных клеток, способных к продуцированию компонентов экстрацелюлярного матрикса (коллаген IV, VI типов).

3.Впервые изучена морфология и динамика клинико-функциональных изменений у пациентов с идиопатическим эпиретинальным фиброзом на разных этапах его формирования, выражающаяся в нарастающей трансдифференцировке исходных клеток в миофибробластоподобные и в прогрессирующем необратимом снижении остроты зрения.

4.Впервые обоснованы сроки раннего хирургического удаления иЭРМ ввиду начальной трансформации клеток в мезенхимальный фенотип, приводящей к слабой адгезии эпиретинальной и внутренней пограничной мембран, коррелирующими с МКОЗ и СЧ, как прогностически значимыми критериями восстановления зрения оперированных пациентов ($r=0,731$, $p<0,000$).

Практическая значимость

1.Результаты исследования обеспечивают наиболее точное прогнозирование исходов оперативного лечения и способствуют корректному отбору пациентов для хирургического вмешательства.

2.Результаты изученного морфологического состава и зрелости эпиретинальных мембран на различных этапах формирования эпиретинального фиброза позволяют определять оптимальные сроки проведения хирургического вмешательства, не ожидая перехода заболевания в тяжелый пролиферативный процесс, что позволяет улучшить функциональные результаты лечения данной патологии, ускорить медицинскую и социальную реабилитацию пациентов за счет повышения остроты и качества зрения, повысить удовлетворенность результатами операции.

3.Уточненные прогностически значимые критерии восстановления зрительных функций позволяют определять необходимость, перспективность и сроки хирургического лечения преретинального фиброза, корректно

ориентировать пациентов на своевременное проведение оперативного вмешательства с целью достижения максимально возможного функционального результата.

Основные положения, выносимые на защиту

1.Выявленные критерии нарастания трансдифференцировки клеточного состава в эксперименте in vitro, а также трансдифференцировки клеточного состава и гиперпродукции компонентов внеклеточного матрикса по мере прогрессирования пролиферативного процесса при идиопатическом эпиретинальном фиброзе подтверждают необратимость морфологических изменений сетчатки, что указывает на необходимость более раннего проведения хирургического лечения пациентов с целью предотвращения необратимых изменений зрительных функций.

2.Раннее хирургическое лечение идиопатического эпиретинального фиброза следует проводить при нарастании жалоб на метаморфопсии и прогрессировании снижения остроты зрения на 0,1 от ранее исходной. Это обеспечивает более щадящее удаление эпиретинальной и внутренней пограничной мембран ввиду менее выраженных изменений пролиферативного характера, что позволяет предотвращать повреждение нейроэпителия фовеолы и нарушения архитектоники сетчатки, тем самым сохранять высокие зрительные функции и качество зрения, а также сокращать сроки реабилитации пациентов.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на на XIV Научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» (Москва, 2016); XI Всероссийской научной конференции молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2016); XVI Научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» (Санкт-Петербург, 2018); XIII Всероссийская научной конференции молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2018); на научно - клинической конференции ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России (Москва, 2018); XVII Научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» (Сочи, 2019); XVI Всероссийской научной конференции международным участием «Федоровские чтения» (Москва, 2019).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 18 – 315 – 00357 «мол_а» по теме: «Эпителиально-мезенхимальная пластичность как механизм формирования эпиретинального фиброза».

Внедрение в практику

Результаты исследований внедрены в клиническую практику Головной организации, в Центр фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем, в практическую и научную деятельность Чебоксарского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Санкт-Петербургского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, а также включены в цикл лекций для клинических ординаторов, аспирантов и курсантов в Научно-педагогическом центре ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России и кафедры Глазных болезней Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в постановке задач и разработке дизайна исследования, выполнял комплексное клинико-диагностическое обследование пациентов до и после операции с использованием современных методов исследования, ассистировал на всех этапах хирургического вмешательства, осуществлял сбор материала для исследования, самостоятельно проводил экспериментальные исследования. Автором самостоятельно сформирована база данных, проведена статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 5 в журналах, рецензируемых ВАК РФ. Получен 1 патент РФ на изобретение.

Структура и объем диссертации

Текст диссертации изложен на 159 страницах, содержит 14 таблиц и 50 рисунков. Работа состоит из введения и 5 глав, включающих обзор литературы,

материалы и методы исследования, три главы результатов собственных исследований, содержит общее заключение, выводы и практические рекомендации. Список литературы состоит из 191 источника, включающих 44 отечественных и 147 иностранных публикаций.

Все лабораторные методы исследования проводились на базе лабораторий Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем (ЦМБП) ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, под руководством заведующего ЦМБП д.м.н., профессора, академика РАЕН С.А. Борзенка, при непосредственном участии ведущего научного сотрудника, к.м.н. Куприяновой А.Г. и научного сотрудника, к.б.н. Островского Д.С.

Клиническая часть работы выполнялась в отделе витреоретинальной хирургии и диабета глаза ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, под руководством заведующего д.м.н., профессора В.Д. Захарова, при непосредственном участии научного сотрудника, к.м.н. Колесник С.В. и младшего научного сотрудника, к.м.н. Колесник А.И.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

I.Лабораторная часть работы посвящена определению феномена эпителиально-мезенхимальной трансформации и степени нарастания фиброзного процесса в эксперименте in vitro на 2D модели РПЭ с помощью иммуноцитохимического метода. А также выявление подобного феномена ЭМТ с помощью иммуногистохимического метода в образцах удаленных иЭРМ, уровень коллагенов IV и VI типов и клеток, участвующих в развитии и прогрессировании фиброзного процесса.

Эксперимент ***in vitro***. Для выделения РПЭ было использовано 5 глазных яблок от 5 доноров-трупов. Из кадаверных глаз производили выделение клеток по оригинальной методике предложенной Борзенком С.А. с соавторами (патент РФ на изобретение № 2569481 от 25.12.2014 «Способ получения культуры клеток ретинального пигментного эпителия из глаза взрослого донора-трупа»). Полученные клеточные культуры РПЭ нулевого пассажа (P0)

Состав питательной среды:

1.FBS (*англ.* fetal bovine serum, фетальная бычья сыворотка, HyClone, США) – естественный источник фактора роста и адгезии клеток.

2.Ростовая среда Игла в модификации Дульбекко и среды Хэма (*англ.* Dulbecco's Modified Eagle Medium/Ham's F12, DMEM/F12, Sigma, США) в соотношении 1:1 по объему. Базисная среда для выращивания широкого спектра клеточных культур.

3.Глутамакс (TermoFisherScientific, США) – биологическая добавка для нормализации обмена веществ – 1%.

4.Смесь антибиотиков: пенициллин, стрептомицин, амфотерицин B (Sigma Aldrich, Канада) – 1%.

Через 1 неделю проводили подсчет клеток (автоматический счетчик клеток «Luna II», Logos biosystems, Корея). По достижению конфлуэнтности (т.е. полного зарастания) клеточного слоя в каждом культуральном матрасе полученные 2D культуры РПЭ рассаживали на 3 культуральных матраса, получая культуру клеток РПЭ 1-го пассажа – P1. Подобным образом производили рост клеток до 3-го и 5 - го пассажей (культура P3, P5).

Для иммуноцитохимического исследования отдельно формировали 2D культуры РПЭ P1, P3, P5 с целью выявления ряда специфических белковых маркеров (Abcam, Великобритания): RPE-65 – высокоспецифичный фермент пигментного эпителия сетчатки, один из ключевых белков зрительного цикла; ZO-1 (*лат.* zonula occludens) – белок запирающих межклеточных контактов; виментин – белок промежуточных филаментов III типа, основной компонент мезенхимальных клеток, увеличение экспрессии виментина является признаком ЭМТ клеточной культуры; факторов сигнальной трансдукции и транскрипции ЭМТ Snail + Slug (Snail1, Snail2 (Slug)); маркера миофибробластов (α-гладкомышечный актин).

Иммуногистохимическое исследование проводили на 75 образцах удаленных идиопатических эпиретинальных мембран у пациентов клиническая характеристика которых представлена ниже. Во время хирургического вмешательства удаленные образцы мембран фиксировались в 2,0 мл 4% параформальдегида (PanReac AppliChem, Германия) в стерильных пробирках типа эппендорф (GenFollower, Китай). Через 4 часа их переносили в стерильные пробирки с 2,0 мл физиологического раствора. Данные мембраны подготавливались для окраски по стандартной методике с целью выявления ряда специфических белковых маркеров (Abcam, Великобритания): виментин, α-SM актин, Snail + Slug, определяли уровни экспрессии коллагенов IV и VI типов (компоненты экстрацеллюлярного матрикса), а также уровень маркеров глиальных клеток (GFAP, CRALBP) и гиалоцитов (CD 45).

Полученные снимки иммуногистохимических исследований анализировали используя программное обеспечение «CellProfiler», которое позволяет выделять

необходимые для анализа клеточные компоненты, а именно ядро, цитоплазму или клетку (ядро + цитоплазма), и рассчитать интенсивность свечения каждой клетки, используя встроенные инструменты программного обеспечения.

II. Клиническая часть работы состоит клинико-морфологических и клинико-функциональных результатах хирургического лечения иЭРМ.

В исследование вошли 75 пациентов с симптоматической идиопатической эпиретинальной мембраной. Отбор пациентов осуществлялся сплошным методом в период с 2016-2019. Срок наблюдения пациентов составил 1, 3, 6 и 12 месяцев.

Все пациенты предъявляли жалобы на снижение остроты зрения. Метаморфопсии были у 100%, снижение центрального зрения - 75%, микропсии – 35 %, нарушение бинокулярного зрения - 63% и диплопия - 35%.

Пациенты разделены на 3 равные группы в зависимости от максимально корригируемой остроты зрения (МКОЗ):

1 группа – от 0,7 до 0,9, пациенты были в возрасте от 51 до 82 лет (в среднем 64,32 ± 7,69; здесь и далее M±σ), среди них 20 женщин и 5 мужчин;

2 группа – от 0,3 до 0,6, возраст от 56 до 86 лет (71,76 ± 6,75), 18 женщин и 7 мужчин;

3 группа – от 0,05 до 0,25, от 57 до 82 лет (72,04 ± 7,26), 19 женщин и 6 мужчин.

Критериями включения для всех групп были: подтверждённый с помощью спектральной оптической когерентной томографии эпиретинальный фиброз с тагненциально – тракционным компонентом, макулярный отек, значительное увеличение выраженности жалоб на метаморфопсии, микропсии, по данным анамнеза, снижение остроты зрения хотя бы на одну строчку, длина глаза менее 25-ти мм, прозрачные оптические среды, а также подтвержденной с помощью в-сканирования наличие задней отслойки стекловидного тела, отсутствие сопутствующей офтальмологической патологии и серьезных заболеваний органов и систем. Кроме этого, пациентов из 1-ой группы ориентировали на хирургическое вмешательство только при усилении жалоб на метаморфопсии и снижении МКОЗ на 0,1 от исходных значений.

Всем пациентам проводили комплексное офтальмологическое обследование в сроки до и через 1, 3, 6 и 12 месяцев после проведенного хирургического лечения. Оно включало авторефрактометрию, визометрию, периметрию, тонометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, ультразвуковую эхобиометрию, ультразвуковое сканирование в В-режиме, электрофизиологические исследования (определение порога электрической чувствительности и электрической лабильности), оптическую когерентную томографию (ОКТ). ОКТ производили на

аппарате «3D OCT-2000 FA Plus» Topcon (Япония) с последующим анализом, площади ЭРМ, степени тангенциально-тракционного синдрома, толщины центральной зоны сетчатки, слоя IS\OS.

Для оценки функционального состояния сетчатки проводили микропериметрию на приборе (MAIA, CenterVue Inc., США). Применялась программа macula_12° 10 dB, которая оценивает светочувствительность (СЧ) сетчатки в зоне 12° с центром в фовеа (45 точек) и основана на пороговой стратегии 4-2. Исследование проводилось в затемненном помещении после темновой адаптации в течение 15 минут, на фоне медикаментозного мидриаза. Для оценки СЧ использовали стандартные стимулы размером 0,43° (Goldmann III) с экспозицией 200 мс. Компенсация движений глаз во время исследования осуществлялась с помощью опции «eye tracking», позволяющей проецировать световые стимулы на 55 строго определенные участки сетчатки. Кроме того, определение СЧ сетчатки в одних и тех же точках (опция «follow-up») позволяло проводить оценку результатов лечения в динамике. Рассчитывали среднюю центральную светочувствительность макулярной зоны сетчатки. Результат исследования указывался в децибелах (дБ).

Оперативное вмешательство представляло стандартную субтотальную 25G, 27G трехпортовую витрэктомию с факоэмульсификацией катаркты и имплантаций интраокулярной линзы (ИОЛ), выполняли на хирургическом комбайне EVA (Dorc, Нидерланды) и Constellation (Alcon, США). Контрастирование ЭРМ проводили с использованием красителя membrane blue dual (DORC, Нидерланды). Далее с помощью эндовитреального пинцета 705.44 P или 711.44 P Grieshaber Revolution («Alcon Laboratories Inc.» (США)) проводили удаление ЭРМ и внутренней пограничной мембраны (ВПМ) площадью до 2,5-3 диаметра ДЗН). Обращали внимание на характер их удаления: отдельно друг от друга (послойное удаление ЭРМ, ВПМ) или единым блоком. При выполнении эндовитреального хирургического вмешательства использовали ирригационный раствор BSS («Alcon LaboratoriesInc.», США) с целью поддержания объема витреальной полости. Оперативное вмешательство заканчивали без наложения швов с закладыванием в конъюнктивальную полость глазной мази «Декса-Гентамицин» (Урсафарм Арцнаймиттель ГмбХ, Германия). После удаления блефаростата на глаз накладывали защитную марлевую повязку. В третьей группе с целью минимизации повреждений сетчатой оболочки удаление иЭРМ производили по «лепестковой» технике. На предложенный способ удаления иЭРМ получен патент РФ на изобретение № 2620660 от 24.05.2016.

Статистическую обработку клинических исследований проводили с использованием компьютерных программ Statistica 10.0 («StatSoft», США) и Microsoft Office Excel 2007 («Microsoft», США). Характер распределения данных оценивали с помощью критериев Шапиро-Уилка (при количестве наблюдений менее 50) и Колмогорова-Смирнова (при количестве наблюдений не менее 50). Данные с нормальным распределением представлены в формате M ± SD, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение. Данные с распределением отличным от нормального, представлены в формате Me (Q25;Q75), где Me – медиана, Q25, Q75 – нижний и верхний квартиль. Для сравнения данных с нормальным распределением до и после операции использовали t-критерий Стьюдента для зависимых выборок, с отличным от нормального распределения – критерий Уилкоксона. Для выявления соотношения между количественными показателями проводили множественный регрессионный анализ, а также корреляционный анализ по Спирмену. Силу корреляционной связи определяли в соответствии со шкалой Чеддока (по абсолютной величине): менее 0,10 – связь отсутствует, 0,1-0,3 – слабая, 0,3-0,5 – умеренная, 0,5-0,7 – средняя, 0,7-0,9 – высокая, 0,9 и более – очень высокая. Статистически достоверными признавали различия, при которых уровень достоверности (p) $p<0,05$.

Для достижения поставленной цели работа была разделена на последовательные этапы, соответствующие задачам исследования.

Результаты исследования эпителиально-мезенхимальной трансформации в эксперименте in vitro на культуре клеток РПЭ и иммуногистохимические результаты исследования образцов удаленных иЭРМ

На данном этапе, согласно 1-й и 2-й задачам диссертационного исследования для идентификации эпителиально-мезенхимальной трансформации проводили иммуноцитохимическое окрашивание в эксперименте in vitro на 2 D модели клеток ретинального пигментного эпителия и образцов удаленных идиопатических эпиретинальных мембран на маркеры и индукторы ЭМТ (виментин, α-SM актин, Snail + Slug). Кроме того, изучали клеточный состав и прогрессирование фиброзного процесса, подтверждающее ремоделирование ткани идиопатических мембран с помощью иммуногистохимического окрашивания образцов мембран на GFAP, CD 45, CRALBP, коллаген VI и IV типов.

Иммуноцитохимическая характеристика 2D модели ретинального пигментного эпителия в эксперименте in vitro

Иммуноцитохимическое исследование показало, что культура клеток на P1 представлена небольшими группами клеток. Все клетки экспрессировали RPE65, ZO-1 (данные маркеры являются специфическими для ретинального пигментного эпителия), что свидетельствовало о сохранности фенотипа полученных клеточных культур. Так же выявлена экспрессия маркера Snail + Slug. Специфическое окрашивание данным маркером устанавливает наличие начальных признаков ЭМТ, так как Snail + Slug является одним из основных активаторов программы трансформации. Экспрессия виментина и α-SMA не была выявлена.

В культуре РПЭ P3 наблюдалось изменение клеточной морфологии. Выявлялись изменения профиля экспрессии маркеров в сторону мезенхимального фенотипа. Экспрессия высокоспецифических маркеров пигментного эпителия сетчатки RPE65 и ZO-1 не выявлялась, что обусловливает полную трансдифференцировку клеток в мезенхимальный фенотип. В то же время экспрессия Snail + Slug нарастала. В данном пассаже были выявлены клетки, экспрессирующие виментин, который является маркером начальной стадии эпителиально-мезенхимальной трансформации. Его появление указывает на перестройку цитоскелета клетки, влекущую последующее изменение её функции. Также в образцах был обнаружен α-SMA - маркер дифференцировки гладкой мускулатуры и активированных фибробластов. Его наличие подтверждает переход данных клеток в мезенхимальный фенотип, указывая на прогрессирование пролиферативного процесса и процесс трансформации. Клетки, экспрессирующие α-SMA проявляют сократительную активность. Перечисленные наблюдения указывают на проявления и нарастания феномена эпителиально-мезенхимальной трансформации клеточной культуры.

В культуре РПЭ пассажа P5 было выявлено нарастании экспрессии маркеров мезенхимального фенотипа по сравнению с P3, что обусловлено в увеличении пула миофибробластоподобных клеток и прогрессировании эпителиально-мезенхимальной трансформации клеточной культуры.

При сравнительном анализе между экспрессией Snail + Slug на 1, 3 и 5 пассажах, выявлена статистически значимая разница ($p<0,05$) между экспрессией данного маркера в P1 и P5. Экспрессия данного маркера возрастает с P1 до P5 в среднем в 23,8 раз, что подтверждает прогрессирование процесса ЭМТ клеточного состава. В P1 пассаже экспрессия виментина и α-SM актина не выявлена. При сравнительном анализе P3 и P5 между экспрессией α-SM актина выявлена статистически значимая разница ($p<0,05$), данный маркер нарастает к

P5, что говорит об увеличении количества миофибробластоподобных клеток. Отсутствие специфических маркеров РПЭ (RPE 65, ZO – 1) на P3 и P5 также подтверждает полную трансформацию клеток в мезенхимальный фенотип и потерю ими свойств эпителиальных клеток.

Таким образом, проведенное экспериментальное исследование показало переход эпителиальных клеток в мезенхимальный фенотип путем процесса ЭМТ. При этом в клетках изменялась экспрессия большого числа белков: маркеров (виментина и α-SM актина), указывающих на активацию процессов, и его регуляторов (Snail + Slug), непосредственно участвующих в осуществлении программирования процесса ЭМТ. С течением времени происходит перестройка клеточного состава, что выражается в увеличении экспрессии вышеперечисленных специфических маркеров и регуляторов клетками.

Иммуногистохимические результаты исследования образцов удаленных иЭРМ

Для того чтобы исследовать эпителиально-мезенхимальную трансформацию, изучить клеточный состав и прогрессирование фиброзного процесса, необходимо было определить уровень маркеров и индукторов ЭМТ, а также GFAP, CRALBP, CD 45, коллагенов VI и IV типов в 3-х группах.

В образцах удаленных идиопатических эпиетинальных мембран 1-ой группы были выявлены глиальные клетки, которые были представлены клетками Мюллера и астроцитами. Иммуногистохимическим маркером глиальных клеток сетчатки является глиальнокислый фибриллярный протеин (GFAP), клеточный ретинальдегид связывающий протеин (CRALBP), который представляет собой целлюлярный филаментобразующий белок, особенно представленный в клетках Мюллера. В 7 случаях (28%) выявлялись гиалоциты – CD 45. Во всех исследуемых образцах преобладали GFAP и CRALBP – позитивные клетки, а также выявлены в 10 случаях (40%) глиальные клетки, экспрессирующие виментин, который является оптимальным маркером ранних этапов трансформации клеток. Его появление указывало на перестройку цитоскелета клетки. Также в 14 образцах (56%) был обнаружен α-SMA - маркер дифференцировки гладкой мускулатуры и активированных фибробластов. Его наличие подтверждало переход данных клеток в мезенхимальный фенотип, а именно в фибробластоподобный, показывая начало пролиферативного процесса. Клетки, экспрессирующие α-SMA проявляют сократительную активность, обусловливая сморщивание самой мембраны и объясняя появление жалоб у

пациентов на метаморфопсию, при относительно высокой МКОЗ. Также во всех образцах был выявлен Snail + Slug, что свидетельствует об активации программы ЭМТ. В 7 случаях (28%) были выявлены коллагены IV и VI типов.

При иммуногистохимических исследованиях у пациентов из 2-ой группы выявлено снижение клеток, экспрессирующие GFAP, CRALBP и CD 45, что говорит о трансформации данных клеток в миофибробластоподобные. Однако во всех 25 образцах (100%) выявлено увеличение клеток экспрессирующих виментин, α-SMA, Snail + Slug. Увеличение количества активных пролиферирующих клеток свидетельствовало о прогрессировании патологического процесса. В 22 случаях (88%) были выявлены коллагены IV и VI типов.

В образцах 3-ей группы в 7 случаях (28%) выявлены клетки экспрессирующие GFAP, CRALBP и в 5 случаях (20%) – CD 45. Выраженное снижение данных маркеров свидетельствовало о снижении количества глиальных клеток и гиалоцитов. Кроме того, выявлены во всех 25 образцах (100%) коллагены IV и VI типов, а также увеличение экспрессии виментина, α-SMA, Snail + Slug, что свидетельствует о усилении прогрессировании патологического процесса и трансдифференцировки исходных клеток в мезенхимальный фенотип.

Таким образом, на примере прогрессирования идиопатического эпиретинального фиброза прослежена эпителиально-мезенхимальная трансформация клеточного состава в мезенхимальный фенотип, выражающаяся в постепенном вовлечении в процесс все большего количества клеток, их активации и трансдифференциации в миофибробластоподобные клетки, что проявлялось увеличением экспрессии: виментина, α-SM актина, Snail + Slug, снижением экспрессии GFAP, CRALBP, CD45, а также появлением способности клеток к гиперпродукции компонентов внеклеточного матрикса (коллагены VI и IV типов). С течением времени происходит прогрессирование патологического процесса и трансформация исходного клеточного состава.

Клинико-морфологическая оценка хирургического лечения образцов удаленных идиопатических эпиретинальных мембран

На данном этапе, согласно 3-ей задаче диссертационного исследования, оценивали характер удаления эпиретинальной мембраны с поверхности сетчатки во время хирургического вмешательства и проводили корреляцию с их морфологическим составом. А также определяли зависимость МКОЗ до операции

от особенностей качественного состава образцов удаленных идиопатических мембран.

Характер удаления эпиретинальной мембраны с поверхности сетчатки

Для оценки уровня адгезии эпиретинальной мембраны к поверхности сетчатки во время хирургического вмешательства обращали внимание на характер удаления иЭРМ и ВПМ: отдельно друг от друга (послойное удаление ЭРМ, ВПМ) или единым блоком.

В результате исследования выявлено, что у пациентов из 1-ой группы с МКОЗ от 0,7 до 0,9, в 23 случаях (92%) ЭРМ удалялись отдельно от ВПМ. Это было обусловлено меньшей степенью адгезии данных мембран с ВПМ и сетчаткой. В подобных мембранах выявлено большое количество клеток еще не подвергшихся трансформации, а также обнаружены единичные миофибробластоподобные клетки, способные продуцировать экстрацеллюлярный матрикс и обладающие сократительной активностью. В результате данные структуры не имели выраженной спаянности друг с другом.

Эпиретинальные мембраны из 2-ой группы удалялись в 20 случаях (80%) с поверхности сетчатки единым блоком с ВПМ, что свидетельствует о более плотной адгезии данных структур, ввиду значительных изменений клеток ЭРМ и в увеличении продукции коллагена, выявлена статистически значимая разница между уровнем экспрессии коллагенов IV и VI типов между 1 и 2 группой ($p<0,05$).

В 3-ей группе ЭРМ и ВПМ удаляли с поверхности сетчатки единым блоком во всех случаях (100%). В 19 случаях (76%) сращение мембран с сетчаткой было настолько плотным, что удаление таких участков могло привести к повреждению последней. В связи с этим в данных местах проводили иссечение остатков ЭРМ витреотомом. В подобных мембранах согласно иммуногистохимическому исследованию возрастало количество мезенхимальных маркеров, в большем количестве определялись коллаген IV и VI типов ($p<0,05$). Выявленные изменения мембран пациентов 3-ий группы свидетельствовали о завершении процессов пролиферации и трансформации клеток.

Зависимость МКОЗ до операции от особенностей клеточного состава образцов удаленных идиопатических мембран

Для выявления зависимости МКОЗ до операции и уровня экспрессии маркеров виментина, α-SMA, коллагенов IV и VI типов, GFAP, Snail+Slug, CD 45, CRALBP у пациентов с идиопатической эпиретинальной мембраной при объединении групп 1, 2 и 3 проводили корреляционный анализ Спирмена.

Выявлено, что все исследуемые маркеры (виментин, α-SMA, коллагены IV и VI типов, GFAP, Snail+Slug, CD 45, CRALBP) имели статистически значимую корреляционную связь с МКОЗ до операции у пациентов с иЭРМ ($p<0,001$). Причем маркеры виментин, α-SMA, коллагены IV и VI типов, Snail+Slug имели сильную обратную корреляционную связь ($r<-0,9$, $p<0,001$), а маркеры GFAP, CD 45, CRALBP – сильную прямую корреляционную связь ($r>0,9$, $p<0,000$) с МКОЗ до операции у пациентов с идиопатической ЭРМ.

Таким образом, с течением времени пролиферативный процесс прогрессирует и захватывает все большее количество клеток, приводя к грубым и необратимым анатомо-функциональным повреждениям, выражающимся в значительном снижении качества зрения. Полученные результаты подтверждают, что ключевым моментом в процессе формирования и прогрессирования ЭРМ является их трансдифференциация в миофибробластоподобные клетки, которые проявляют сократительные свойства, способствуя сморщиванию мембраны и натяжению сетчатки. Кроме того, увеличивающийся пул данных клеток приводит к гиперпродукции коллагена, в то время как катаболизм продуктов ЭЦМ замедляется. Это вызывает дальнейшее усиление симптомов у пациента, проявляющиеся в прогрессированном снижении остроты зрения и увеличении метаморфопсий, а также увеличении адгезии мембран к поверхности сетчатки.

Клинико-функциональные результаты хирургического лечения пациентов с идиопатическим эпиретинальным фиброзом

На данном этапе, согласно 4-ой и 5-ой задачам диссертационного исследования, проводили сравнительный анализ клинико-функциональных результатов хирургического лечения, а также корреляционный и регрессионный анализы послеоперационной МКОЗ от дооперационных параметров.

Согласно полученным результатам все пациенты отмечали улучшение остроты зрения и уменьшение жалоб на метаморфопсии в послеоперационном периоде: в 1-ой группе - уже через месяц после проведенного лечения, далее происходило стремительное снижение жалоб вплоть до 6 месяца; во 2-й группе

отмечали постепенное уменьшение жалоб до 6-12 месяца; в 3-ей – жалобы снижались к 6-9 месяцу, у 14 пациентов сохранялись в течение всего периода наблюдения.

При анализе клинико-функциональных результатов лечения в 1-ой группе, выявлено, что МКОЗ улучшалась уже в течение первого месяца после лечения 0,80 (0,70; 1,00), при этом максимальных значений достигала к 6-ти месяцам 1,0 (0,8; 1,0), отмечали плавное и постепенное увеличение параметров СЧ до 27,25 (26,50; 27,90) Дб, а также статистически значимое уменьшение данных ЦТС в фовеа на всех сроках наблюдения до 345,00 (334,00; 356,00) мкм

Во 2-ой группе выявлено, что максимальных значений МКОЗ удалось достичь только через 12 месяцев, при этом она составила в среднем 0,80 (0,60; 0,90). Так же отмечали статистически значимое увеличение параметров СЧ сетчатки на всех сроках наблюдения до СЧ 26,20 (24,50; 27,00) и уменьшение данных ЦТС на всех сроках наблюдения до 366,00 (334,00; 377,00) мкм по сравнению с дооперационными данными.

В 3-ей группе МКОЗ не достигала максимальных значений, даже по истечению всего периода наблюдения и составляла 0,50 (0,30; 0,60), СЧ на сроках 1 и 3 месяца не отличалась от дооперационных данных ($p>0,05$) и имела статистически достоверную разницу ($p<0,05$) только к 6 и 12 месяцам и составляла 23,70 (21,90; 25,60), 23,70 (22,10; 24,75) соответственно. Также было выявлено постепенное уменьшение параметров ЦТС на всех сроках наблюдения по сравнению с дооперационными данными до 370,00 (341,00; 425,00) мкм. Однако, все послеоперационные параметры зрительных функций в данной группе были существенно ниже, чем в предыдущих двух.

При анализе зависимости послеоперационной МКОЗ от дооперационных параметров на первом этапе при объединении групп 1, 2 и 3 (с различными исходными данными МКОЗ) проводили корреляционный анализ Спирмена, было выявлено МКОЗ через 12 месяцев после операции имеет прямую, сильную корреляционную связь с МКОЗ до операции ($r=0,731$, $p<0,000$); и прямую среднюю корреляционную связь со светочувствительностью сетчатки до операции ($r=0,581$, $p<0,000$). На втором этапе данного подраздела проводили множественный регрессионный анализ с пошаговым включением. В результате данного анализа из четырех факторов (возраст, МКОЗ, СЧ сетчатки и ЦТС до операции) в модель прогнозирования результатов МКОЗ через 12 месяцев после хирургического удаления иЭРМ программой были включены МКОЗ до операции ($p<0,000$) и светочувствительность сетчатки до операции ($p=0,026$). Остальные

факторы (возраст и ЦТС сетчатки до операции) не имели статистической значимости ($p>0,05$). В связи с этим, была получена формула зависимости МКОЗ через 12 месяцев после операции от МКОЗ и светочувствительности сетчатки до операции:

МКОЗ 12 месяцев п/оп = -0,252+0,694*МКОЗ до/оп+0,029*СЧ сетчатки до/оп

Данная формула имеет скорректированный коэффициент детерминации $R^2=0,567$ ($p<0,000$).

Таким образом, в результате проведенного исследования было определено, что скорость восстановления остроты зрения и степень регресса толщины сетчатки в центральной зоне коррелирует с тяжестью дооперационных пролиферативных изменений в макулярной области. Кроме этого, выявлено, что морфо-функциональные нарушения, вызванные иЭРМ являются необратимыми и, зачастую, зависят не столько от техники хирургического сопровождения, сколько от сроков его проведения.

Согласно полученным данным четко прослеживается взаимосвязь сроков оперативного вмешательства с анатомо - функциональными результатами после хирургического лечения. Повышение остроты зрения после операции было достигнуто во всех группах. Однако значительно быстрее восстановление зрительных функций происходило у пациентов 1-ой группы – в течение 1-го месяца после операции. Во 2-й группе МКОЗ достигала максимальных значений, лишь по истечению всего периода наблюдения, а в 3-ей группе отмечалась тенденция к наиболее низкой остроте зрения в течение всех 12-ти месяцев наблюдения. Уменьшение толщины сетчатки коррелировало с функциональными результатами и достигало минимальных значений через год после лечения во всех исследуемых группах. Следовательно раннее выполнение хирургического вмешательства является более рациональным. И должно проводиться у пациентов с идиопатическим эпиретинальным фиброзом при усилении жалоб на метаморфопсии и снижении остроты зрения на 0,1 от исходных данных. Это может предотвратить развитие необратимых повреждений сетчатки в макулярной области, а также, способствовать более быстрому восстановлению зрительных функций ввиду удаления нежной патологической ткани без излишнего травматического воздействия на сетчатку за счет минимальной адгезии мембраны к поверхности сетчатки.

ВЫВОДЫ

1.На основании эксперимента in vitro на 2D модели ретинального пигментного эпителия выявлено, что в основе прогрессирования фиброзного патологического процесса лежит перестройка исходного клеточного состава в мезенхимальный фенотип, выражающаяся в увеличении экспрессии маркеров мезенхимальных клеток Snail + Slug в 23,8 раз ($p<0,05$), виментина и α-SM актина клетками ($p<0,05$) с последующим изменением их морфологии и функциональных свойств.

2.Методом иммуногистохимии было прослежено прогрессирование пролиферативного процесса с течением времени, что выражалось в массивной трансдифференцировке клеток в миофибробластоподобные с гиперпродукцией компонентов экстрацеллюлярного матрикса – коллагенов VI и IV типов и ремоделированием ткани сетчатки, что коррелировало с функциональными изменениями ($r<-0,9$, $p<0,000$) и приводило к нарастанию специфических жалоб на метаморфопсии и постепенному необратимому снижению остроты зрения.

3.Анализ морфологического состава удаленных образцов иЭРМ в 3-х группах и их изменений по мере прогрессирования фиброзного процесса показал статистически значимую разницу в снижении экспрессии маркеров глиальных клеток и гиалоцитов ($p<0,05$), а также увеличении маркеров мезенхимальных клеток и компонентов экстрацеллюлярного матрикса ($p<0,05$), что выражалось в усилении адгезии ЭРМ и ВПМ с течением времени с последующим возникновением участков сращения с сетчаткой.

4.Анализ клинико-функциональных результатов хирургического лечения иЭРМ различной степени зрелости показал, что скорость восстановления МКОЗ, СЧ и степень регресса изменений центральной толщины соответствовало тяжести дооперационных пролиферативных изменений: в 1-ой группе восстановление максимальных значений МКОЗ до 1,00 (0,80; 1,00) происходило к 6-му месяцу, СЧ до 27,25 (26,50; 27,90) Дб к 12-му месяцу; во 2-ой группе высоких показателей МКОЗ не достигала даже по истечению всего периода наблюдения и составляла 0,80 (0,60; 0,90), СЧ 26,20 (24,50; 27,00); в 3-ей группе через 12 месяцев МКОЗ составляла 0,50 (0,30; 0,60), СЧ 23,70 (22,10; 24,75) Дб. Уменьшение толщины сетчатки достигало минимальных значений через 12 месяцев после операции.

5.С помощью корреляционного и регрессионного анализов выявлено, что МКОЗ и СЧ сетчатки являются прогностически значимыми критериями исходов оперативного лечения иЭРМ ($r=0,731$, $p<0,000$), а также доказана эффективность, безопасность и целесообразность хирургического удаления идиопатической ЭРМ у пациентов с высокой МКОЗ (коэффициент детерминации $R^2=0,567$ ($p<0,000$))

при снижении остроты зрения на 0,1 от исходных значений и прогрессировании жалоб на метаморфопсии в течение периода наблюдения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1.Для проведения научного исследования эпителиально-мезенхимальной трансформации разработаны методологические подходы и методы исследований, которые могут применяться для формирования экспериментальных исследований в области витреоретинальной хирургии. С помощью иммуногистохимического анализа могут быть изучены следующие ростовые факторы: виметин, α-SM актин, Snail + Slug, коллагены 4 и 6 типов, которые оказывают влияние на раннее и позднее коллагенообразование, фиброзирование и ремоделирование ткани сетчатки в различные сроки наблюдения и в зависимости от конституциональных особенностей индивида.

2.Раннее хирургическое лечение пациентов с высокой МКОЗ с диагнозом идиопатический эпиретинальный фиброз можно быть рекомендовано в случае нарастания жалоб в течение наблюдения и снижения остроты зрения в данный период на 0,1 от исходных данных.

3.Проведение раннего хирургического лечения пациентов с идиопатическими эпиретинальными мембранами позволяет удалять патологическую ткань с поверхности сетчатки без излишнего травматического воздействия ввиду менее выраженной трансформации клеточного состава и низкого уровня содержания компонентов экстрацеллюлярного матрикса, которые приводят к ремоделированию ткани сетчатки и прогрессирующему снижению остроты зрения, что позволяет улучшить функциональные результаты лечения данной патологии, ускорить медицинскую и социальную реабилитацию пациентов за счет повышения остроты и качества зрения, повысить удовлетворенность результатами операции.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1.Горшков И.М., Колесник С.В., Шестопалов В.И., Миридонова А.В Клинико-морфологические особенности клеточного состава идиопатических эпиретинальных мембран у пациентов с различной остротой зрения // Современные технологии в офтальмологии. – 2016. – № 1. – С. 61-64.

2.Миридонова А.В, Горшков И.М., Колесник С.В., Шестопалов В.И., Колесник А.И. Клинико-морфологические особенности клеточного состава идиопатических эпиретинальных мембран у пациентов с различной остротой зрения // Современные технологии в офтальмологии. – 2016. – № 4. – С. 150-152.

3.Горшков И.М., Колесник С.В., Шестопалов В.И., Миридонова А.В Клинико-морфологические особенности клеточного состава идиопатических эпиретинальных мембран у пациентов с различной остротой зрения // в сборнике: Макула - 2016 VII Всероссийский семинар-"круглый стол". Микролекции. Доклады. Дискуссии. Лица. "Кулуары и подковерье". – 2016. – С. 84-87.

4.Горшков И.М., Колесник С.В., Шестопалов В.И., Миридонова А.В Клинико-морфологические особенности клеточного состава идиопатических эпиретинальных мембран у пациентов с различной остротой зрения // Офтальмохирургия. – 2017. – №2. – С. 6-10.

5.Захаров В.Д., Борзенок С.А., Горшков И.М., Колесник С.В., Колесник А.И., Куприянова А.Г., Островский Д.С., Миридонова А.В. Клинико-экспериментальная оценка раннего хирургического лечения идиопатических эпиретинальных мембран у пациентов с начальными признаками патологического процесса // Современные технологии в офтальмологии. – 2018. – №1. – С. 127-131.

6.Захаров В.Д., Борзенок С.А., Горшков И.М., Колесник С.В., Колесник А.И., Миридонова А.В. Этиопатогенетические аспекты и роль структур витреоретинального интерфейса в формировании идиопатических эпиретинальных мембран // Практическая медицина. – 2018. – №3(114). – С. 71-76.

7.Миридонова А.В., Борзенок С.А., Горшков И.М., Колесник С.В., Колесник А.И., Островский Д.С. Переход клеток в мезенхимальный фенотип на примере прогрессирования идиопатического эпиретинального фиброза // Современные технологии в офтальмологии. – 2018. – №4. – С. 200-203.

8.Колесник С.В., Горшков И.М., Колесник А.И., Шестопалов В.И., Миридонова А.В., Островский Д.С. Клинико-морфологическое обоснование ранних сроков хирургического лечения идиопатических эпиретинальных мембран // Современные технологии в офтальмологии. – 2019. – №1 (26). – С. 85-89.

9.Захаров В.Д., Борзенок С.А., Колесник С.В., Миридонова А.В., Горшков И.М., Колесник А.И., Шестопалов В.И., Островский Д.С. Клинико-морфологическая оценка хирургического лечения идиопатических эпиретинальных мембран у пациентов с начальными признаками патологического процесса // Офтальмохирургия. – 2019. – №2. – С. 18-23.

10.Захаров В.Д., Борзенок С.А., Колесник С.В., Горшков И.М., Колесник А.И., Шестопалов В.И., Миридонова А.В., Островский Д.С. Преимущества и клинико-морфологические результаты раннего хирургического лечения идиопатических эпиретинальных мембран // Аспирантский вестник Поволжья. – 2019. – №1-2. – С. 70-79.

11.Борзенок С.А., Захаров В.Д., Миридонова А.В., Куприянова А.Г., Колесник С.В., Островский Д.С., Горшков И.М., Колесник А.И., Арбуханова П.М.

Патофизиологические механизмы эпителиально-мезенхимальной трансформации идиопатического эпиретинального фиброза // Патологическая физиология и экспериментальная терапия – 2020. – №1.

ПАТЕНТ РФ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Патент на изобретение № 2644296 от 19.05.2017 Способ хирургического лечения идиопатической эпиретинальной мембраны Захаров В.Д., Шкворченко Д.О., Горшков И.М., Колесник С.В., Миридонова А.В.

БИОГРАФИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Миридонова Анна Владимировна, 1991 года рождения, в 2014 году окончила ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России по специальности «Лечебное дело».

С 2014 по 2016 гг. проходила обучение в клинической ординатуре по специальности «Офтальмология» в ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

С 2016 по 2019 гг. проходила обучение в очной аспирантуре по специальности «Глазные болезни» в ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Руководитель научного проекта при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований № 18 – 315 – 00357 «мол_а» по теме: «Эпителиально-мезенхимальная пластичность как механизм формирования эпиретинального фиброза».

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВПМ – внутренняя пограничная мембрана
ВМИ – витреомакулярный интерфейс
ЗГМ – задняя гиалоидная мембрана
ЗОСТ – задняя отслойка стекловидного тела
иЭРМ – идиопатическая эпиретинальная мембрана
иЭРФ – идиопатический эпиретинальный фиброз
КМ – клетки Мюллера
МП – микропериметрия
МКОЗ – максимальная корригированная острота зрения
ОКТ – оптическая когерентная томография

РПЭ – ретинальный пигментный эпителий
СТ – стекловидное тело
ЭМТ – эпителиально-мезенхимальная трансформация
ЭЦМ – экстрацеллюлярный матрикс
Дб – децибелы
Мкм – микрометры
СЧ – светочувствительность
2D – *англ.* two-dimensional, двухмерный
TGF β2 – трансформирующий фактор роста