

THE STATE OF RETICULATED AND VASCULAR EYE MEMBRANES OF RABBIT WITH DIABETES MELLITUS, MODELLED WITH DITHIZONE. INFORMATION 4. COMPARATIVE MORPHOLOGIC CONFRONTATION OF NEURODEGENERATION PHENOMENON IN DITHIZONE AND STREPTOZOTOCINE DIABETES

E. V. Maltsev, A. V. Zborovskaya, A. E. Dorokhova
Odessa, Ukraine

Comparative morphologic confrontation of neurodegeneration phenomenon of retina in rabbit (dithizone model of diabetes), rat (neonatal streptozotocine diabetes) and mouse (underdose streptozotocine diabetes) was carried out. It was revealed that after routine coloration of rabbit eye specimens neurodegeneration easily stated in outer and inner nuclear layers and ganglionic layer of retina. They were accompanied by plexyforme layers thinning, photoreceptors stratum and pigment epithelium destruction. But after the same coloration in rat and mouse eyes neurodegeneration was not determined. Obviously, that rabbits model of the diabetes mellitus is much preferable for retinal neuronal damages investigation in cases of diabetic retinopathy development.



Обзоры литературы

УДК 617.7-089.843:618.346(048.8)

ПРИМЕНЕНИЕ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ.

Г. И. Дрожжина, проф., **Т. Б. Гайдамака**, д. мед. н., **Е. В. Вансович**, врач
ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины»

Тяжелые воспалительные заболевания роговицы, травмы и ожоги глаза приводят к развитию язв и перфораций роговицы, заканчиваются формированием грубых рубцовых изменений конъюнктивы, бельм и существенным снижением зрения. Для лечения такой тяжелой патологии в офтальмологии традиционно используют местные ткани глаза, а также аутологичные и донорские трансплантаты. В связи с огромным дефицитом донорских тканей для трансплантации и, в частности, роговицы идет постоянный поиск альтернативных материалов, которые можно использовать с лечебной и оптической целью.

Амниотическая мембрана (АМ) впервые была использована в офтальмологии более 70 лет назад. Однако широкое применение трансплантации амниотической мембраны (ТАМ) у пациентов с различной патологией переднего отдела глаза началось с 1995 года [19,20, 35,50,77]. Сегодня благодаря своим уникальным свойствам ТАМ заняла прочное место в реконструктивной хирургии глазной поверхности. Так, в 2008 году только в Германии в общей сложности было выполнено 2308 ТАМ [61].

Наиболее важными показаниями к ТАМ в реконструктивной хирургии глаза являются стойкие дефекты эпителия роговицы с изъязвлениями различной этиологии, дефекты после хирургического удаления большого участка пораженной конъюнктивы, острые химические ожоги, симблефароны и ре-

конструкция сводов конъюнктивы, а также дефицит лимбальных стволовых клеток роговицы с одновременной пересадкой стволовых клеток [66, 67, 71, 74].

Амниотическая мембрана — самая внутренняя из трех плодных оболочек, прозрачная, аваскулярная, развивающаяся из фетальной эктодермы и состоящая из слоя эпителиальных клеток, расположенных на основной мембране, и соединительнотканной стромы. Амнион состоит из пяти слоев: амниотический эпителий, базальная мембрана, компактный слой, слой фибробластов, спонгиозный слой [7]. Толщина АМ составляет $(0,0138 \pm 0,004)$ см. Амниотический эпителий обладает высокой метаболической активностью. Его цитоплазма богата липидами (фосфолипиды, лецитин, кефалин, триглицериды и др.), полисахаридами, протеинами, мукополисахаридами, фосфорными соединениями. АМ имеет также богатый арсенал ферментов, в том числе ферменты синтеза простагландинов: фосфолипазы, простагландин синтетазы, циклооксигеназы. Клетки амниотического эпителия имеют высокую синтетическую активность, вырабатывая вещества, обладающие иммунодепрессивной активностью (а-фетопротеины), ламинины 6 и 7, которые в ковалентной ассоциации с ламинином 5 обеспечивают стабильное эпителиально-стромальное вза-

© Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака, Е. В. Вансович, 2012

имеет действие, интерлейкины, эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста α , β_1 , β_2 , β_3 , основной фибробластный фактор роста, эндотелины, усиливающие пролиферацию, миграцию и дифференциацию стволовых клеток эпителия, а также вещества, предупреждающие эпителиальный апоптоз и угнетающие развитие фиброза [8, 69]. В плаценте формируются противогерпетические антитела. Кроме того, амниотическая мембрана обладает интерферогенной бактерицидной активностью [12, 88]. Амниотический эпителий содержит гликоген и ферменты, необходимые для гликолиза и дыхания. Содержание в амниотическом эпителии дегидроэпиандростеронсульфатазы указывает на возможность синтеза им стероидов [7].

Базальная мембрана расположена под амниотическим эпителием, она представляет собой сеть ретикулярных волокон. В подэпителиальном слое проходят кровеносные сосуды. К базальной мембране прилегает компактный слой, состоящий из переплетающихся, тесно расположенных ретикулярных волокон. Базальная мембрана состоит из большого количества протеогликанов, богатых сульфатом гепарина, которые по-видимому, выполняют барьерную функцию, регулируя проницаемость АМ. Базальная мембрана играет важную роль в поддержании целостности, прозрачности и эластичности АМ. Для применения амниона в офтальмологии именно его базальная мембрана имеет важнейшее значение. Амнион содержит большое количество коллагена, гиалурона и, преимущественно малых протеогликанов, таких как бигликан и декорин. Коллаген I, III, IV, V и VII типов, ламинин, фибронектин обнаружены в базальной мембране и строме амниона. К. Fukuda et al. в 1999г доказали схожесть структуры ламинина-1, -5, фибронектина и коллагена VII типа в базальных мембранах конъюнктивы, роговицы и АМ, что объясняет высокую способность амниона к биоинтеграции в ткани глаза [40].

Несмотря на единый источник происхождения и морфологическое родство базальной мембраны и стромы амниона, их биохимический состав значительно различается. Базальная мембрана состоит из коллагена IV и VII типов, ламинина, протеогликанов, богатых сульфатом гепарина. Строма амниона представлена коллагеном I, III и V типов [36].

Слой фибробластов состоит из клеток, располагающихся в густой сети коллагеновых, ретикулярных волокон и межклеточного вещества. Среди клеток этого слоя встречаются митозы, имеются гистиоциты и клетки Кашенко-Гофбауэра. Наличие в этом слое миофибробластов, способных сокращаться, предохраняет амнион от перерастяжения [7].

Спонгиозный слой посредством соединительнотканых волокон и межклеточного вещества связан с гладким хорионом. В этом слое встречаются фибробласты и макрофаги.

Впервые об успешном применении АМ для устранения кожных дефектов сообщил J. Davis в 1910 г. В 1913 г М. Stern и N. Sabella независимо друг от друга применили АМ для лечения ожогов и изъязвлений поверхности кожи. Они предположили, что поскольку АМ и кожа имеют единое происхождение, то ее применение обоснованно при лечении кожных дефектов. Авторы отмечали уменьшение боли, улучшение эпителизации, отсутствие инфекционных осложнений на травмированной кожной поверхности. В дальнейшем АМ успешно применялась при лечении ожогов и трудно эпителизирующихся язв кожи, использовалась при реконструктивных операциях в гинекологии, кардиохирургии, при пластике слизистой оболочки носа и барабанной полости [36]. В офтальмохирургии АМ впервые применили А. De Roth и А. Sorsby в 40-х гг 20 века при лечении ожогов глаз. Затем амнион применялся для склероукрепляющих операций, пластики склеры при проникающих ранениях. Однако данный способ лечения был до недавнего времени невостребованным без очевидных на то причин.

Современный этап применения АМ в офтальмохирургии открыли S. Tseng с коллегами в 1997 г. Ими был разработан способ консервации АМ, который в настоящее время считается стандартным во многих офтальмологических клиниках мира. АМ успешно используется для лечения ожогов глаз, язв роговицы, буллезной кератопатии, персистирующих эрозий роговицы, синдрома Стивенса-Джонсона, пемфигоида, рецидивирующего птеригиума, симблефарона, а также для формирования конъюнктивальной полости при анофтальмическом синдроме [36, 88].

В исследованиях различных авторов изучен механизм действия АМ при трансплантации на поверхность глаза, доказано, что она : защищает нервные окончания от механического раздражения, формирует механический барьер, препятствующий проникновению микроорганизмов и миграции полиморфноядерных лейкоцитов в очаг воспаления, активирует пути межклеточного взаимодействия посредством интегринов, способствует поддержанию пролиферативной способности эпителиальных стволовых клеток и предотвращает их апоптоз, способствует поддержанию нормальной морфологии растущих эпителиальных клеток и стимулирует их дифференцировку, регулирует пролиферацию стромальных фибробластов в миофибробласты и, таким образом, уменьшает активность рубцевания, опосредованно влияя на репаративный потенциал ткани, является структурным материалом, способным интегрироваться в ткань роговицы, обеспечивает неспецифический противомикробный иммунитет.

Клинические исследования показывают, что трансплантация АМ способствует эпителизации и дифференциации эпителия поверхности глаза

[54,67,71,74,87]. Наиболее важные факторы роста, которые способствуют заживлению ран, были выделены в основном из амниотического эпителия, но также и из стромы. Ими являются эпидермальный фактор роста и фактор роста кератоцитов [54,87]. Наблюдаемые эпителиотропные эффекты при ТАМ объясняют наличием таких структурных белков, как ламинин и коллаген VII типа [40].

Высокое содержание нейротропных веществ делает АМ идеальным субстратом для реконструкции эпителия поверхности глаза [65,84]. Подавление сигнала трансдукции TGF-Я в роговичных и конъюнктивальных фибробластах *in vitro* объясняет антирубцовый эффект АМ, достигаемый в лечении различных заболеваний поверхности глаза [56].

На начальном этапе после ТАМ отмечается, как правило, значительное снижение воспаления. Использование ТАМ *in vitro* уменьшает активность различных факторов роста и провоспалительных цитокинов [76]. Кроме того, провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин-10 и интерлейкин-1 выделяются в эпителии и строме АМ и могут модулировать воспалительные процессы. Они могут играть важную роль в регенерации роговицы после острых химических ожогов при покрытии АМ. Амнион имеет также иммуномодулирующий эффект, в связи с чем его отторжение весьма редко наблюдается в клинической практике [51,59].

Ueta et al. (2002) показали, что АМ способен ингибировать аллореактивные Т-клетки, в том числе деление клеток, пролиферацию и синтез цитокинов Th1/Th2 *in vitro*. Кроме того исследование показали способность АМ секретировать неидентифицированный ингибирующий фактор, подавляющий аллогенный ответ [89]. Клетки АМ не имеют на своей поверхности HLA-A, В и С антигенов, DR- антигенов, а также β 2- микроглобулина. В эксперименте на животных и испытаниях на добровольцах не обнаружено значимого иммунологического ответа на трансплантацию АМ [55].

Механизм действия амниотической оболочки основан на сохранении в ткани метаболически активных веществ естественного происхождения, корригирующих местный иммунный статус пациента и обладающих полифармакологическим эффектом специфической (заместительной) и неспецифической (общей для всех зародышевых тканей) направленности [29].

В исследованиях *in vitro* было доказано, что клетки амниотического эпителия секретуют растворимые факторы, которые значительно замедляют пролиферацию Т и В лимфоцитов, а также угнетают хемотаксис нейтрофилов и макрофагов [89].

В криоконсервированной АМ были обнаружены многочисленные факторы роста: трансформирующий фактор роста α , β 1, β 2, β 3, эпителиальный фактор роста кератоцитов, фактор роста гепатоци-

тов, нейрональный фактор роста и фактор роста фибробластов.

В составе АМ обнаружен человеческий амниотический интерферон γ , который не только проявляет сложную биологическую активность с интерферонами α и β , но кроме этого обладает значительным противовирусным действием. АМ содержит антиангиогенные и противовоспалительные факторы, тканевые ингибиторы протеаз различных типов (ТИР), α 1- антитрипсин, α 2 — макроглобулин, ингибитор α 2 — плазмина и α 2 — антихимотрипсина, тромбоспондин, трансферрин, эндостатин.

Присутствие, концентрация и действие этих веществ обуславливает основные клинические эффекты и механизмы действия АМ [86].

Таким образом, АМ обладает следующими свойствами: улучшает эпителизацию, сохраняет нормальный эпителиальный фенотип, уменьшает воспаление, образование рубцовой ткани и процессы адгезии между тканями, угнетает неоваскуляризацию роговицы, обладает противомикробной активностью.

Кроме того, являясь биологической мембраной, амнион обладает избирательной проницаемостью, а также способностью накапливать различные вещества и затем их высвободить. При инстилляциях в конъюнктивальный мешок раствора антибиотика происходит его депонирование, а затем постепенное высвобождение и поступление в ткани глаза. Благодаря этому в роговице и влаге передней камеры поддерживается более высокая по сравнению с контролем концентрация антибактериального препарата, что способствует повышению эффективности лечения [87].

МЕХАНИЗМЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АМ

1. Эффект биологической повязки.

А. Sorsby (1947) впервые использовал АМ как биологическую повязку в лечении щелочных ожогов глаз [77]. У. Нао (2000) продемонстрировал антиангиогенное и противовоспалительное действие АМ [46]. Он обосновал необходимость применения АМ, ориентированной эпителиальной поверхностью к поврежденной поверхности глаза для достижения наивысшей концентрации вышеуказанных факторов в зоне повреждения. При данной методике для использования больше подходит свежая АМ, чем консервированная. Применение АМ в качестве биоповязки для покрытия зоны повреждения или воспаления выявило не только ее благотворное влияние на процессы заживления, но и значительный анальгезирующий эффект. Кроме того, АМ, обладая высокой прочностью и пластичностью, не препятствует прохождению лекарственных веществ из конъюнктивальной полости. Мембрана полу-

прозрачна, что дает возможность использовать ее в качестве универсального биологически активного барьера [17].

2. Активация эпителизации.

S. Lee и S. Tseng (1997) в эксперименте доказали, что базальная мембрана амниона является субстратом, облегчающим миграцию эпителиальных клеток и усиливающим их адгезию [57]. Также она стимулирует дифференцировку клеток, что способствует ускорению процесса эпителизации. Особо следует отметить, что морфология выросших на амнионе эпителиальных клеток идентична нормальным клеткам роговицы или конъюнктивы (в зависимости от зоны трансплантации).

S. Tseng и P. Prabhasawat (1997) продемонстрировали увеличение количества бокаловидных клеток в зоне трансплантата при использовании амниона для пластики конъюнктивальных сводов [24]. N. Koizumi и J. Shimazaki (2000) на основании данных своих исследований полагают, что эффект активации эпителизации во многом определяется наличием факторов роста в АМ (эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста β , основной фибробластный фактор роста). Эпителиальные клетки мембраны способны синтезировать натрийуретический пептид и кортикотропный рилизинг-гормон, что усиливает клеточную пролиферацию и метаболизм кальция [53, 54].

Способность базальной мембраны амниона стимулировать пролиферацию эпителиальных клеток-предшественников может объяснить эффективность трансплантации АМ в случае частичной недостаточности лимбальных клеток. В процессе исследований оказалось, что АМ улучшает приживляемость трансплантата, выполняет роль биомеханического барьера. Кроме того, АМ повышает степень прозрачности трансплантата, уменьшает степень неоваскуляризации с нарастанием конъюнктивальной ткани на донорскую роговицу по сравнению с кератопластиками, выполненными по традиционным методикам [19]. После кератопластики, комбинированной с ТАМ, была достигнута отличная эпителизация, а по сравнению с ранее наблюдавшимися случаями без применения АМ отек стромы и складки десцеметовой мембраны трансплантата были менее выражены.

Было доказано, что АМ может выполнять роль контактной линзы, обеспечивая таким образом процессы эпителизации [8]. Увлажненная слезой АМ становится влажной средой, необходимой для реэпителизации. В отличие от многих синтетических материалов АМ обеспечивает достаточную оксигенацию эпителиальных клеток.

3. Супрессия (ингибирование) воспаления, рубцевания и ангиогенеза.

Известно, что фибробласты ответственны за образование рубцовой ткани во время заживления

ран и активируются трансформирующим фактором роста β (TGF- β) [36]. АМ ингибирует рецепторы фибробластов к TGF- β , сводя процессы фиброза к минимуму. Было доказано, что АМ играет роль супрессора TGF- β в роговой оболочке, лимбе и конъюнктиве. В своих исследованиях Chui, Tseng (2001) показали, что АМ ингибирует дифференцировку кератоцитов в миофибробласты, способствуя поддержанию прозрачности роговой оболочки [34].

Была установлена эффективность применения АМ для лечения тяжелых нейротрофических язв роговицы [45]. Точный механизм противовоспалительного действия амниотической мембраны неясен. Доказано, что АМ служит барьером, уменьшая миграцию воспалительных клеток к пораженной зоне и уменьшает продукцию медиаторов воспаления. В АМ человека были обнаружены многие противовоспалительные факторы: тканевые ингибиторы металлопротеаз, интерлейкины I, X, а также эндостатин, который ингибирует пролиферацию эндотелиальных клеток, ангиогенез и опухолевый рост [36]. Эпителий АМ синтезирует тромбоспондин-1, являющийся анти-ангиогенным фактором, а строма АМ супрессирует два мощных провоспалительных фактора — IL-1 α и IL-1[46]. В 2001 Shimmura и др. сообщили, что АМ уменьшает воспаление благодаря способности к захвату клеток воспаления. Криоконсервированная АМ в качестве биологического покрытия находилась на травмированной глазной поверхности в течение одной недели. Результаты показали что CD4+, CD8+, и CD14+ основные воспалительные клетки присутствовали в большом количестве в АМ и большинство захваченных АМ клеток подверглось апоптозу. Кроме того, была выявлена значительная супрессия неоваскуляризации роговицы [70].

Противовоспалительный эффект связывают с тем, что АМ предотвращает инфильтрацию подлежащих тканей полиморфноядерными лейкоцитами, а также с наличием в стромальном матриксе АМ цитокинов-ингибиторов воспаления и тканевых ингибиторов металлопротеаз [36].

Y. Nao et al (2000) установили, что в эпителиальных и мезенхимальных клетках АМ содержатся мощные антиангиогенные факторы: эндостатин, тромбоспондин-1, тканевые ингибиторы металлопротеаз (TIMP-1, -2, -3, -4). Кроме того, АМ образует физический барьер, препятствующий проникновению воспалительных медиаторов и активаторов ангиогенеза в патологический очаг.

4. Антибактериальные и противовирусные свойства

АМ обладает антимикробным эффектом против ряда микроорганизмов, что обеспечивается формированием физического барьера за счет наличия базальной мембраны, а также присутствием в АМ лизоцима, трансферрина, 7S-иммуноглобулина,

лактоферрина, специфических антител (появляющихся в третьем триместре беременности). Прогестерон, как известно, также обладает бактериостатическим эффектом против стафилококков и других грамположительных микроорганизмов (7).

Амниотическая мембрана может снизить риск присоединения инфекции благодаря антибактериальным свойствам. АМ содержит цистатин Е, аналог ингибитора протеиназы цистеина, который обладает противовирусными свойствами. АМ может функционировать как барьер для бактериальной контаминации благодаря адгезии к раневой поверхности. В чистых хирургических ранах кровоостанавливающие свойства коллагена амниотической базальной мембраны предотвращают формирование гематомы, уменьшают накопление микробов и таким образом снижают риск инфицирования. Адгезия к поверхности раны предотвращает формирование мертвого пространства и накопление серозной жидкости, что является еще одним механизмом действия против инфекции. Кроме того, образование нитей фибрина во время заживления раны ведет к адгезии раневой поверхности к амниону, захвату бактерий и стимуляции фагоцитарной миграции.

5. Субстрат для выращивания стволовых и эпителиальных клеток.

Амниотическая базальная мембрана успешно используется как субстрат для культивирования стволовых лимбальных клеток, взятых при помощи биопсии контралатерального глаза, что позволяет добиваться эпителизации поверхности даже в случаях выраженной лимбальной недостаточности [43, 53, 60, 85].

КОНСЕРВАЦИЯ АМНИОТИЧЕСКОЙ ОБОЛОЧКИ

В настоящее время в офтальмологии широко применяется как нативная, так и консервированная амниотическая мембрана. Известно более 10 методов консервации АМ. К ним предъявляют следующие требования: обеспечение должного уровня сохранности материала и, следовательно, реализация ожидаемого терапевтического эффекта, безопасность применения АМ (отсутствие микробного обсеменения). Наиболее распространены следующие методы: сохранение в растворах антибиотиков, высушивание над силикогелем, замораживание при -70°C , консервация в глицерине, диметилсульфоксиде, стерилизация гамма-излучением и др. [2, 5, 8, 50, 55, 88]. Донорами АМ могут являться женщины с доношенной беременностью, идущие на плановое родоразрешение путем кесарева сечения, имеющие отрицательные результаты серологических тестов на ВИЧ, гепатиты В и С, сифилис. Забор материала производится в стерильных условиях операционной после родоразрешения путем кесарева сечения и при отсутствии визуальных признаков инфицирования околоплодных вод и оболочек [41].

Имеются некоторые различия в степени выраженности тех или иных терапевтических эффектов при применении консервированного и «свежего» амниона. Купирование воспалительного процесса при использовании свежего амниона наступает на 1–3 сутки после операции, а применение консервированной АМ — на 5–7 сутки. Эпителизация при свежем амнионе начинается в первые часы после операции, а при консервированном — через 2 месяца и позже [3].

Таблица 1

Сравнительная оценка эффективности применения «свежего» и консервированного амниона

Тип амниона	Купирование воспалительного синдрома	Эпителизация	Васкуляризация и фиброз	Рассасывание АМ
«Свежий»	На 1–3 сутки после операции	Начинается в первые часы после операции	Встречаются реже	Через 1–3 месяца после операции
Консервированный	На 5–7 сутки после операции	На 2–3 неделе после операции	Встречаются чаще	Через 2–8 месяцев после операции

Используются различные методы консервации АМ — в растворе 98 % глицерина, замораживание при $t=-70^{\circ}\text{C}$, консервация в глицерине, гамма-облучение, лиофилизация, в среде Игла с глицерином в соотношении 1:1, при температурах -80°C , -40°C , с использованием антимикробной среды (40 мг гентамицина, цефодар 0,5 г, ампициллин 250 тыс. ЕД в 100 мл раствора) и другие [2, 6, 11, 12, 19, 22, 32, 88, 90]. Из методов консервации амниона широкое применение нашел метод криоконсервации. Наиболее часто используется метод, разработанный J. Kim и S. Tseng (1995). Плацента очищается от кровяных сгустков, несколько раз промывается

в стерильном физиологическом растворе, затем в растворе антибиотиков, содержащем 100 мг/мл неомицина, 50 мг/мл стрептомицина и 2,5 мг/мл амфотерицина В. Затем АМ отделяется от подлежащего хориона тупым способом, укладывается на нитроцеллюлозную бумагу эпителием, базальной мембраной вверх. Бумагу с наклеенной АМ разрезают на диски удобного размера и хранят в растворе, содержащем по 50 % глицерина и среды Игла при температуре -70°C . Сохраненная по данной методике АМ может использоваться в течение двух лет [50].

В эксперименте на модели лимбальной недостаточности применение АМ препятствовало замене

3,8 % (3 случая) в группе с ТАМ; 5,4 % (3 случая) в группе с конъюнктивальным аутотрансплантатом и 3,7 % (2 случая) в группе с митомицином С [58].

В исследование Stavrakas P. С соавт. (2012) включены 59 глаз с первичной открытоугольной глаукомой. Целью исследования являлось определение эффективности ТАМ для улучшения результатов трабекулэктомии в случаях первичной открытоугольной глаукомы. На 32 глазах произведена ТАМ и трабекулэктомия (изучаемая группа), а на 27 глазах — только трабекулэктомия (контрольная группа). Благополучным исходом считалось достижение ВГД 21 мм рт. ст. без медикаментозной терапии в течение 24 месяцев. Среднее значение ВГД в группе с ТАМ составило 15,5 мм рт. ст. и 16 мм рт. ст. в контрольной группе. Послеоперационное снижение ВГД в группе с ТАМ — 8 мм рт. ст. и 6 мм рт. ст. в группе без ТАМ. У двух пациентов изучаемой группы и у семи пациентов контрольной группы ВГД превысило 21 мм рт. ст. [79].

Thatte S. (2011) была произведена ТАМ у 65 пациентов с различной патологией поверхности глазного яблока (первичный и рецидивирующий птеригиум, незаживающие язвы роговицы, десцеметоцеле, истончение и перфорации роговицы, химические ожоги, буллезная кератопатия). Послеоперационный период наблюдения составил от 6 до 18 месяцев. Симптоматическое улучшение (уменьшение болей и воспаления) отмечалось у пациентов с различными язвами роговицы, химическими ожогами и буллезной кератопатией. Завершенная эпителизация и заживление стромы были установлены в случаях язв роговицы. При сферических дегенерациях и кератэктомии после ТАМ наблюдалось повышение зрительных функций. Частота рецидивов птеригиума выявилась низкой (4,61 %); отторжение трансплантата наблюдалось в случаях острого кератита (3,07 %). Корнеальная васкуляризация (4,61 %) имела место, но степень выраженности не оказывала влияния на зрительные функции [82].

Solomon A. с соавт. (2002) были прооперированы 34 глаза (33 пациента) по поводу нетравматической перфорации роговицы или десцеметоцеле. Ассоциированная аутоиммунная патология включала ревматоидный артрит ($n = 6$), синдром Стивенса-Джонсона ($n = 3$), рубцовый пемфигус ($n = 2$), системную красную волчанку ($n = 1$), язву Мурена ($n = 1$), нейротрофическую или экспозиционную кератопатию ($n = 10$), постинфекционные незаживающие язвы ($n = 6$) и последствия хирургии ($n = 5$). Период наблюдения составил 2–23 месяца. Благоприятный исход был отмечен в 28 из 34 глаз (82,3 %). Среди благоприятных исходов 23 глаза нуждались в однократной ТАМ, в то время как на пяти глазах потребовалось провести ТАМ дважды. В пяти случаях (5 глаз) потребовалась последующая хирургическая операция — сквозная кератопластика либо

блефароррафия. Неудачный исход был отмечен в 6 случаях (6 глаз) ревматоидного артрита, нейротрофической кератопатии и лизиса трансплантата [75].

Смаль Т. М. (2007) было произведено исследование эффективности ТАМ при моделированной стерильной язве проводилось на 26 глазах и такое же количество (26) глаз составила контрольная группа. В основной группе, после образования стерильной язвы роговицы, на пятый день проводили ТАМ. В контрольной группе, после образования стерильной язвы, ТАМ не проводили. В экспериментальной группе на второй день после операции была отмечена регрессия симптомов: уменьшались светобоязнь, блефароспазм, количество слизистого отделяемого. На парных (контрольных) глазах, несмотря на отсутствие хирургического вмешательства, воспалительная реакция была более выражена. На 9–12 день после операции воспалительные явления исчезали полностью, в то время как в контрольной группе — лишь на 20–23 день. В основной группе новообразованные сосуды появлялись на периферии на третий день эксперимента, но после ТАМ процессы васкуляризации тормозились и края язвы не достигали. Со временем (30–35 дней) новообразованные сосуды в значительной степени редуцировались. В контрольной группе сосуды также появлялись на 3-й день эксперимента и медленно прорастали до зоны язвы. Дальнейшая васкуляризация области язвы проходила параллельно с ее эпителизацией. В основной группе эпителизация язвы начиналась на $(6,9 \pm 0,2)$ день и завершалась на $(11,6 \pm 0,3)$ день. Одновременно с эпителизацией язвы наблюдалась регенерация стромы роговицы. В контрольной группе эпителизация начиналась на $(9,2 \pm 0,3)$ день и завершалась на $(20,7 \pm 0,3)$ день. Непосредственно после эпителизации были отмечены атипичная регенерация стромы роговицы и формирование васкуляризованного помутнения роговицы. Инfiltrат в основной группе был незначительный, серого цвета и рассасывался на $(10,8 \pm 0,2)$ день. В контрольной группе интенсивность инfiltrата была такая же как и в основной, но его рассасывание заканчивалось на $(19,3 \pm 0,3)$ день. Приживление трансплантата АМ было полупрозрачным. Через 2,5–3 месяца визуализировать трансплантат и его края было невозможно. Роговица в области язвы значительно просветлела. В контрольной группе через 2,5–3 месяца просветление роговицы было незначительным [16].

Основные цели использования АМ клинической практике: 1. Ускорение эпителизации. 2. Уменьшение боли. 3. Снижение воспаления.

Применение АМ позволяет подготовить поверхность глаза к различным хирургическим процедурам в последовательном порядке. Например, к пересадке роговицы с уменьшением риска отторжения [39].

Эти цели достигаются с помощью различных хирургических техник пересадки АМ.

Амниотическая мембрана может быть использована при разных показаниях как субстрат для замещения поврежденных тканей глаза и как своеобразная «заплатка» (биологическая повязка) или как их комбинация [88].

Inlay или техника трансплантации.

При использовании техники трансплантации АМ применяется в качестве постоянного заменителя базальной мембраны. Основными показаниями для применения этого метода являются длительно персистирующие эпителиальные дефекты, изъязвление роговицы или покрытие дефектов после удаления опухолей конъюнктивы. АМ пришивается эпителием и базальной мембраной наружу с помощью швов 10–0 нейлон после хирургической обработки раны таким образом, что клетки эпителия соседних участков могут мигрировать на АМ и рана покрывается эпителием. При глубоких дефектах может быть использовано многослойное применение АМ. Эпителизация АМ интегрирует ее в ткань хозяина. АМ можно обнаружить в дефектах роговицы в течение нескольких месяцев и даже лет. Кроме того в дефекты роговицы мигрируют кератоциты [37,62,75].

Solomon A. et al (2001, 2002) показали, что трансплантация амниотической мембраны является альтернативным способом для реконструкции поверхности конъюнктивы при удалении больших опухолей, уродующих рубцов, симблефарона, особенно в тех случаях, когда окружающие ткани конъюнктивы остаются относительно интактными. Во время среднего периода наблюдения 9,1 месяцев у 10 пациентов из 11 отмечено успешное восстановление поверхности без рецидивов, у пяти пациентов улучшилась острота зрения [75, 76].

Onlay техника или покрытие

При использовании покрытия большой участок АМ временно размещается на поверхности глаза как естественное покрытие [67,74]. В отличие от техники трансплантации, где АМ остается на роговице постоянно, при *onlay* технике АМ обычно рассасывается на поверхности роговицы через одну-две недели. Классические показания варьируют от острых ожогов до острого герпетического кератита и острой стадии синдрома Стивенса-Джонсона [37,48,67,74,89]. При этом используются противовоспалительные свойства АМ, которые действуют в течение ограниченного времени [40,83,87]. При медленной регенерации роговичного дефекта возможно повторное покрытие АМ для достижения полной эпителизации роговицы. При использовании АМ в качестве покрытия ее ориентация не имеет большого значения. В большинстве случаев укрепление АМ производится либо эписклерально либо к бульбарной конъюнктиве. Использование

8–0 швов мононити Викрил считается достаточным [67,74].

Стандартной техники ТАМ не существует. Имеется множество противоречивых публикаций по поводу правильного расположения амниона на поверхности глаза. Оболочка может быть пришита к глазной поверхности основной мембраной эпителия, обращенной вверх, и стромальной стороной, обращенной вниз к глазу (предпочтительная техника) или стромальной стороной амниона вверх. Стромальная сторона амниотической мембраны липкая, как стекловидное тело, а сторона эпителиальной мембраны блестящая и не липкая. Затем амниотическая мембрана аккуратно распределяется на глазной поверхности и обрезается до необходимых размеров и формы. В случаях патологии роговицы (например, хронического эпителиального дефекта) мембрана закрепляется с использованием узловатых швов нейлоновой нитью 10–0 к роговице. Общепринято считать, что при поражениях роговицы и лимба (например, химический ожог) площадь амниотического трансплантата должна быть больше площади повреждения. В этих случаях, обычно необходима комбинация узловатых нейлоновых швов 10–0 к конъюнктиве / эписклере и непрерывного 11–0 нейлонового шва (например, зубчатый шов немного в стороне от лимба), также может применяться викриловый шов 10–0. В хирургии конъюнктивы амнион используется как субстрат для покрытия дефекта после удаления поврежденных тканей. В этих случаях, когда необходима реконструкция конъюнктивальных сводов, используются своеобразные прокладки, например ретинальные пломбы для поддержания конъюнктивальных сводов до окончания процесса эпителизации. Амниотическая мембрана становится неотличимой от конъюнктивы, когда она покрывается эпителием [3, 8, 13].

Inlay и onlay или сэндвич-техника.

Этот метод, называемый также сэндвич-техника, представляет собой комбинацию из двух описанных выше и в основном используется при тяжелых поражениях глазной поверхности, например, глубоких и обширных язвах роговицы [67, 74]. Основная цель покрытия — защитить трансплантат амнионом и способствовать эпителизации [66, 67]. При этом методе наблюдается высокая эффективность (65 % — 80 %) и низкий уровень рецидивов (около 20 % — 35 %) [67, 86].

АМ с недавних пор описана как культуральный субстрат для *ex vivo* выращивания эпителия поверхности глаза [43, 60, 71, 72]. В этом случае АМ выполняет функцию биоматрицы и находится на поверхности глаза вместе с культивируемыми клетками [43, 60]. Этот метод используется в основном для лечения дефицита лимбальных стволовых клеток и в реконструкции крупных де-

фектов наружной поверхности глаза [33, 43, 60, 72, 85].

В тяжелых случаях поражения роговицы применяется двойное кератоамнионокрытие (на пораженную роговицу накладывают амниотическую оболочку с широким захватом конъюнктивы, поверх нее накладывают диск предварительно размоченной, высушенной над силикагелем кадаверной роговицы с каймой склеры и плотно фиксируют через амнион к конъюнктиве 8 узловыми швами и непрерывным круговым швом 8/0 виргинский шелк), которое создает благоприятные условия для последующего проведения сквозной кератопластики, а также нередко исключает необходимость проведения сквозной кератопластики [4]. Авторы отмечают, что разработанная методика фиксации амниотической оболочки является надежной и простой, снижает или исключает риск неоваскуляризации роговицы, способствует более прозрачному и нежному заживлению язвенных процессов, что дает хороший оптический результат благодаря длительному контакту амниона с пораженной роговицей. Высокая эффективность в отношении эпителизации дефектов роговицы объясняется действием различных факторов роста, содержащихся в амниотической мембране, эндотелинами, усиливающими пролиферацию и миграцию стволовых клеток эпителия, а также веществами, угнетающими развитие фиброза.

При кератопластике сохранение прозрачности роговичного трансплантата во многом зависит от скорости эпителизации его передней поверхности. Обе эти проблемы могут быть разрешены с помощью покрытия поражённой роговицы и трансплантата амниотической оболочкой. По данным В. К. Степанова (2010), при ТАМ у 22 из 30 больных кератитами эпителизация роговицы произошла в среднем за 10 дней, у остальных пациентов — в среднем за 15 дней. Эпителизация трансплантата произошла у 79 больных (83,2 %). Прозрачное приживление трансплантата при бельмах достигнуто в 83,8 %, при дистрофиях роговицы — в 91,1 % случаев. Таким образом, кератоамнионокрытие поражённой роговицы и трансплантата ускоряет их эпителизацию и позволяет достичь высоких лечебных, биологических и оптических результатов у большинства больных [18].

ПОКАЗАНИЯ К ТРАНСПЛАНТАЦИИ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

Все существующие на сегодняшний день обширные показания к трансплантации амниотической мембраны можно разделить на несколько групп [61].

Реконструкция поверхности роговицы

- Острые химические ожоги
- Стойкие эпителиальные дефекты с изъязвлением роговицы (нейротрофические кератиты и

язвы роговицы, язвенные герпетические кератиты, осложненные аутоиммунные язвы роговицы, гнойные язвы роговицы с разрушением более 1/3 строма роговицы, десцеметоцеле и перфорации роговицы различного происхождения)

- Удаление эпителиальных или субэпителиальных поражений (лентовидная кератопатия, рубцы, опухоли)

- Болезненная буллезная кератопатия и другие дистрофии роговицы

- Частичный или полный дефицит лимбальных стволовых клеток (с трансплантацией стволовых клеток)

Реконструкция поверхности конъюнктивы

- Острые химические ожоги и острый синдром Стивенса-Джонсона

- Покрытие дефектов после удаления поражения конъюнктивы большой площади (опухоли, рубцы, конъюнктивальные складки параллельно краям век)

- При устранении рубцового симблефарона различного происхождения (постожогового, посттравматического, при рубцующемся пемфигусе, при хронических воспалительных заболеваниях).

- При пластике конъюнктивальной полости у больных с анофтальмическим синдромом

- Истончение склеры

- Птеригиум

Глаукома: при пластике фильтрационных подшечек в хирургии глаукомы.

К сожалению, клинические данные по использованию трансплантации АМ были опубликованы только с анализом малого и среднего количества наблюдений, с относительно коротким периодом наблюдения, и в подавляющем большинстве с использованием ретроспективного анализа серии случаев. Контролируемое, рандомизированное, многоцентровое, долгосрочное исследование с участием большого количества пациентов должно быть проведено в будущем для обоснования клинического потенциала АМТ в реконструктивной хирургии на поверхности глаза [61].

Реконструкция поверхности роговицы.

Стойкие эпителиальные дефекты и язвы роговицы. Заболевания роговицы являются одним из наиболее распространенных показаний к проведению ТАМ в США — 41 % случаев [87]. Лечение язв роговицы до сих пор представляет собой серьезную проблему в офтальмологии, несмотря на различные консервативные и хирургические методы [29, 67, 75].

Неповрежденный эпителий роговицы является решающим фактором в обеспечении стабильности поверхности роговицы. Простые эпителиальные дефекты обычно можно вылечить без осложнений. При отсутствии лечения или неправильной терапии может быстро развиваться изъязвление, формироваться десцеметоцеле, и даже перфорация

роговицы. АМ используется в клинике в качестве замены базальной мембраны у больных с длительно персистирующими эпителиальными дефектами как с наличием, так и при отсутствии изъязвления роговицы [39,67]. Seitz В. (2007) достиг эпителизации роговицы при применении АМ без рецидива в 65 % случаев, средняя длительность наблюдения — 18 месяцев [67]. Результативность трансплантации АМ может быть значительно улучшена посредством индуцированного птоза верхнего века с помощью инъекции ботокса или блефароррафии, при этом необходимость повторной операции снижается с 44 до 30 % [39].

Для лечения глубоких язв роговицы, десцеметопеле и ограниченных перфораций роговицы используется многослойная техника. По данным Solomon A. et al. (2002), ретроспективный анализ показал, что стабильная эпителизация наблюдалась при использовании этой методики в 28 из 34 глаз (82 %) с этими нарушениями [75]. Kruse F. E. et al (1999) также достигли стабилизации поверхности роговицы в результате ТАМ у 9 из 11 пациентов с глубокой язвой роговицы в течение 12 месяцев [55]. Достаточно часто после трансплантации АМ для дальнейшего восстановления зрения показана пересадка роговицы (кератопластика). Прогноз существенно улучшается, если сформирован интактный эпителий на поверхности глаза и купировано воспаление [15,67,86]. Что касается осложнений, наблюдали кальцификаты при использовании капель, содержащих фосфаты в 12 % случаев, инфекционные осложнения зарегистрированы менее чем в 1 % случаев [39,67,75].

При синдроме «сухого глаза» тяжелой степени с поражением роговицы в виде эрозий и изъязвлений консервативное лечение не дает желаемого эффекта и требует введения в курс терапии хирургических вмешательств. Трансплантация криоконсервированной амниотической мембраны в сочетании с противовоспалительной, слезозамещающей, кератопластической и антиферментной терапией дает значительный репаративный результат [73].

Острые химические ожоги.

Химические ожоги поверхности глаза являются сложной проблемой urgentной офтальмологической помощи. Главной целью лечения острого ожога глаза является предотвращение некроза и рубцевания, а также достижение быстрой эпителизации, чему способствует ТАМ. Раннее проведение трансплантации АМ улучшает функциональные результаты после химических ожогов. Имеются сообщения об использовании АМ при ожогах роговицы и конъюнктивы различной степени тяжести. Пересадка АМ применялась как в остром периоде, в первые дни после ожогов, так и в случае персистирующих послеожоговых эрозий роговицы [10, 14, 23, 27, 38, 42, 48, 51, 52, 59, 68, 77, 80, 81].

Тканевая инженерия лимбального эпителия с использованием амниотической мембраны.

Поверхность роговицы играет важную роль в обеспечении зрения, поэтому поддержание функционального состояния роговичного эпителия так важно. Эпителиальные стволовые клетки роговицы находятся в области лимба, который формирует анатомический мост между конъюнктивой и роговицей. Различные нарушения поверхности глаза могут привести к недостаточности лимбальных стволовых клеток в результате их разрушения.

Дефицит лимбальных стволовых клеток характеризуется формированием фиброваскулярной ткани паннуса на поверхности роговицы, повышением чувствительности к яркому свету и потерей зрения. Долгосрочный успех реконструкции поверхности глаза может быть достигнут только путем восстановления лимбальных стволовых клеток [33].

На протяжении многих лет результаты обычной лимбальной трансплантации, которые до сих пор не являются удовлетворительными, породили спрос на стволовые клетки из культуры клеток [33].

Дальнейшее развитие методов, основанных на клеточной биологии, в частности, тканевой инженерии, в настоящее время позволяет выращивать стволовые клетки лимба. Выращивание *ex vivo* лимбальных эпителиальных клеток на АМ находится в стадии разработки — при одностороннем дефиците стволовых клеток. В клинических и экспериментальных условиях производилась лимбальная биопсия размером 1–2 мм на здоровом глазу, эпителиальные клетки культивировали на АМ *in vitro* [43, 60, 71, 72]. Это распространение естественных лимбальных эпителиальных клеток *ex vivo* менее травматично, чем обычная лимбальная аутологичная трансплантация, при которой до 50 % лимба здорового глаза пересаживают на больной глаз.

Tsai et al. (2000) первыми описали свой клинический опыт в лечении дефицита стволовых клеток лимба с использованием АМ в качестве носителя культуры клеток и подложки [85]. Заживление длительно персистирующих ран и повышение остроты зрения было достигнуто у 83 % пациентов. Васкуляризация, как признак рецидивирования дефицита стволовых клеток, не отмечалась в течение всего периода наблюдения. Многие последующие публикации, относящиеся к разным процедурам культивирования клеток, также описывают заметный успех лечения [71, 72]. К сожалению, в настоящее время не существует доступной стандартной методики трансплантации стволовых клеток на АМ, что затрудняет сравнение опубликованных исследований. Другими недостатками являются небольшие, иногда гетерогенные группы пациентов и, как правило, краткий период наблюдения, что не дает возможности в настоящее время дать убедительную оценку этой новой формы лечения [71, 33, 72].

Реконструкция поверхности конъюнктивы.

Иссечение плоскоклеточного рака или меланомы в области конъюнктивы часто вызывает серьезные дефекты поверхности конъюнктивы. После полного удаления опухоли, дефекты могут быть покрыты АМ [37,62]. Далее могут следовать адьювантные меры по искоренению опухоли, такие как местная лучевая или химиотерапия. В таких случаях действует функция АМ в качестве замены базальной мембраны и помогает быстро, как правило, заживление раны происходит без образования рубцов путем стимулирования миграции соседних клеток эпителия конъюнктивы реципиента [37]. Благодаря этому, АМ трансплантация косметически более приемлема, чем другие методы, такие как пересадка слизистой оболочки полости рта, а прозрачность АМ позволяет эффективно осуществлять послеоперационный мониторинг опухоли [37,62].

В литературе описывается успешное применение АМ в хирургии рефрактерной глаукомы [9]. В данном случае используется способность амниотической мембраны противостоять воспалительным процессам, рубцеванию. Примененная С. В. Труфановым (2004) трабекулэктомия с интрасклеральным амниодренированием с использованием консервированной амниотической мембраны у 54 пациентов с рефрактерной глаукомой была на 11 % эффективней, чем традиционная трабекулэктомия ($p < 0.05$). В зоне проведения антиглаукоматозной операции угнетается грубый фиброз, являющийся основной причиной неудовлетворительной компенсации ВГД после аналогичных операций [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансплантация АМ используется в офтальмологии для лечения острых и хронических заболеваний поверхности глаза, а также как биоматрица для лечения выраженного дефицита стволовых клеток на поверхности глаза, что относится к новейшим разработкам с использованием тканевой инженерии. Эффективность хирургического лечения с применением АМ при патологии роговицы является высокой и варьирует от 72,2 до 82,3 %.

На территории Украины уже проводятся клинические исследования по применению ТАМ для лечения заболеваний роговицы [5, 13, 16, 24].

В Украине ТАМ утверждена согласно приказа № 117 от 15.03.2007 «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Офтальмологія» как хирургический метод только для лечения ожогов глаз. Вместе с тем, как показали многочисленные зарубежные экспериментальные и клинические исследования, существует обширный спектр воспалительных, дегенеративных и дистрофических заболеваний роговицы,

при которых ТАМ может успешно применяться. Учитывая большой дефицит донорского материала для пересадки роговицы в Украине, а также значительное количество пациентов, нуждающихся в кератопластике с лечебной целью, АМ явится альтернативным материалом для лечебной кератопластики и позволит существенно повысить качество хирургической помощи больным с патологией роговицы.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Абрамова И. А.** Амниотическая мембрана в пластике бульбарной конъюнктивы (экспериментальное исследование): дис. . канд. мед. наук : 14.00.08 / И. А. Абрамова. — Санкт-Петербург, 2005. — 88 с.
2. **Ахунбаева Н. И.** Применение амниотической мембраны в офтальмохирургии / Н. И. Ахунбаева, Б. О. Сулева, А. А. Асанова, С. С. Иманбаева, А. С. Найманбаева // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. — Том 8. — № 5. — 2008. — С. 68–71.
3. **Батманов Ю. Е.** Применение свежего амниона в лечении заболеваний роговицы / Ю. Е. Батманов, К. С. Егорова, Л. Н. Колесникова // Вестн. офтальмол. — 1990. — № 5. — С. 17–19.
4. **Батманов Ю. Е.** Применение двойного кератоамниопокрытия при язвенных процессах роговицы / Ю. Е. Батманов, А. Ю. Слонимский, Ф. А. Мурзабекова // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы : науч. — практ. конф., 25–26 июня 2004 г. : материалы конференции. М., 2004. — С. 52–55.
5. **Демин Ю. А.** Предварительные результаты использования криоконсервированного амниона в лечении заболеваний роговицы / Ю. А. Демин, И. Л. Лымарь, В. И. Строна // X съезд офтальмологов Украины, 28–30 мая 2002 г. : тезисы докл. — Одесса, 2002. — С. 30.
6. **Золотарев А. В., Милодин Е. С., Татаренко И. Г.** Новый метод длительной консервации амниотической мембраны // III Евро-Азиатская конференция по офтальмохирургии, 2003 г. : материалы конференции. — Екатеринбург, 2003. — Ч.1. — С.159–160.
7. **Калашников Е. И.** Морфофункциональные особенности амниона при нормальной и патологической беременности / Е. И. Калашников, А. И. Танаков // Акушерство и гинекология. — 1993. — № 5. — С. 3–6.
8. **Каспаров А. А.** Использование консервированной амниотической мембраны для реконструкции поверхности переднего отрезка глаза / А. А. Каспаров, С. В. Труфанов // Вестн. офтальмол. — 2003. — № 3. — С. 45–47.
9. **Меликова Т. П.** Амниотическая мембрана и ее применение в офтальмологии // Т. П. Меликова / Oftalmologiya. — 2010. — № 10. — С. 115–122.
10. **Милодин Е. С.** Оценка эффективности амнионпластики в хирургическом лечении тяжелой ожоговой травмы глаза / Е. С. Милодин // Вестн. офтальмол. — 2007. — Т. 123. — № 3. — С.13–17.
11. **Милодин Е. С.** Эффективность использования силиковысушенной амниотической мембраны / Е. С. Милодин // Всероссийская научная конференция с международным участием «Федоровские чтения»: 2001 г. : тезисы докладов. — М., 2001. — С. 473–478.

12. **Мороз З. И.** Экспериментально-морфологическое и клиническое исследование криоконсервированного гомоамниона, полученного с различных участков хориона / З. И. Мороз, Е. В. Ковшун, Ю. Ю. Калинин, С. А. Борзенко // Всероссийская научная конференция с международным участием «Федоровские чтения»: 2001 г. : тезисы докладов. — М., 2001. — С. 485–489.
13. **Новицкий И. Я.** Место трансплантации амниотической оболочки в лечении заболеваний роговицы, сопровождающихся ее неоваскуляризацией / И. Я. Новицкий // Вестн. офтальмол. — 2003. — № 6. — С. 9–11.
14. **Новицкий И. Я.** Трансплантация амниотической оболочки как реконструкция роговковой поверхности на экспериментальных моделях, что сопровождаются неоваскуляризацией роговочки. Трансплантация амниотической оболочки как реконструкция роговковой поверхности на экспериментальных моделях, что сопровождаются неоваскуляризацией роговочки / И. Я. Новицкий, М. М. Сарахман, Т. М. Смаль // Офтальм. журн. — 2001. — № 3. — С. 97–100.
15. **Ситник Г. В.** Применение амниотической мембраны в офтальмохирургии [электронный ресурс] / Г. В. Ситник, Л. К. Яхницкая // Минск : Белорусский государственный медицинский университет, 2004. — Медицинский журнал. — http://www.bsmu.by/index.php?option=com_content&view=article&id=3033:2026-05-08-02-52-47&catid=156:32005&Itemid=52.
16. **Смаль Т. М.** Патогенетическое обоснование и эффективность трансплантации амниотической оболочки при инфекционных язвах роговицы : дис. . канд. мед. наук : 14.00.08 / Т. М. Смаль — Одесса., 2007. — 188 с.
17. **Смолякова Г. П.** Применение амниона для восстановления конъюнктивальной полости при анофтальме / Г. П. Смолякова // Пластическая хирургия придаточного аппарата глаза и орбиты: научно-практич. конф., 1996 г. : материалы научно-практ. конф. — М., 1996. — С. — 50–51.
18. **Степанов В. К.** Применение амниотической оболочки в качестве защитного биопокрытия поражённой роговицы и роговичного трансплантата при кератопластике / В. К. Степанов, О. В. Иванова // IX съезд офтальмологов России, 16–18 июня 2010 г. : тезисы докл. — М., 2010. — С.
19. **Труфанов С. В.** Использование консервированной амниотической оболочки человека в реконструктивно-восстановительной хирургии глаза : автореф. дис. на соискание степени канд. мед. наук : спец. 14.00.08 «Глазные болезни» / М., 2004. — 24 с.
20. **Федорова Е. А.** Применение лиофилизированной амниотической оболочки в лечении воспалительных заболеваний роговицы глаза : автореф. дис. на соискание степени канд. мед. наук : спец. 14.00.08 «Глазные болезни» / М., 2004. — 24 с.
21. **Фомин К. А.** Трансплантация амниотической мембраны в офтальмологии [электронный ресурс] : Национальный офтальмологический портал, официальный сайт международной ассоциации офтальмологов / К. А. Фомин. — <http://old.eyenews.ru/pages.php?id=763&glaukoma=da1bd93540d88a94e9778c241f92aaa7>.
22. **Юмашева А. А.** Результаты склеропластики при прогрессирующей близорукости с использованием амниона / А. А. Юмашева, В. И. Белоус, Б. М. Лищенко // Офтальм. журн. — 1989. — N 6. — С. 352–354.
23. **Якименко С. А.** Трансплантация консервированной амниотической оболочки в лечении опёкочей важкого ступеня / С. А. Якименко, О. И. Бузник // Офтальмол. журн. — 2007. — № 5. — С. 37–42.
24. **Якименко С. А.** Трансплантация консервированной амниотической оболочки в лечении звиразкувань рогівки, що утворюються після важких опёкочей / С. А. Якименко, О. І. Бузник // Офтальмол. журн. — 2010. — № 3. — С. 19–25.
25. **Ainsworth G.** A novel use of the amniotic membrane in the management of tube exposure following glaucoma tube shunt surgery / G. Ainsworth // Br. J. Ophthalmol. — 2006. — V. 90. — P.417-419.
26. **Andrade A. L.** Effect of amniotic membrane transplantation on corneal healing and proteoglycan expression in an experimental model of limbal deficiency in rabbits / A. L. Andrade, M. Q. Campos, J. A. Gomes, A. G. Berto, Y. M. Michelacci // Eur. J. Ophthalmol. — 2010. — V.20. — № 2. P.290–299.
27. **Arora R.** Amniotic membrane transplantation in acute chemical burns / R. Arora, D. Mehta, V. Jain V // Eye. — 2005. — V. 19. — P. 273–278.
28. **Azuara-Blanco A.** Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction / A. Azuara-Blanco, C. T. Pillai, H. S. Dua // Br. J. Ophtalmol. — 1999. — Vol. 83. — P. 399–402.
29. **Azuara-Blanco A.** Amniotic membrane transplantation / A. Azuara-Blanco, H. S. Dua // Br. J. Ophthalmol. — 1999. — V. 83. — № 6. — P. 748–752.
30. **Barequet I. S.** Effect of Amniotic Membrane Transplantation on the Healing of Bacterial Keratitis / I. S. Barequet, Z. Habet-Wilner, N. Keller, G. Smollan, H. Ziv, M. Belkin, M. Rosner // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2008. — V. 49. N1. — P.163–167.
31. **Bauer D.** Amniotic membrane transplantation induces apoptosis in T lymphocytes in murine corneas with experimental herpetic stromal keratitis / D. Bauer, S. Wasmuth, M. Hennig, H. Baehler, K. P. Steuhl, A. Heiligenhaus // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2009. — V. 50. — № 7. — P. 3188–3198.
32. **Cameron P. U.** Efficacy and kinetics of glycerol inactivation of HIV-1 in split skin grafts / P. U. Cameron, J. C. Pagnon, J. van Baare, J. C. Reece, N. J. Vardaxis, S. M. Crowe // J. Med. Virol. — 2000. — V. 60. — № 2. — P. 182–188.
33. **Cauchi P. A.** A systematic literature review of surgical interventions for limbal stem cell deficiency in humans / P. A. Cauchi, G. S. Ang, A. Azuara-Blanco, J. M. Burr // Am. J. Ophthalmol. — 2008. — V. 146. — P. 251–259.
34. **Choi T. H., Tseng S. C.** In vivo and in vitro demonstration of epithelial cell-induced myofibroblast differentiation of keratocytes and an inhibitory effect by amniotic membrane / T. H. Choi, S. C. Tseng // Cornea. — 2001. — V. 20. № 2. — P. 197–204.
35. **de Rothth A.** Plastic repair of conjunctival defects with fetal membrane / A. de Potth // Arch. Ophthalmol. — 1940. — V.23. — P. 522–525.
36. **Dua H. S.** The amniotic membrane in ophthalmology / H. S. Dua, G. Gomes, A. King // Surv. Ophthalmol. — 2004. — Vol. 49. — № 1. — P. 51–77.

37. **Espana E. M.** Amniotic membrane transplantation for reconstruction after excision of large ocular surface neoplasias / E. M. Espana, P. Prabhasawat, M. Grueterich, A. Solomon, S. C. Tseng // *Br. J. Ophthalmol.* — 2002. — V. 86. — P. 640–645.
38. **Figueiredo F. C.** Amniotic membrane transplantation for ocular burns / F. C. Figueiredo // *International conference «The application of amniotic membrane in ophthalmology», 1–3 December 2000 : abstracts of the conference — Warsaw, 2000.* — P. 18.
39. **Fuchsluger T.** Rate of epithelialisation and re-operations in corneal ulcers treated with amniotic membrane transplantation combined with botulinum toxin-induced ptosis / T. Fuchsluger, E. Tuerkeli, H. Westekemper, J. Esser, K. P. Steuhl, D. Meller // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* — 2007. — V. 245. — P. 955–64.
40. **Fukuda K.** Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjunctiva / K. Fukuda, T. Chikama, M. Nakamura, T. Nishida // *Cornea.* — 1999. V.18. — P. 73–79.
41. **Gannaway W. L.** Preparation of amniotic membranes for surgical use with antibiotic solutions / W. L. Gannaway, A. L. Barry, J. D. Trelford // *Surgery.* — 1984. — V. 95. — № 5. — P. 580–585.
42. **Gomes J. A.** Amniotic membrane transplantation for partial and total limbal stem cell deficiency secondary to chemical burn / J. A. Gomes, M. S. dos Santos, M. C. Cunha, V. L. Mascaro, J. de N. Barros, L. B. de Sousa // *Ophthalmology.* — 2003. — V.110. — P. 466–473.
43. **Grueterich M.** Ex vivo expansion of limbal epithelial stem cells: amniotic membrane serving as a stem cell niche / M. Grueterich, E. M. Espana, S. C. Tseng // *Surv. Ophthalmol.* — 2003. — V.48. — P.631–646.
44. **Hai-Liang Zhang** Experimental study of treatment of bulbous keratopathy by corneal neovascularization induced by slow release of bFGF micro-pellets in rabbit / Hai-Liang Zhang, Xiang Ma, Qi Wang // *Hong-Chen Sun.* — 2009.
45. **Hanada K.** Treatment of persistent corneal epithelial defects with amniotic membrane / K. Hanada // *J. Eye.* — 1999. — Vol.16. — P.1261–1262.
46. **Hao Y.** Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane / Y. Hao, D. H. Ma, D. G. Hwang, W. S. Kim, F. Zhang // *Cornea.* — 2000. — V.19. — № 3. — P. 348–352.
47. **Heiligenhaus A.** Amniotic membrane transplantation improves experimental herpetic keratitis. Modulation of matrix metalloproteinase-9. / A. Heiligenhaus, H. Li, Y. Yang, S. Wasmuth, D. Bauer, K. P. Steuhl // *Ophthalmologie.* — 2004. — V.101. — № 1. — P. 59–65.
48. **Kheirkhah A.** Temporary sutureless amniotic membrane patch for acute alkaline burns. / A. Kheirkhah, D. A. Johnson, D. R. Paranjpe, V. K. Raju, V. Casas, S. C. Tseng // *Arch. Ophthalmol.* — 2008. — V.126. — P.1059–1066.
49. **Kim J. C.** The effects on inhibition of corneal neovascularization after human amniotic membrane transplantation in severely damaged rabbit corneas / J. C. Kim, S. C. Tseng // *Korean. J. Ophthalmol.* — 1995. — V.9. — № 1. — P. 32–46.
50. **Kim J. C.** Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas / J. C. Kim, S. C. Tseng // *Cornea.* — 1995. — V.14. — P. 473–484.
51. **Kim J. S.** Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity on wound healing following acute corneal alkali burn / J. S. Kim, J. C. Kim, B. K. Na, J. M. Jeong, C. Y. Song // *Experimental Eye Research.* — 2000. — V. 70. — P.329–37.
52. **Kim J. S.** Temporary amniotic membrane graft promotes healing and inhibits protease activity in corneal wound induced by alkali burns in rabbits / J. S., Kim, S. W. Park, J. H. Him // *Invest. Ophthalmol. Vis Sci.* — 1998. — V. 39. — P. 90.
53. **Koizumi N.** Cultivated epithelial stem cell transplantation in ocular surface disorders / N. Koizumi, T. Inatomi, T. Suzuki // *Ophthalmology* — 2001. — V. 108. — № 9. — P.1569–1574.
54. **Koizumi N. J.** Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane / N. J. Koizumi, T. J. Inatomi, C. J. Sotozono, N. J. Fullwood, A. J. Quantock, S. Kinoshita / *Curr. Eye Res.* — 2000. — V.20. — C.173–1777.
55. **Kruse F. E.** Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers / F. E. Kruse, K. Rohrschneider, H. E. Volcker // *Ophthalmology.* — 1999. — V. — 106. — P. 1504–1510.
56. **Lee S. B.** Suppression of TGF-beta signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane / S. B. Lee SB, D. Q. Li, D. T. Tan, D. C. Meller, S. C. Tseng // *Curr. Eye. Res.* — 2000. — V.20. — P. 325–334.
57. **Lee S. H.** Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration / S. H. Lee, S. C. Tseng // *Am. J. Ophtalmol.* — 1997. — Vol. 123. — P. 303–312.
58. **Ma D. H.** Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment / D. H. Ma, L. C. See, S. B. Liau, R. J. Tsai // *Br. J. Ophthalmol.* — 2000. — V. 84. — № 9. — P. 973–978.
59. **Meller D.** Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns / D. Meller, R. T. Pires, R. J. Mack // *Ophthalmology.* — 2000. — V. 107. — P. 980–989.
60. **Meller D.** Ex vivo preservation and expansion of human limbal epithelial stem cells on amniotic membrane cultures / D. Meller, R. T. Pires, S. C. Tseng // *Br. J. Ophthalmol.* — 2002. — V. 86. — P.463–471.
61. **Meller D.** Amniotic Membrane Transplantation in the Human Eye / D. Meller // *Dtsch. Arztebl. Int.* — 2011. — V.108. — № 14. — P.243–248.
62. **Paridaens D.** Amniotic membrane transplantation in the management of conjunctival malignant melanoma and primary acquired melanosis with atopia / D. Paridaens, H. Beekhuis, W. van Den Bosch, L. Remeyer, G. Melles // *Br. J. Ophthalmol.* — 2001. — V.85. — P. 658–661.
63. **Reinshagen H.** Corneal surface reconstruction using adult mesenchymal stem cells in experimental limbal stem cell deficiency in rabbits / H. Reinshagen, C. Auw-Haedrich, R. V. Sorg, D. Boehringer, P. Eberwein, J. Schwartzkopff, R. Sundmacher, T. Reinhard / *Acta Ophthalmol.* — 2011. — V. 89. — № 8. — P.741–748.
64. **Sakarya Y.** Sutureless amniotic membrane fixation with fibrin glue in symptomatic bullous keratopathy with poor visual potential // Y. Sakarya, R. Sakarya, A. Yildirim // *Eur. J. Ophthalmol.* — 2010. — V. 20. — N1. — P.249.

65. **Schroeder A.** Effects of the human amniotic membrane on axonal outgrowth of dorsal root ganglia neurons in culture / A. Schroeder, C. Theiss, K. P. Steuhl, K. Meller, D. Meller // *Curr. Eye. Res.* — 2007. — V.32. — P. 731–738.
66. **Seitz B.** Histopathology and ultrastructure of human corneas after amniotic membrane transplantation / B. Seitz, M. D. Resch, U. Schlotzer-Schrehardt, C. Hofmann-Rummelt, R. Sauer, F. E. Kruse // *Arch. Ophthalmol.* — 2006. — V. 124. — P. 1487–1490.
67. **Seitz B.** Amniotic membrane transplantation. An indispensable therapy option for persistent corneal epithelial defects / B. Seitz // *Ophthalmologie.* — 2007. — V.104. — P. 1075–1079.
68. **Shimazaki J.** Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns / J. Shimazaki, H. Y. Yang, K. Tsubota, J. Shimazaki, K. Tsubota // *Ophthalmology.* — 1997. — V. 104. — P. 2068–2076.
69. **Shimazaki J.** Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon / J. Shimazaki, N. Shinozaki, K. Tsubota // *Br. J. Ophthalmol.* — 1998. — Vol. 82. — P. 235–240.
70. **Shimmura S.** Antiinflammatory effects of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders / S. Shimmura, J. Shimazaki, Y. Ohashi, K. Tsubota // *Cornea.* — 2001. — V. 20. — № 4. — P.408–13.
71. **Shortt A. J.** Transplantation of ex vivo cultured limbal epithelial stem cells: a review of techniques and clinical results / A. J. Shortt, G. A. Secker, M. D. Notara // *Surv. Ophthalmol.* — 2007. — V.52. — P.483–502.
72. **Shortt A. J.** Ex vivo expansion and transplantation of limbal epithelial stem cells / A. J. Shortt, G. A. Secker, M. S. Rajan // *Ophthalmology.* — 2008. — V. 115. — P.1989–1997.
73. **Shwu-Huey Lee** Amniotic Membrane Transplantation for Persistent Epithelial Defects With Ulceration / Shwu-Huey Lee, C. G. Scheffer, S. C. Tseng // *Am. J. of Ophthalmol.* — 1997. — № 123. — P. 303–312.
74. **Sippel K. C.** Amniotic membrane surgery / K. C. Sippel, J. J. Ma, C. S. Foster // *Curr. Opin. Ophthalmol.* — 2001. — V.12. — P. 269–281.
75. **Solomon A.** Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetocelles, and deep ulcers / A. Solomon, D. Meller, P. Prabhawat, T. John, E. M. Espana, K. P. Steuhl, S. C. Tseng // *Ophthalmology.* — 2002. — V. 109. — № 4. — P.694–703.
76. **Solomon A.** Suppression of interleukin 1alpha and interleukin 1beta in human limbal epithelial cells cultured on the amniotic membrane stromal matrix / A. Solomon, M. Rosenblatt, D. Monroy, Z. Ji, S. C. Pflugfelder, S. C. Tseng // *Br. J. Ophthalmol.* — 2001. — V.85. — P. 444–449.
77. **Sorsby A.** Amniotic membrane grafts in caustic burns of the eye: (Burns of the second degree). / A. Sorsby, H. M. Symons // *Br. J. Ophthalmol.* — 1946. — V.30. — P. 337–345.
78. **Thanikachalam S.** Amniotic membrane transplantation for acute ocular chemical burns in a child / S. Thanikachalam, S. Kaliaperumal, R. Srinivasan, P. K. Sahu // *J. Indian Med. Assoc.* — 2011. — V. 109. — № 8. — P. 586–587.
79. **Stavarakas P.** The use of amniotic membrane in trabeculectomy for the treatment of primary open-angle glaucoma: a prospective study / P. Stavarakas, G. Georgopoulos, M. Milia, D. Papaconstantinou, M. Bafa, E. Stavarakas, M. Moscho // *Clin. Ophthalmol.* — 2012. — № 6. — P.205–212.
80. **Tamhane A.** Evaluation of amniotic membrane transplantation as an adjunct to medical therapy as compared with medical therapy alone in acute ocular burns / A. Tamhane, R. B. Vajpayee, N. R. Biswas // *Ophthalmology.* — 2005. — V.112. — P. 1963–1969.
81. **Tejwani S.** Role of amniotic membrane graft for ocular chemical and thermal injuries / S. Tejwani, R. S. Kolari, V. S. Sangwan, G. N. Rao // *Cornea.* — 2007. — V. 26. — P.21–26.
82. **Thatte S.** Amniotic membrane transplantation: An option for ocular surface disorders / S. Thatte // *Oman. J. Ophthalmol.* — 2011. — V.4. — № 2. — P.67–72.
83. **Thomasen H.** Comparison of cryopreserved and air-dried human amniotic membrane for ophthalmologic applications / H. Thomasen, M. Pauklin, K. P. Steuhl, D. Meller // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* — 2009. — V.247. — P.1691–1700.
84. **Touhami A.** The role of NGF signaling in human limbal epithelium expanded by amniotic membrane culture / A. Touhami, M. Grueterich, S. C. Tseng // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2002. — V.43. — P.987–994.
85. **Tsai R. J.** Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells / R. J. Tsai, L. M. Li, J. K. Chen // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — V. 343. — P.86–93.
86. **Tsai, R. J.** Corneal surface reconstruction by amniotic membrane with cultivated autologous limbo-corneal epithelium / R. J. Tsai // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1998. — V. 39. — P.429.
87. **Tseng S. C.** How does amniotic membrane work? / S. C. Tseng, E. M. Espana, T. Kawakita // *Ocul. Surf.* 2004. — № 2. — P.177–87.
88. **Tseng S.** Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction / S. Tseng, P. Prabhawat, S. Lee // *Am. J. Ophthalmol.* — 1997. — Vol. 124. — P. 765–774.
89. **Ueta M.** Immunosuppressive properties of human amniotic membrane for mixed lymphocyte reaction / M. Ueta, M. N. Kweon, Y. Sano // *Clinical and Experimental Immunology.* — 2002. — V. 129. — P.464–470.
90. **von Versen-Höynck F.** Application of sterilised human amnion for reconstruction of the ocular surface / F. von Versen-Höynck, U. Hesselbarth, D. E. Möller // *Cell Tissue Bank.* — 2004. — V. 5. — № 1. — P. 57–65.
91. **Wan P.** Cell delivery with fixed amniotic membrane reconstructs corneal epithelium in rabbits with limbal stem cell deficiency / P. Wan, X. Wang, P. Ma, N. Gao, J. Ge, Y. Mou, Z. Wang // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2011. — V. 52. — № 2. — P.724–730.
92. **Yeh L. K.** Amniotic membrane grafts following excision of corneal and conjunctival intraepithelial neoplasia / L. K. Yeh, H. C. Lin, P. Ma // *Chang Gung Med. J.* — 2003. — V. 26. — № 10. — P.737–744.

Поступила 18.07.2012

Рецензент к. м. н. Н. В. Коновалова