

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ
И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ»

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ ЦЕНТР ГЛАЗНОЙ И ПЛАСТИЧЕСКОЙ ХИРУРГИИ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ
И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»

На правах рукописи

ГАЛИЯХМЕТОВ РАДИК ФАЯЗОВИЧ

**ДИНАМИКА ПОСТОЖОГОВОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ РОГОВИЦЫ
ПРИ ЛОКАЛЬНОМ И РЕФЛЕКСОГЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
АЛЛОГЕННЫМ ДИСПЕРГИРОВАННЫМ БИОМАТЕРИАЛОМ**

14.03.03 – «Патологическая физиология»

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор **Д.А. Еникеев**

Научный консультант:

доктор медицинских наук,
профессор **Э.Р. Мулдашев**

Уфа – 2010

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1. Саногенетические механизмы роговицы	11
1.1. Морфофункциональные особенности и ангиоархитектоника области лимба.	11
1.2. Регенерационные способности роговицы	13
1.3. Нейронное обеспечение восстановительных процессов глаза . . .	22
1.3.1. Афферентные и эфферентные связи роговицы	23
1.3.2. Морфофункциональные особенности рефлексогенных зон и их влияние на структуры глаза	25
1.3.3. Возможности использования локальных рефлексогенных зон в лечении патологии фиброзной оболочки глаза.	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	37
2.1. Общая характеристика организации, материалов и методов исследования	37
2.2. Методы исследования динамики патофизиологических процессов в роговице после экспериментального ожога на фоне локального и акупунктурного введения ДБА	38
2.3. Морфологические и гистохимические методы исследования	42
2.4. Методы исследования локальных рефлексогенных зон.	44
2.5. Методы статистической обработки.	46
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ . .	48
3.1. Репаративная регенерация роговицы при экспериментальном химическом ожоге	48
3.1.1. Морфофункциональные процессы в роговице на фоне химического ожога	48

3.1.2. Репаративная регенерация роговицы после экспериментального ожога на фоне перилимбального введения ДБА	59
3.1.3. Репаративная регенерация роговицы после экспериментального ожога на фоне акупунктурного введения ДБА	67
3.2. Морфофункциональные изменения локальных рефлексогенных зон при акупунктурном воздействии и введении ДБА.	77
3.2.1. Морфофункциональные изменения локальных рефлексогенных зон при акупунктурном воздействии	78
3.2.2. Морфофункциональные изменения локальных рефлексогенных зон при введении ДБА	90
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	104
ВЫВОДЫ.	122
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	124
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	125

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДБА	–	Диспергированный биоматериал аллогенный
СППК	–	Суммарная площадь просвета капилляров
ЛРЗ	–	Локальная рефлексогенная зона
ФС	–	Функциональная система
МКАТ	–	Моноклональные антитела
PCNA	–	Ядерный антиген пролиферирующих клеток
TGF β -1	–	Трансформирующий фактор роста
КА	–	Коэффициент анизотропии
ТА	–	Точка акупунктуры

Примечание: Описываемые в диссертационной работе морфологические образования приводятся в соответствии с Международной анатомической терминологией (М. «Медицина» – 2003 г. ред. Колесников Л.Л.) и Международной гистологической номенклатурой (г. Москва, 2009, ред. Банин В.В., Быков В.А.). Автор также использовал хорошо известные термины из базовых руководств по анатомии органа зрения (Bron A. et al. *Anatomy of the eye and orbit*, London, 2001; Витт В.В. *Строение зрительной системы человека*, Одесса, 2003).

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Исследование саногенетических механизмов, направленных на восстановление функций организма, остается приоритетным направлением современной патофизиологии. К таким направлениям в полной мере относятся и процессы оптимизации репаративной регенерации различных тканей и органов (Крыжановский Г.Н., 2002; Нузов Б.Г., 2005; Ярыгин К.Н., 2007–2008; Пальцев М.А. с соавт., 2009).

Патофизиологические аспекты регенерации органов и тканей при воздействии различных факторов достаточно полно были изучены в работах А.П. Ястребова (1990, 1995, 1999), Л.Н. Маслова (2006), В.В. Базарного с соавт. (2006, 2007, 2008) и других авторов. В ряде работ (Коваленко П.П., 1975; Савельев В.И., 2000; Мулдашев Э.Р., 1994, 2007, 2009; Стадников А.А., 2009) было установлено, что одним из эффективных методов воздействия на процессы регенерации является пересадка аллогенных трансплантатов.

Особенно актуальным это направление стало благодаря современным технологиям, позволяющим модифицировать структуру трансплантатов, получая при этом биоматериалы с различным биохимическим составом, фиброархитектоникой и биомеханическими свойствами (Хасанов Р.А., 1999; Мулдашев Э.Р. с соавт., 2009; Муслимов С.А. с соавт., 2009). В рамках рассматриваемой проблемы чрезвычайно важным представляется то, что эти работы позволили создать общепринятые экспериментальные модели для изучения морфологических, патофизиологических, биофизических, иммунологических аспектов регенерации тканей при трансплантации.

В силу морфофункциональных особенностей (оптические свойства, метаболизм) (Сомов Е.Е., 2005), а также благодаря большой значимости для нужд практической офтальмологии, особый интерес представляет исследование процессов регенерации роговицы (Fromer С.Н., Klintworth G.К., 1975; Олиневич В.Б.,

2009). В исследованиях Р.А. Гундоровой и соавторов (2005, 2007, 2009), а также Е.В. Ченцова с соавторами (2005) были установлены важные механизмы репаративной регенерации роговицы, в частности – то, что пул стволовых клеток, обеспечивающих восстановление роговицы, расположен в области лимба.

Наиболее значительным патофизиологическим этапом в исследованиях процессов репаративной регенерации роговицы явилось выявление синдрома «недостаточности стволовых лимбальных клеток», которое характеризуется васкуляризацией конъюнктивы лимбальной области, нарушением структуры базального эпителия, васкуляризацией и хроническим воспалением роговицы и является серьезным препятствием для приживления трансплантата (Holland M.C. et al., 1957; Puangsricharern V., Tseng S.C.G. 1995; Tseng S.C.G., 1996; Dua H.S. et al., 2000; Grueterlich M. et al., 2002).

Важные клинические аспекты патологии роговицы исследованы и обобщены рядом зарубежных авторов (Rapiano C.J., Heng W.J., 2003; Krachmer J.H., Palay D.A., 2006).

В то же время, ряд важных морфофункциональных и патофизиологических процессов восстановления роговицы до сегодняшнего дня исследованы недостаточно полно. К числу таких областей экспериментальной медицины можно отнести недостаточные сведения о саногенетических механизмах, обеспечивающих процессы регенерации роговицы при различных экстремальных воздействиях, в частности – при ожогах.

Учитывая вышеизложенное, а также большой опыт применения аллотрансплантатов во Всероссийском центре глазной и пластической хирургии, мы полагаем, что экспериментальное исследование процессов постожоговой регенерации роговицы при локальных и рефлексогенных оптимизирующих воздействиях является актуальной проблемой современной патофизиологии.

Цель исследования. Определить эффективность репаративной регенерации поврежденной ожогом роговицы при локальном и рефлексогенном воздействиях диспергированным аллогенным биоматериалом.

Задачи исследования:

1. Изучить в эксперименте патофизиологические процессы в роговице на модели экспериментального химического ожога.
2. Исследовать патофизиологические механизмы репаративной регенерации собственного вещества и эпителия роговицы при локальном (перилимбальном) введении аллогенного диспергированного биоматериала.
3. Исследовать морфофизиологические механизмы регенерации собственного вещества и эпителия роговицы при рефлексогенном воздействии аллогенным диспергированным биоматериалом.
4. Исследовать динамику морфофункциональных изменений в локальных рефлексогенных зонах дермы и гиподермы при классическом акупунктурном воздействии.
5. Изучить динамику морфофункциональных изменений в локальных рефлексогенных зонах дермы и гиподермы при акупунктурном введении аллогенного диспергированного биоматериала.

Научная новизна работы. Впервые показано, что воздействие диспергированного аллогенного биоматериала на локальные рефлексогенные зоны приводит к выраженным сосудистым реакциям в тканевом ложе и активному ангиогенезу в области введения. При этом максимальная плотность капилляров в области введения биоматериала достигается на 14-е сутки при сохранении адекватного кровоснабжения в отдаленные сроки. Указанные сосудистые процессы реализуются на фоне полиморфной клеточной инфильтрации при ведущей роли макрофагов, что позволяет избежать явлений фиброза. В контрольной серии многократные сеансы акупунктурного воздействия приводят к локальному фиброзу рефлексогенной зоны.

Установлено, что воздействие диспергированного аллогенного биоматериала на локальные рефлексогенные зоны активизирует регенерацию роговицы после экспериментального ожога и приводит к выраженной сосудистой реакции и ангиогенезу в области лимба уже на 3-и сутки. Формирование органотипичного ре-

генерата эпителия и собственного вещества роговицы происходит на 14-е сутки, минуя выраженную стадию помутнения, характерную для контрольной серии.

Новыми являются данные о том, что локальное перилимбальное введение диспергированного аллогенного биоматериала ускоряет процессы репаративной регенерации роговицы после ожоговой травмы, вызывая сосудистую реакцию (вазодилатацию и неоангиогенез) в области лимба на 7-е сутки эксперимента. Формирование первичного эпителиального покрова происходит на 3-и сутки эксперимента, а трансформация его в многослойный плоский эпителий – на 7-е сутки, с последующей дифференцировкой роговичных пластин и ранним восстановлением поляризационно-оптических свойств собственного вещества роговицы (14-е сутки).

Новизна разработанного метода подтверждена патентом № 2238076 (12.05.2003 г.) «Способ лечения и профилактики заболеваний воздействием на биологически активные точки и зоны» и уведомлением о положительном результате формальной экспертизы по заявке № 2009145354/14 (064634) от 07.12.2009 г. на патент «Способ лечения начального кератоконуса».

Научно-практическая значимость. Рефлексогенное и локальное перилимбальное введение аллогенного диспергированного биоматериала может быть использовано для стимуляции репаративной регенерации эпителия и соединительнотканых структур роговицы. Показаниями для фармакопунктуры аллогенным диспергированным биоматериалом могут являться поражения стромы и эпителия роговицы различного генеза.

Инъекционная форма аллогенного диспергированного биоматериала, длительно поддерживая локальные сосудистые и клеточные реакции, может использоваться в схеме фармакопунктурной терапии с учетом ее пролонгированного эффекта и последующей полной резорбции биоматериала без явлений фиброза.

Положения, выносимые на защиту:

1. Аллогенный диспергированный биоматериал при введении в локальные рефлексогенные зоны инициирует комплекс микрососудистых и клеточ-

ных реакций, которые определяют пролонгированный терапевтический эффект данного вида фармакопунктуры.

2. Патофизиологическим эквивалентом постожогового помутнения роговицы является снижение коэффициента анизотропии коллагеновых волокон стромы и повышение экспрессии трансформирующего фактора роста (TGF β -1).

3. Фармакопунктура с использованием диспергированного аллогенного биоматериала при экспериментальном ожоге оптимизирует процессы регенерации в строме и эпителии роговицы, что проявляется более высокими показателями коэффициента анизотропии коллагеновых волокон, ингибированием экспрессии трансформирующего фактора роста (TGF β -1) и увеличением пролиферативной активности эпителиоцитов роговицы.

4. Перилимбальное введение диспергированного аллогенного биоматериала при экспериментальном ожоге роговицы стимулирует регенерацию эпителия и собственного вещества роговицы, активирует микроциркуляторное русло и, снижая уровень TGF β -1, предотвращает рубцевание в области формирования регенерата.

Реализация результатов работы. Результаты работы внедрены в практику отдела рефлексотерапии ФГУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» и ГОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Апробация работы. Результаты диссертационной работы доложены на: III Международном тихоокеанском конгрессе по традиционной медицине (Владивосток, Сеул, 2006), XIV Международной конференции «Циклы природы и общества» (Ставрополь, 2006), конгрессе «Традиционная медицина 2007», посвященном 30-летию со дня открытия Центрального научно-исследовательского института рефлексотерапии (Москва, 2007), научно-практической конференции «Современные методы диагностики и лечения заболеваний роговицы и склеры» (Москва, 2007), семинаре-конференции «Регенеративная офтальмохирургия» на

базе Всероссийского центра глазной и пластической хирургии (Уфа, 2007), Всероссийской научно-практической конференции «Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия в XXI веке» (Оренбург, 2009), IX съезде офтальмологов России (Москва, 2010).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ, 5 из которых в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста, состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов и практических рекомендаций. В работе содержится (37 рисунков, 18 графиков, 3 таблицы). Указатель литературы включает 303 источника (192 отечественных и 111 иностранных).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Основными морфофункциональными особенностями главной преломляющей среды оптической системы глаза – роговицы являются прозрачность, отсутствие сосудов и высокая проприоцептивная чувствительность, что, безусловно, накладывает отпечаток на защитные, компенсаторные и адаптационные саногенетические механизмы. За исключением работ, посвященных регенерации различных структур роговицы, в доступной литературе специальных публикаций по саногенезу роговицы нами обнаружено не было, поэтому ниже рассмотрены морфофункциональные особенности роговицы, способные влиять на ее патогенетические и саногенетические особенности.

1. САНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РОГОВИЦЫ

1.1. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И АНГИОАРХИТЕКТОНИКА ОБЛАСТИ ЛИМБА

Основным требованием, предъявляемым роговице, является ее оптическая прозрачность и преломляющая сила, что обусловлено исключительной правильностью расположения ее тканевых элементов, отсутствием сосудов и соответствующим содержанием воды. Не вдаваясь в морфологические подробности строения роговицы, отметим основные особенности, актуальные в рамках обсуждаемой в настоящей работе проблемы.

Согласно классическим представлениям (Сомов Е.Е., 2005), основное противоречие в функционировании роговицы возникает в связи с ее оптическими свойствами с одной стороны, и необходимостью адекватного обмена веществ – с другой. Прозрачность роговицы обусловлена исключительно стро-

гой пространственной организацией ее тканевых элементов, отсутствием сосудов и соответствующим содержанием воды, а также рядом физико-химических факторов, в частности – с состоянием мукополисахаридов и мукопротеидов. Высокая концентрация сульфомукополисахаридов в межуточном веществе роговицы позволяет сохранить постоянство ее химического состава. Главную роль в поддержании прозрачности роговицы играет эндотелий, так как он является активным барьером для солей и ряда метаболитов, проникновение которых в строму приводит к отеку последней. Во-вторых, он активно снижает осмотическое давление стромы с помощью бикарбонатного насоса, возвращающего ионы из стромы обратно в камерную влагу (Maurice D. M., 1972; Fischbarg J., Montoreano R., 1982; Yanoff M., Fine B. S., 1989 и др.).

Поскольку роговица непосредственно не имеет кровеносных сосудов, ее пластический и энергетический метаболизм обеспечивается диффузией из краевой петливой сосудистой сети, а также путем осмоса из влаги передней камеры и из омывающей ее слезы, транспорт питательных веществ обеспечивается или диффузией между эндотелиоцитами, или активным переносом через содержимое клетки в направлении стромы.

Для саногенетических механизмов роговицы важно, что передний и задний эпителий роговицы обладают высоким уровнем обмена веществ, который обеспечивается циркуляцией жидкостей, омывающих обе поверхности роговицы, при этом отсутствие сосудов является одной из причин замедленного обмена веществ во внутренних слоях роговицы, что имеет определенное значение при развитии патологии.

Кроме гидродинамики глаза, роговица обеспечивается особой краевой (перикорнеальная) сосудистой сетью, расположенной вокруг лимба. Не рассматривая подробно сосудистую систему глаза, которой посвящено большое количество публикаций, остановимся на особенностях циркуляторного русла, имеющего непосредственное отношение к процессам регенерации роговицы. Она питается от сосудов, ответвляющихся от передних ресничных артерий, которые, прежде чем образовать сосудистую систему радужки и ресничного тела, отдают ряд вет-

вей, идущих к роговице. Располагаясь вокруг лимба и анастомозируя между собой, они образуют краевую петлистую сеть роговицы. В ней различают поверхностную и глубокую сети, снабжающие соответствующие слои роговицы.

Венозный отток главным образом происходит по передним ресничным венам, ход которых аналогичен ходу одноименных артерий. Лимфатическая система роговицы формируется из узких лимфатических щелей, сообщающихся с ресничным венозным сплетением и лимфа отводится периваскулярными пространствами передних ресничных сосудов (Филиппенко В. И., Старчак М. И., 1987).

Известно, что нормальное функционирование роговицы зависит в основном от состояния ее эпителия, эндотелия и нервного аппарата. Так, питание роговицы, не имеющей собственных сосудов, осуществляется путем осмоса из жидкости передней камеры, прекорнеальной слезной пленки и путем диффузии из краевой сосудистой петливой сети. Для прохождения питательных веществ через роговицу строма играет в основном транзитную роль. Главное же значение в процессах обмена имеют эпителий и эндотелий. Они свободно проходимы для воды, но не проходимы для электролитов и органических веществ, не растворимых в жирах. Эпителий и эндотелий имеют также большое значение в «дыхании» роговицы (Румянцева О.А. с соавт., 2002).

Таким образом, одной из основных особенностей роговицы, в принципе ограничивающей ее способность к регенерации, является слабое снабжение сосудами. Более того, васкуляризация роговицы, в отличие от всех других тканей, рассматривается как один из основных признаков патологических изменений.

1.2. РЕГЕНЕРАЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ РОГОВИЦЫ

Поскольку в представленной работе основным предметом обсуждения являются процессы регенерации роговицы, данные соответствующей литературы рассмотрены более подробно.

Наряду с физиологической и заместительной регенерацией, в роговице различают репаративную регенерацию, которая развивается после повреждения ткани, и направлена на полное восстановление образовавшегося дефекта. Следует особо отметить, что к «полноценной» репаративной регенерации из структур роговой оболочки способен только передний эпителий. При повреждении остальных образований происходит заместительная регенерация, при которой выполняется дефект ткани соединительной или глиальной тканью.

При целостности базальной мембраны полное восстановление эпителия происходит за 6 дней, а при ее разрушении – за 6 недель. Столь длительный период восстановления связан с длительностью формирования полудесмосом между эпителиальными клетками и базальной мембраной (Khodadoust A.A. et al., 1968; Malecaze F. et al., 1994).

Нормальный ход репаративной регенерации стромы роговой оболочки может нарушаться при обширных ранениях, длительной денервации роговой оболочки, воспалительных изменениях тканей роговицы и токсическом на них воздействии (Войно-Ясенецкий В.В., 1959, 1965; Пучковская Н.А., Войно-Ясенецкий В.В., 1985).

Основной регенерационной способностью роговицы обладает передний эпителий, его дефект вначале заполняется за счет увеличения площади, уплотнения и сдвига окружающих эпителиальных клеток. Первоначально дефект обычно покрывается 1–2 слоями плоских клеток, а затем они начинают делиться, и восстанавливается многослойность эпителия. Заканчивается эпителизация образованием базальной пластинки (Войно-Ясенецкий В.В., 1979).

Регенерирующий эпителий уже через три дня начинает образовывать видимую базальную пластинку. Через 3,5 месяца базальная пластинка формируется полностью. До регенерации базальной пластинки эпителий, покрывший дефект, легко отделяется от подлежащей ткани.

Важным свойством переднего эпителия роговицы является его способность быстро заполнять даже глубокие дефекты подлежащей ткани, он начи-

нает переходить в возбужденное состояние. В определенной области, наиболее близкой к краю раны, клетки эпителия увеличиваются в объеме, набухают, начинают сильнее окрашиваться основными красками (Заварзин А.А., 1953; Лазаренко Ф.М., 1959).

По мере образования в раневой щели молодой ткани собственного вещества роговицы и дальнейшего ее созревания эпителий постепенно вытесняется из раневой щели и происходит дифференциация его слоев (Войно-Ясенецкий В.В., 1979). Эпителиальный пласт ползет по развивающемуся фибробластическому слою, причем одновременно происходит и дифференциация эпителиального пласта. Между ними существуют тесные взаимоотношения. «Влияние образовавшегося реактивного очага на начало эпителиальной реакции может полностью осуществиться только в тех случаях, когда нарушена целостность базальной мембраны» (Заварзин А.А., 1953). Следовательно, базальная мембрана является той важнейшей составляющей частью системы эпителий-соединительная ткань, которая определяет их взаимоотношения в нормальном состоянии (Заварзин А.А., 1953).

В Гарвардском медицинском университете изучали на модели *in vivo* скорость и степень активации EGF-рецепторов в течение заживления раны эпителия роговицы. В течение получаса после ранения они мигрируют к раневой поверхности (Zieske J.D., 2000). Эпидермальный фактор роста и родственные ростовые факторы: преобразующий ростовой фактор TGF- α , EGF (эндотелиальный фактор роста), амфирегулин (AR), сообщают авторы, в процессе заживления раны действуют сообща.

Отмечены результаты влияния фактора роста нервов на процессы заживления ран роговицы. Выяснено, что NGF (нейротрофический фактор роста) присутствует в молекулах и вырабатывается нормальной роговицей крысы и человека. Ингибирование эндогенной активации посредством нейтрализации антиNGF-антител замедляло заживление эпителия роговицы крыс, тогда как экзогенное управление фактором ускоряло заживление (Lambiase A., 2000).

Профессором И.П. Хорошиловой-Масловой (1995, 2007) был разработан метод аутолимфокинотерапии в процессе регуляции заживления проникающих ранений роговицы с помощью естественного комплекса цитокинов (ЕКЦ), секретируемых мононуклеарными клетками периферической крови при стимуляции фитогемагглютинином.

Экспериментально-клинические данные показали, что восстановление эндотелия роговицы к 7-му дню под воздействием цитокинов препятствовало избыточному разрастанию клеточного пролиферата в переднюю камеру. В основе механизма действия ЕКЦ - каскадность эффектов, вызываемых иммунопептидами при их взаимодействии, когда одни цитокины индуцировали выработку других. На более позднем этапе повышение активности ФБ-кератобластов сопровождается активной выработкой коллагеназы, что способствует рассасыванию коллагена соединительной ткани рубца и уменьшению его объема (Хорошилова-Маслова И.П., 1995; Ковальчук Л.В., 1993).

Комбинация различных цитокинов EGF, PDG F, основного и кислого факторов роста фибробластов, оказывает более сильное влияние на пролиферацию клеток роговицы, чем каждый из цитокинов в отдельности. Действие проявляется в избыточной пролиферации фибробластов и торможении воспалительной реакции, индуцируется выработка иммунопептидов клетками и нормализуются процессы заживления (Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., 1993). Е.А.Каспаровой с соавт. (2005) изучались эффекты применения комплекса аутоцитокинов в лечении различных заболеваний переднего отрезка глаза.

Вопрос об участии ткани собственного вещества роговицы в процессах регенерации до сих пор спорен (Войно-Ясенецкий В.В., 1979). Это, очевидно, связано с тем, что еще не выяснено происхождение так называемых оседлых роговичных клеток или кератоцитов. Если считать, что роговичные клетки являются фиброцитами и существенно не отличаются от фиброцитов обычной соединительной ткани, то тогда легко допустить, что ткань стромы роговицы может восстанавливаться клетками соединительной ткани или блуждающими эле-

ментами (лимфоцитами, гистиоцитами, полибластами) (Войно-Ясенецкий В.В., 1979; Бабаева А.Г., 1982).

Изучено влияние апоптоза кератоцитов на заживление эпителиальных ран роговицы и конъюнктивы (Wilson S.E., 2000).

В работах А.А. Золотарева (1994) изучалось местное применение ретаболила при лечении патологии роговицы в эксперименте и клинике. При местном применении ретаболил существенно ускоряет процессы регенерации эпителия роговицы. Степень выраженности эффекта одинакова при бульбарном и субконъюнктивальном введении. Препарат в виде мази или масляного раствора не оказывает раздражающего или повреждающего действия, позволяет получить положительный эффект у больных с эпителиально-эндотелиальной дистрофией. Этот эффект тем отчетливее, чем меньше интенсивность и площадь поражения роговицы (Золотарев А.А., 1994).

После нанесения трепанационной раны роговицы восстановление эпителиального покрова в условиях местного применения 2% мази бетамецила и 20% геля солкосерила идет быстрее, чем при использовании 10% мази метилурацила (Егоров Е.А., 1996). Через 30–90 суток регенерат не отличается от структур интактных отделов роговицы, что свидетельствует об его устойчивости к полноте восстановления. Прочность регенерата под влиянием 2% мази бетамецила и 20% геля солкосерила превосходит другие (Егоров Е.А., 1996).

Использование кватерина на ранних стадиях после травматического повреждения роговицы способствует улучшению обменных процессов, повышая активность ферментов гликолиза и цикла Кребса. Репаративные процессы в соединительной ткани под влиянием кватерина ускоряются, что обеспечивается восстановлением гликозаминогликанов собственного вещества роговицы, стабилизируются мембранные компоненты клеток эпителия и клеток собственного вещества роговицы, препятствуя проявлению активности ферментов лизиса (Пчеляков В.Ф., 1987).

Применение янтарно-кислого Na при проникающих ранениях роговицы является естественным, абсолютно нетоксичным методом, т. к. не происходит

накопления препарата, нормализуется рН при наличии метаболического ацидоза, уменьшается утечка ферментов из клетки во внеклеточную жидкость, обладает высокой эффективностью в малых дозах, хорошо сочетается с антибиотиками. 1% раствор янтарно-кислого Na активно способствует нормализации ЛДГ в роговице и камерной влаге при проникающих ранениях роговой оболочки (Иваницкая Е.В., 1986).

Среди известных стимуляторов регенерации большую популярность имеет препарат этаноламин. Он усиливает обмен белков, синтез нуклеиновых кислот, аденозин-фосфата, активирует окислительно-восстановительные процессы (Манукян М.Е., 1979).

Среди стимуляторов регенерации активно изучаются факторы, участвующие в адгезивном процессе, обеспечивающие прикрепление, растяжение и миграцию различных типов клеток. Различают тканевые адгезивные факторы (когнины, адгероны, ламинин) и гуморальные, циркулирующие в биологических жидкостях (хондронектин, фактор адгезии и распластывания, эпиболин и др.).

К последним принадлежат низкомолекулярные полипептиды из супернатанта сыворотки крови животных и человека – адгелон (Гундорова Р.А., 1997).

При его применении происходят уменьшение сроков воспалительной реакции, быстрая ликвидация диастаза краев раны, ускорение эпителизации поверхности повреждения, раннее восстановление передней камеры глаза, снижение частоты осложнений (выпот фибрина и гипопион), ускорение процессов репаративной регенерации и реконструкции новообразованной рубцовой ткани. В результате образуется более компактный и структурированный рубец с преобладанием пролиферативного компонента без активной васкуляризации роговицы.

На клеточном уровне – ускорение миграции эпителия, макрофагов, уменьшение лейкоцитарной инфильтрации, раннее формирование непрерывного монослоя эндотелия без признаков десквамации в зоне раневого канала, что в конечном итоге приводит к быстрому заполнению раневого канала эпителиально-фиброзным компонентом в первые сутки после ранения, более ран-

нему, точному смыканию краев, активной резорбции фибрина и замещению его кератобластическим пролифератом, синтезирующим новые коллагеновые волокна. Преобладание волокнистого компонента над клеточным компонентом определяет качество рубцовой ткани. К концу формируется более нежный, компактный, бессосудистый рубец, что приводит к меньшему изменению прозрачности и рефрактерности роговицы в дальнейшем (Гундорова Р.А., 1997).

Эффективность корнерегеля, содержащего пантотеновую кислоту, коэнзим А, была оценена в процессе заживления роговицы. Динамика была оценена с помощью флюоресцирующего микроскопа гистологическим, иммуногистохимическим методами. Корнерегель рекомендуют для практического применения как стимулятор регенераторных процессов в роговице (Егоров Е.А. с соавт., 1996).

Оценено действие sodium hyaluronate на реэпителизацию роговицы, добавленной в конце пенетрирующей кератопластики после пересадки тканей. Был сделан вывод о том, что вышеуказанный препарат совершенствует пересадку в эпителиальном аспекте в первый послеоперационный день, но не влияет на время реэпителизации в целом (S. Scheer, 1999).

Оценивалось фармакологическое действие масел облепихи, шиповника, подорожника при экспериментальном ожоге глаз. Терапевтическое действие изученных препаратов масел находится в прямой зависимости от степени ожога, его площади и глубины повреждения. Действие изученных масел проявляется в последовательной смене фаз трофических расстройств и эпителизации. Препараты обеспечивают репарацию тканей, оказывают протекторное действие на грануляцию, стимулируют трофические и обменные процессы (Никулин А.А., 1992).

Керакол – аморфный порошок с желтоватым оттенком. Лекарственная основа – роговичный гликозаминогликан – кератан-сульфат и коллаген. Экспериментально-клиническими методами изучалась эффективность керакола при лечении ожогов и механических травм роговой оболочки. Доказано, что керакол ускоряет процессы регенерации и обеспечивает эффект просветления

роговицы, применяется при ожогах, язвах, фистулах, десцеметоцеле и механической травме роговой оболочки. Керакол ускоряет процессы регенерации роговой оболочки, способствует быстрому выздоровлению при механических повреждениях и ожогах роговой оболочки глаза (Суркова В.К., 1994).

Некоторые фракции гликопротеинов способствуют заживлению ожоговых ран, уменьшая деформированность эритроцитов и нормализуя микроциркуляцию в ишемических зонах, ингибируют продукцию нейтрофилами супероксиданионов в процессе окислительного фагоцитоза. Активация этого процесса всегда происходит в очагах воспалительного поражения (Саломатин В.В., 1992).

Было изучено действие амниотической мембраны, которая в виде повязки накладывалась на поврежденную ожогом роговицу (Kim J.S., 2000). По данным автора, амниотическая мембрана способствует заживлению и тормозит активацию протеиназы, которая возникает после роговичного ожога алкалем. Она содержит компоненты базальной мембраны, может заблокировать воспалительные воздействия на раздраженную поверхность роговицы. Использование амниотической мембраны способствует заживлению ран с помощью подавления протеиназной активности и инфильтрации полиморфноядерных лейкоцитов (Полянская Н.К., 2008).

Новый лекарственный препарат ксимедон – пиримидиновое производное. Как было выяснено на практике, при лечении обожженных способствует коррекции диспротеинемии в крови, оказывая активное влияние на обмен нуклеиновых кислот, увеличивает показатели фагоцитоза. При его применении происходит быстрое очищение грануляций от фибриновых налетов, исчезает легкая ранимость грануляционной ткани, увеличивается рост эпителия, уменьшается частота образования келлоидных рубцов (Шафиков И.З., 1993).

В экспериментах на животных для глубоких ожоговых ран, закрытых углеродными материалами, морфологическим методом обнаружена стимуляция процессов регенерации. Производилась попытка применения атравматичной активированной углеродной ткани для лечения ожогов. В сравнении

с контрольной группой происходило нормальное заживление и созревание грануляционной ткани, активный рост эпителия, формирование нежного рубца, уменьшалась отечность грануляций (Каем Р.И., Устинова Т.С., 1994).

В настоящее время большой популярностью в лечении ожогов роговицы среди клиницистов-офтальмологов пользуются лечебные глазные пленки ЛГП. Положительный эффект был отмечен у больных с ожогами. Относительно лучшие результаты были получены при сочетании апилакотерапии с лазерным облучением роговицы. Ни в одном случае не наблюдалось изъязвления или перфорации. Отмечено достоверное ускорение эпителизации роговицы (Прокофьева Г.Л., 1990).

Применение природных биостимуляторов на основе гликозаминогликанов является патогенетически обоснованным методом коррекции репаративных процессов в роговице.

Азидарег – новый лекарственный препарат, разработанный в Уфимском НИИ глазных болезней, представляет собой смесь гликозаминогликанов, получен из роговиц сельскохозяйственных животных (Кадырова В.А., 2000). Эпителизация дефектов роговицы при его использовании наступает в среднем на 8–10 сутки.

Гиалуроновая кислота – несультфатированный гликозаминогликан – обладает эффективным ранозаживляющим действием (Азнабаев М.Т. с соавт., 2000). Установлено, что она участвует в регенерации роговицы, способствуя щадящему ее рубцеванию. Проведенные экспериментальные исследования глазных капель, созданных на основе гиалуроновой кислоты в УфНИИГБ позволяют заключить, что вышеуказанные глазные капли стимулируют репаративную регенерацию роговицы с восстановлением ее прозрачности, уменьшают сроки лечения.

В последние годы выполнена целая серия экспериментальных и клинических исследований, в которых обосновано местное применение различных трансплантатов и биостимуляторов для оптимизации репаративной регенерации роговицы (Рыбакова Е.Г., Егорова Г.Б., Калинин Н.И., 2009; Гундорова Р.А.,

2007, 2009; Костюкова Н.Ю., 2008; Полянская Н.К., 2007, 2008; Олиневич и др., 2009; Карамян А.А., 2008; Милюдин Е.С., 2007).

Изучено влияние трансплантации стволовых клеток нейроэктодермального происхождения и лимба при ожогах роговицы в эксперименте (Сулеева Б.О., Мухамеджанова Г.К., 2000, 2005; Ченцова Е.В. с соавт., 2005; Чекина А.Ю., Бирич Т.А., 2005; Николаева Л.Р., 2006). При этом эффективность трансплантации стволовых клеток объясняется активацией неспецифических механизмов клеточной терапии, сочетающих выделение различных факторов роста и ключевых метаболитов с модуляцией процессов пролиферации и дифференцировки собственных стволовых клеток лимбальной зоны. Также известны работы по имплантации фетальной роговицы в лечении дистрофических поражений роговицы (Перевозчиков П.А., 2006). Авторами доказано биостимулирующее влияние на репарацию заднего эпителия роговицы реципиента.

Таким образом, для стимуляции репаративной регенерации роговицы разработаны и используются различные вещества биологического происхождения. В то же время, нет экспериментально-морфологических работ, посвященных возможности использования диспергированного биоматериала Аллоплант для активации репаративных процессов в роговице при его локальной (субконъюнктивальной) инъекции и акупунктурном введении.

1.3. НЕЙРОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ГЛАЗА

Как следует из предыдущего раздела обзора литературы, саногенетических процессы роговицы достаточно полно изучены на субклеточном, клеточном и тканевом уровнях с включением локальных механизмов регуляции пролиферации и дифференцировки ткани. Вместе с тем, регуляция процессов регенерации роговицы с участием системных механизмов, в частности – нейрон-

ной регуляции, изучена значительно слабее. Исходя из идеи нервизма в развитии патологических и саногенетических процессов, основой такой регуляции могут быть особенности иннервации глазного яблока в целом и роговицы – в частности, так как нервная система глаза представлена всеми видами иннервации – чувствительными, двигательными и вегетативными. Эпителий роговицы относится к наиболее интенсивно иннервируемым структурам. При исследовании особенностей иннервации роговицы кролика A.J. Rozsa, R.W. Beuerman (1982) обнаружили, что афферентная иннервация роговицы в несколько сот раз выше, чем в коже, плотность иннервации такова, что на 2,1 млн. базальных клеток эпителия роговицы приходится до 1,4 млн. нервных окончаний.

1.3.1. Афферентные и эфферентные связи роговицы

В наиболее общем виде чувствительная иннервация органа зрения осуществляется первой и отчасти второй ветвями тройничного нерва.

Не вдаваясь в анатомические подробности, рассмотрим основные положения, непосредственно относящиеся к рассматриваемой проблеме. Прежде всего, роговица обладает чрезвычайно высокой проприоцептивной чувствительностью, что, согласно классическим нейрофизиологическим представлениям, обеспечивает ее защитные функции, типичным примером которого является корнеальный рефлекс, предохраняющий глаз от ноцицептивных раздражений. Морфологическим субстратом афферентной импульсации от роговицы являются волокна ресничных нервов, отходящих от роговицы и перилимбальной области. Важно отметить, что эти волокна принадлежат тройничному нерву, который имеет как чувствительные, так и двигательные ядра и волокна, обеспечивающие чувствительную и трофическую иннервацию соответствующих структур глаза и перилимбальной конъюнктивы. Таким образом, уже на уровне тройничного нерва создаются нейрофизиологические условия для регуляции трофических функций роговицы как за счет проприоцептивных,

так и системных рефлексов ствола мозга (Лиманский Ю.П., 1983; Вальдман А.В., Цырлин В.А., 1981).

В целом эфферентная иннервация глаза обеспечивается III, IV, VI, VII парами черепных нервов, но в контексте данной работы нас, прежде всего, интересуют нейронные механизмы трофического обеспечения роговицы.

Вегетативные волокна исходят из трех ганглиев. Это тройничный, ресничный и верхний шейный ганглий. Вегетативная иннервация обеспечивает трофику роговицы. Денервация роговой оболочки в эксперименте путем перерезки нервных стволов, входящих в глазное яблоко вблизи зрительного нерва, приводит к развитию дистрофических процессов, напоминающих нейропаралитический кератит у человека (Войно-Ясенецкий В.В., 1959, 1965; Пучковская Н.А. и Войно-Ясенецкий В.В., 1985). Аналогичного характера дистрофические процессы роговой оболочки и структур переднего отдела глаза наблюдаются и после проведения циркуляжа силиконовой лентой, которая передавливает ресничные нервы (Вит В.В. с соавт., 1979).

О значении иннервации говорит и то, что одним из необходимых основных условий дифференциации эпителиальных и стромальных компонентов роговицы после травмы или кератопластики является реиннервация роговой оболочки (Беляев В.С., 1977; Пучковская Н.А. и Войно-Ясенецкий В.В., 1985).

Эфферентная парасимпатическая иннервация структур глаза осуществляется за счет нейронов ядра Якубовича среднего мозга, аксоны которых в составе глазодвигательного нерва, переключаясь в ресничном узле, с волокнами коротких ресничных нервов достигают переднего отрезка глаза.

Эфферентная симпатическая иннервация обеспечивается нейронами боковых рогов последнего шейного и двух верхних грудных сегментов. Преганглионарные аксоны этих нейронов, далее переключаясь в верхнем шейном узле, идут в нервные сплетения и далее в составе длинных и коротких ресничных нервов, достигают цилиарного тела, где образуют густое сплетение, от которого нервные веточки проникают в роговицу (Сомов Е.Е., 2005).

Таким образом, особенности афферентной и эфферентной иннервации роговицы не могут не влиять на процессы ее регенерации. Ключевая роль нейронной регуляции в трофике роговицы показана в исследованиях отечественных и зарубежных авторов (Вит В.В. с соавт., 1979; Пучковская Н.А., Войно-Ясенецкий В.В., 1985; Румянцева О.А. с соавт., 2002; Rozsa A.J., Beuerman R.W., 1982 и др.).

1.3.2. Морфофункциональные особенности рефлексогенных зон и их влияние на структуры глаза

Анатомические и функциональные особенности локальных рефлексогенных зон достаточно подробно описаны в ряде работ (Lu N. et al., 2007; Ma S.X. et al., 2007; Varada A. et al., 2008; Yin C.S. et al., 2008; Moffe H.H., 2008; J. Yuan et al., 2009). Для того чтобы избежать неточностей и недоразумений при рассмотрении данных литературы, здесь необходимо провести некоторые терминологические уточнения. Дело в том, что у значительного количества авторов локальные рефлексогенные зоны обозначаются терминами, позаимствованными из традиционной восточной медицины – такими как «биологически активные точки», «акупунктурные точки», «точки акупунктуры» и др. Учитывая то, что в представленной диссертационной работе все процессы и явления рассматриваются с позиций классической патологической физиологии, мы будем пользоваться термином «локальная рефлексогенная зона – ЛРЗ», под которой подразумевается участок кожи и подлежащих тканей с определенными морфологическими, физиологическими и биофизическими свойствами. С позиций рефлексотерапии – это морфофункциональная единица организма, на которую могут быть направлены различные способы воздействия, предполагающие нормализацию функционального состояния органов и систем организма.

Важной особенностью ЛРЗ является ее динамичность, в частности, по данным Ю.И. Адаменко (1969), её диаметр и электрические характеристики

меняются в зависимости от эмоционального состояния, физического утомления, от смены сна и бодрствования.

Для ЛРЗ характерны общие морфофункциональные особенности и топографо-анатомические закономерности их расположения (Сыч Н.Н., 2002; Liertzner H., 2006; Nielsen A., 2006; Robinson N., 2006).

Отдельного описания заслуживают особенности васкуляризации и иннервации в области локальных рефлексогенных зон. Так, Е.М. Крохиной, Л.М. Чувильской (1981) выявлена неоднородность характера и интенсивности чувствительной иннервации ЛРЗ, причем плотность их нервных образований, состоящих из пучков нервов, свободных нервных окончаний и рецепторов сложного типа возрастает в дистальном направлении.

Исследования многих авторов показали, что свободные нервные окончания являются наиболее выраженным субстратом ЛРЗ. Их количество наиболее велико в дистальных отделах конечностей, а корковое представительство более значительно для периферических рецепторов. В работе А.К. Подшибякина (1960) показано, что проекции активных точек совпадают с местом входа в кожу нервного ствола, либо соответствуют сосудисто-нервному пучку кожи. Эти результаты совпадают с данными J. Plummer (1980), который отмечает присутствие под точками нервных сосудистых структур. В работах J. Bischo (1977) показано, что ЛРЗ представляют собой скопление нервных окончаний (с рецепторными и эффекторными свойствами).

В работах Я.А. Вандан и В.К. Зальцмане (1977) описано морфологическое строение ЛРЗ у кроликов, при этом не найдено неизвестных морфологических структур при световой и электронной микроскопии. Обнаружены нервы, кровеносные и лимфатические сосуды в 80% ЛРЗ. Среди фибробластов, макрофагов и тучных клеток находились единичные нервные клетки.

G. Kellner (1966), исследовавший по 250–300 срезов с проекции ЛРЗ, выявил в них большое количество различного вида рецепторов (осязательное тельце, концевая колба, гломусы) и неисчерченную мышечную ткань.

Работами С.Terral (1975) установлено, что в зоне ЛРЗ имеются спиралеобразные сосудистые сетки, которые окружены холинергическими безмиелиновыми волокнами, а также то, что в ЛРЗ – более тонкий слой эпидермиса и более тонкие коллагеновые волокна.

Особенность морфологического строения ЛРЗ заключается, в подавляющем большинстве случаев, в наличие подкожных нервов, вен, артерий, лимфатических сосудов (Вандан А.Я., Зальцмане В.К., 1977; Bossy J., 1975; Yan B. et al., 2005).

Для изучения механизмов акупунктуры интерес представляют не только иннервационный аппарат ЛРЗ, но и их клеточный состав. По данным А.М. Василенко (1985, 1997) наиболее активными клеточными элементами ЛРЗ являются тучные клетки (лаброциты). Н.И.Вержбицкой, Л.А. Всеволожским (1983) также выявлено большее количество тучных клеток в зонах ЛРЗ (в два-три раза) в сравнении с окружающими тканями. По данным указанных авторов соединительная ткань с большим количеством лаброцитов обладает значительным запасом биологически активных веществ.

Гистоморфологические особенности ЛРЗ объясняют их биофизические свойства и позволяют сделать вывод о том, что они являются активными морфофункциональными элементами организма. Через ЛРЗ происходит взаимодействие внутренней среды организма с внешней (Вержбицкая И.И., Кромин А.А. 1981; Вогралик В.Г., Вогралик М.В., 1988).

Исследования Е.М. Крохиной и Л.М. Чувильской (1981) выявили механизмы раздражения кожи и подлежащих тканей при иглоукалывании. В первую очередь вовлекается эпидермальный слой, который раздражается уже при прикосновении иглы к коже. Происходит стимуляция тактильных экстерорецепторов, импульс проходит по толстым миелиновым волокнам типа А-бета (диаметр 8–12 мкм, скорость проведения нервного импульса 40–70 м/с). Затем вовлекается дерма, в которой имеются болевые и температурные экстерорецепторы, помимо тактильных, а также нервные окончания вегетативных

периваскулярных сплетений. При воздействии на гиподерму и мышечно-фасциальный слой происходит раздражение окончаний вегетативных периваскулярных сплетений и проприорецепторов. Периостальная акупунктура предусматривает раздражение более глубоко лежащего слоя – надкостницы (Cunin-Roy C. et al., 2007).

При раздражении ЛРЗ иглой в коже происходят изменения, идентичные процессу, развившемуся при механическом повреждении эпидермиса и дермы (Киселева Р.Е. с соавт., 1986). При раздражении кожных рецепторных полей, образованных дендритами соматических висцерорецепторных органов, могут возникать симпатические и парасимпатические эффекты при различной интенсивности раздражений (Кукушкин М.Л., 1987; Chen J. et al., 2007; Dyson-Hudson T.A. et al., 2007).

Рефлекторное раздражение рецепторов внутренних органов обуславливает изменение двигательной и соматосенсорной сфер, и, наоборот, возникает вегетативная реакция при воздействии на соматическую сферу (Черниговский В.Н., 1967; Freire A.O., Mello L.E., 2008; Gooneratne N.S., 2008; Napadov V. et al., 2009; Chou L.-W. et al., 2009).

Многие авторы отводят большую роль гуморальным факторам в механизме акупунктуры. Происходит выброс биологически активных веществ (медиаторов, гормонов), усиление обменных процессов, меняется возбудимость нейронов мозга. В результате снимается длительное возбуждение или торможение центров мозга, управляющих деятельностью всего организма (Molassiotis A., Sylt P., Diggins H., 2007; Yoo S.-S. et al., 2007).

Исследования показали, что при акупунктуре происходит повышение толерантности к боли в результате высвобождения гуморальных факторов в структурах ЦНС (а не в области ЛРЗ). В центральном сером веществе сильвиева водопровода среднего мозга и ретикулярной формации содержится большое количество эндорфинов, к которым имеются чувствительные рецепторы. Опиатные пептиды блокируют проведение болевых импульсов и вызы-

вают анальгезию (Chosson J.P., 2007; Gao X.-Y. et al., 2007; Duclos A.M. et al., 2007; Reukov A.S., 2008; B.B. Garrido-Suarez B.B. et al., 2009; Kim H. et al., 2009; Chou L.-W. et al., 2009).

При акупунктурном воздействии на ЛРЗ, происходит импульсация по афферентным волокнам к спинному мозгу, эфферентная реакция – по соматическим нервам к мышцам, а по вегетативным нервам – к внутренним органам. Каждый отдел спинного мозга по принципу метамерии соответствует тем или иным внутренним органам. Сегментарная (метамерная) реакция организма зависит от характера акупунктурного воздействия (тормозящего или возбуждающего) и проявляется нормализацией функционального состояния внутренних органов. Иглокалывание оказывает положительный эффект за счет активации гипоталамико-надпочечниковой, симпатoadреналовой, калликреин-кининовой систем (Johnson M., Martinson M., 2007; Linde K. et al., 2007).

Терапевтическая эффективность ЛРЗ является следствием их специфичности, так как они представляют собой проекционные зоны рефлекторных структур внутренних органов (Iwa M. et al., 2007).

Раздражение ЛРЗ, приводящее к афферентной импульсации по вегетативным путям, вызывает генерализованную реакцию со стороны ретикулярной формации, корково-подкорковых структур мозга, гипоталамуса, гипокампа, таламуса, амигдалоидной области (Zeng F. et al., 2009). В результате происходят нормализующие сдвиги в перераспределении биологически активных веществ, гормонов, регулирующих физиологические системы.

Доказано, что одним из эффектов акупунктуры является феномен выделения энцефалоэндорфинов. Выявлено прекращение действия акупунктурной анальгезии после введения налоксона – антагониста.

Несомненна роль симпатико-адреналовой системы в механизме акупунктуры (Кассиль Г.М. и др., 1961; Вогралик В.Г., Вогралик М.В., 1978; Тыкочинская Э.Д., 1979; Гойденко В.С., Котенева В.М., 1982). При воздействии на точку акупунктуры в организме выделяются катехоламины, регулирующие метаболические процессы в эффекторных клетках.

Определяющим фактором высвобождения медиатора в той или иной ткани является плотность ее иннервации (Шаляпина В.Г. с соавт., 1988). Как известно, морфологическим отличием ЛРЗ от точки плацебо является количественное содержание нервных элементов, плотность которых в точке намного большая, чем в окружающей ткани. Большое количество сосудистых структур может свидетельствовать о доступности выхода из ЛРЗ в кровь выделенных катехоламинов.

Многие авторы объясняют механизм акупунктуры с точки зрения развития связи кожи с внутренними органами в период эмбриогенеза. Как известно, кожа и нервная система образуются из эктодермы, висцеральные органы из мезо- и энтодермы. В процессе развития нервная система врастает во внутренние органы, имея уже связи с кожей. По мере роста тела происходит топографическое смещение нервных связей. R. Fuye (1956) считал, что нервные связи «зашифровываются» и из точки соприкосновения образуются линии взаимосвязи в период развития организма.

Исследования И.И. Русецкого, А.Х. Терегулова (1962) показывают на взаимосвязь общих церебральных реакций, сегментарных и местных, в механизме действия акупунктуры. В общем комплексе раздражения по мере все более глубокого введения иглы происходит инициация все менее дифференцированных рецепторов. Авторами отводится значительная роль соматическим нервным импульсам, а также то, что воздействие иглы приводит к раздражению вегетативных нервов периваскулярных нервных сплетений.

При электронной микроскопии препаратов АТ J. Niboyet (1982) обнаружил, что от артерии, идущей параллельно к коже, в области ЛРЗ отходит артериальный сосуд в комплексе с веной и лимфатическим сосудом в направлении, перпендикулярном коже. Стенка этой артерии представлена только эндотелием с базальной мембраной. Артерии окружены немиелинизированными нервными веточками, а между кровеносными и лимфатическими сосудами – миелинизированные нервные волокна. Обнаружены вакуоли в эндотелии стенок артерии, причем количество их возросло после раздражения точек. После стимуляции точек

увеличивался интерстициальный отек и в просвете артерий появлялись В-лимфоциты крупных размеров. Автор считает, что ЛРЗ содержат нервные структуры, необходимые для нейросекреции медиаторов. Также им подтвержден низкий импеданс в области ЛРЗ, наблюдаемый ранее А.К. Подшибякиным (1960).

Работами Э.Д. Тыкочинской, А.И. Шапиро (1959), В.Г. Вограликом (1961) установлено, что акупунктура оказывает стимулирующее действие на фагоцитарную активность, нормализует фибринолиз, повышается количество антител, усиливается поглощение кислорода и выделение углекислого газа. Исследования Г.М. Покалева и соавторов (1980) выявили влияние акупунктуры на белковый состав крови, выразившееся повышением содержания альбуминов, снижением количества неэстерифицированных жирных кислот и 11 оксикортикостероидов. Подобные данные получены С.Г. Пак (2003) при изучении влияния родонотерапии и акупунктуры на нейрогуморальные процессы у женщин в послеоперационном периоде.

V. Omura (1979) отметил положительные изменения в составе крови, сходные с влиянием АКТГ – повышение содержания кортизона и серотонина. При воздействии на ЛРЗ происходит локальная нейрогуморальная реакция. Непосредственно в месте воздействия в кровь выделяются катехоламины и локально изменяют морфофункциональные отношения в рецепторном аппарате этой области.

Одним из возможных механизмов, обуславливающих клинический эффект при акупунктуре, являются сдвиги в биологической активности крови (Вогралик В.Г., 1961).

Механическая травматизация ЛРЗ и асептический воспалительный процесс приводят к раздражению нервных волокон, что инициирует эффекты рефлексотерапии (Киселева Р.Е. с соавт., 1986; Pohodenko-Chudakova I.O., 2006).

Y.M. Sin et al. (1983) изучалось влияние электроакупунктуры на воспаление в дерме крыс. При исследовании воспалительного экссудата обнаружилось достоверное уменьшение его объема и содержания в нем лейкоцитов по сравнению с контрольными группами при всех видах лечения. В воспаленной

ткани уменьшался диapedез лейкоцитов, и снижалась секреция медиаторов воспаления. Наибольший лечебный эффект достигался авторами при введении игл непосредственно в зону воспаления (Wang Y.J. et al., 1989; Liang X.-B. et al., 2002; Chen J. et al., 2007).

Воздействие на ЛРЗ приводит к стимуляции таких иммунных реакций, как антителопродукция, фагоцитоз и миграция клеток (Василенко А.М., Дуринян Р.А., 1983; Nielsen A., 2006).

После акупунктурного воздействия происходят фазные изменения количества лейкоцитов в периферической крови. Наблюдается лейкопения с одновременным повышением фагоцитарной и бактерицидной активности. При введении интактным животным суспензии селезеночных клеток мышей, подвергшихся электроакупунктуре, вызывается повышение фагоцитарной активности клеток периферической крови (Min S.J., 1983).

Быстрое заживление послеоперационных ран и выздоровление при острых травмах обусловлено тем, что после сеанса акупунктуры происходит повышение содержания в крови лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов (Omura V., 1979; Pohodenko-Chudako I., 2006).

1.3.3. Возможности использования локальных рефлексогенных зон в лечении патологии фиброзной оболочки глаза

Особый интерес представляет возможность воздействия на локальные рефлексогенные зоны в лечении глазных болезней. В настоящее время рефлексотерапия используется в офтальмологической практике при лечении таких заболеваний как глаукома, атрофия зрительного нерва, пигментная дегенерация сетчатки, амблиопия, косоглазие (Белозерова З.Н., 1983; Губарева Р.А., 1990).

В фундаментальных работах Д.М. Табеевой (1980), Е.Л. Мачерет, И.З. Самосюк (1984), Э.Д. Тыкочинской (1979), В.Ф. Труфановой с соавт. (1985), Г. Лувсан (1986), Хоанг Бао Тяу, Ла Куанг Ниен (1989) также показана эффективность рефлексотерапии при многих заболеваниях глаз.

Уместно отметить, что в методических рекомендациях МЗ СССР «Показания и противопоказания по применению методов рефлексотерапии в лечебной практике» (1980) изложены следующие показания рефлексотерапии при болезнях глаза и его придатков: нарушения рефракции и аккомодации (умеренно или незначительно выраженные); кератит (фотокератит или куриная слепота); кератоконъюнктивит нейротрофический; хронический конъюнктивит (весенний конъюнктивит); блефароконъюнктивит (аллергический); блефарит (аллергический); неврит зрительного нерва (с умеренным снижением зрения); глаукома (начальная форма, болевой синдром).

Ряд авторов применяли на практике метод рефлексотерапии: при глаукоме В.А. Акимочкина (1961), Г.И. Тиминская, Т.Л. Поскребко (1986); при пигментной дегенерации сетчатки И.Ю. Шевчук (1973), Г.С. Струков (1979); при атрофии зрительного нерва З.Н. Белозерова (1983), Е.М. Иванова (1961); при дистрофических и дегенеративных изменениях глаз Н.А. Качан, Э.Р. Мамедова (1987), В.М. Песин с соавт. (1984); для повышения зрительных функций у рабочих промышленных предприятий В.В. Коваленко с соавт. (1989); в послеоперационном периоде у больных с отслойкой сетчатки; при глаукоме, пигментной дегенерации сетчатки, атрофии зрительного нерва S. Dabov с соавт. (1985), S. Wong с соавт. (1988), L.R. Treuane с соавт. (1986). М.С. Каган (1984) применил рефлексотерапию при аденовирусном кератоконъюнктивите, буллезном кератите, атрофии зрительного нерва. А. Masuda с соавт. (1986) применили акупунктуру для анестезии при глазных операциях.

М.В. Зайкова с соавт. (1989) предложили использовать магнито-пунктуру в офтальмологии. Сотрудниками Ижевской клиники применена эта методика в лечении герпетических кератитов, в комплексном лечении макулодистрофии, в лечении ранений глазного яблока (Остапина Р.А. с соавт., 1989).

Указанные авторы отмечают обоснованность и перспективность использования рефлексотерапии в практической офтальмологии. Однако рефлексоте-

рапия в настоящее время в офтальмологии, особенно детской, используется достаточно редко (Портнов Ф.Г. с соавт., 1987).

А.И. Перевозчикова (1989) использовала иглорефлексотерапию в лечении 50 детей (100 глаз) с миопией различной степени. Отмечено исчезновение астенопических явлений, улучшение общего состояния, повышение остроты зрения у 75% пациентов, уменьшение коррекции на 0,5–1,5 дптр, увеличение объема абсолютной аккомодации в среднем на 2,0 дптр. Близорукость не прогрессировала в 53 глазах при осмотрах через 3–6 месяцев.

В.Н. Кушнир с соавт. (1989) применили иглорефлексотерапию у 19 пациентов (38 глаз) с миопией слабой и средней степени. Авторами установлено, что после проведенного лечения произошло снижение оптимальной коррекции на 0,5 и более дптр, острота зрения повысилась на 0,2–0,3, положительная часть относительной аккомодации увеличилась в среднем на 1,0 дптр. Авторы считают, что метод рефлексотерапии может быть рекомендован как обязательный элемент в системе мероприятий по борьбе с прогрессированием миопии у детей.

О.Р. Стасьшин с соавт. (1989) применили акупунктуру у больных со спазмом аккомодации, сопутствующим заболеванием у которых была лекарственная аллергия. Лечение проведено у 127 человек: до 14 лет – 67 человек, от 15 до 18 лет – 60 человек. В результате лечения нормализация аккомодации наступила после первого курса во всех случаях и удерживалась в норме у 24 детей в течение 6 месяцев и у 7 – в течение 3-х месяцев.

Н.Н. Стишковская (1988) указывает, что применение различных методик рефлексотерапии позволяло стабилизировать течение миопии в 70% случаев, существенно повысить зрительные функции у 90% пациентов, у всех стимулировать аппарат аккомодации. Методики применялись при прогрессирующей миопии, ее осложнениях, рефракционной амблиопии при врожденной миопии.

Е.И. Ковалевский, Н.В. Максимова (1986) применили электропунктуру для лечения близорукости. Авторами получено увеличение остроты зрения в среднем на 0,13, снижение оптимальной коррекции на 0,45 дптр, объем отно-

сительной аккомодации увеличился у большинства детей в два раза. Важным выводом является то, что рефлексотерапия снижает повышенное внутриглазное давление у большинства детей на 3–4 мм рт. ст. и не изменяет давление, которое соответствует нижним границам нормы.

Е.И. Ковалевский, Н.В. Максимова (1986) изучали влияние электропунктурной рефлексотерапии на офтальмотонус, аккомодацию, статическую рефракцию при близорукости. Авторы отмечали снижение ВГД в среднем на 2–4 мм рт. ст., увеличение резерва относительной аккомодации в среднем на 1,07 дптр, средняя величина прогрессирования близорукости составила 0,28 дптр в год.

Н.Н. Стишковская, О.Ю. Нюренберг (1988) изучали изменение динамической рефракции. Установлено ослабление динамической рефракции в среднем на 0,7 дптр. Авторами отмечено, что два первых лечебных курса являются основными, приводящими к положительным сдвигам в функциональном состоянии глаз. Все последующие курсы следует проводить 3–4 раза в год в зависимости от состояния аппарата аккомодации и прогрессирования близорукости. Эти курсы оказывают стабилизирующий эффект.

И.В. Валькова, О.Ю. Нюренберг (1989) приводят данные наблюдения за 134 школьниками (248 глаз) с близорукостью слабой степени в течение 5 лет, которые 2–3 раза в году получали лечение методом электропунктуры. Острота зрения без коррекции за период наблюдения повысилась в среднем в 2 раза с $0,27 \pm 0,01$ до $0,42 \pm 0,02$; запас аккомодации увеличился с $2,07 \pm 0,07$ дптр. до $4,11 \pm 0,09$ дптр; степень близорукости снизилась на 0,5 дптр.

М.В. Зайкова с соавт. (1989) в лечении 50 детей с миопией слабой степени и псевдомиопией использовали аппликационную магнитопунктуру. В результате лечения острота зрения повысилась у 28 человек, у 38 человек улучшилась положительная часть относительной аккомодации» По мнению авторов, аппликационную магнитопунктуру можно рассматривать как групповой метод профилактики школьной близорукости.

В доступной литературе мы не встретили работ, в которых была бы дана оценка влияния рефлексотерапии на остроту зрения для близи, резервы и объем абсолютной аккомодации, резервы конвергенции и дивергенции у детей с миопией слабой степени и спазмом аккомодации. Резюмируя данные литературы, можно сделать вывод, что применение различных методик рефлексотерапии при офтальмологических заболеваниях является весьма эффективным и целесообразным.

В настоящее время уже получены положительные результаты при лечении патологии роговицы, склеры, циркуляторных нарушениях гемо- и гидродинамики органа зрения. Однако, несмотря на применение методов рефлексотерапии в клинической офтальмологии отсутствует необходимая экспериментальная база, подтверждающая терапевтическую эффективность данных лечебных мероприятий.

Завершая обзор данных литературы, необходимо кратко отметить следующие основные моменты. Исследование процессов регенерации роговицы и поиск путей оптимизации этих процессов остается актуальной проблемой как патофизиологии, так и практической офтальмологии. Основные морфофункциональные особенности роговицы – оптическая прозрачность в сочетании с низкой васкуляризацией и обеспечение значительной части метаболизма за счет гидродинамики глаза определяют ее регенераторные способности. В то же время, как показал анализ литературы, оптимизация процессов регенерации роговицы с вовлечением местных метаболических и рефлексогенных механизмов, изучена недостаточно, что и определило направление наших дальнейших исследований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОРГАНИЗАЦИИ, МАТЕРИАЛОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная работа была выполнена на базе Всероссийского центра глазной и пластической хирургии Федерального государственного агентства по здравоохранению и социальному развитию.

В качестве объектов для проведения экспериментов были выбраны серые кролики средним весом 2–2,5 кг.

Патофизиологические опыты проведены на 49 кроликах. Поскольку планировалось проведение иммунологических исследований и изучение иммунологического звена патогенеза химического ожога роговицы, выбирались исключительно особи мужского пола, у которых отсутствуют циклические гормональные изменения, характерные для самок.

В эксперимент отбирали животных, внешне здоровых, прошедших в условиях вивария 10–15-дневный карантин. Функциональное состояние животных оценивали путем осмотра глаз, кожно-шерстяных покровов и слизистых, по поведению и двигательной активности. Эксперименты были проведены в соответствии с требованиями приказа № 755 МЗ СССР от 12.08.1977 г., Приложения 3 к «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», а также с требованиями приказа № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 г.

Общие и количественные данные об экспериментальных исследованиях представлены в табл. 1.

**СВОДНЫЕ ДАННЫЕ
ПО ОБЪЕМУ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Виды экспериментов	Кол-во лаб. жи- вотных	Кол-во препа- ратов
1. Химический ожог роговицы – контрольная серия	7	73
– первая опытная серия (перилимбальная инъекция биоматериала)	10	108
– вторая опытная серия (введение биоматериала в рефлексогенные зоны)	10	103
2. Исследование локальных рефлексогенных зон кожи после классической акупунктуры	11	124
3. Исследование локальных рефлексогенных зон кожи после инъекционного введения биоматериала	11	120
Всего...	49	528

2.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИНАМИКИ

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В РОГОВИЦЕ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖОГА НА ФОНЕ ЛОКАЛЬНОГО И АКУПУНКТУРНОГО ВВЕДЕНИЯ ДБА

Данные серии экспериментов проведены с целью сравнительного анализа динамики репаративной регенерации роговицы при её ожоге с последующей терапией в первой опытной серии – локальным субконъюнктивальном введением ДБА, во второй опытной серии – акупунктурным введением ДБА.

Ожог диаметром 6 мм в центре роговицы вызывали 2,5% раствором едкого натра. Экспозиция при нанесении щелочного раствора составила 30 се-

кунд по А.Э. Бабушкину и Г.Г. Хафизову (1996). Животные после нанесения травмы были разделены на 3 группы. В первой группе (n=7) после нанесения ожога каких-либо лечебных мероприятий не проводили, и данные животные служили контролем. В следующей группе (n=10) после нанесения ожога производили субконъюнктивальную инъекцию ДБА «Стимулятор регенерации». Раствор ДБА готовили путем разведения 200 мг биоматериала в 5 мл физиологического раствора NaCl. Каждому животному перилимбально вводили 1 мл полученного раствора. В третьей группе (n=10) животных идентифицировали параорбитальные рефлексогенные зоны, куда производили инъекцию раствора ДБА в количестве 0,5 мл в каждую точку. Животных выводили из опыта на 7, 14, 30-е сутки. Для гистологического исследования забирали роговицу вместе с прилежащей частью склеры, а также кожу и субдермальные ткани в области акупунктурного введения ДБА.

Ткани, полученные из области химического ожога роговицы, а также перилимбального и акупунктурного введения ДБА консервировали в 10% нейтральном формалине. Затем готовили гистологические срезы толщиной 7 мкм. Указанные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори, а также по Ван-Гизону. Полученные препараты изучали под поляризационным микроскопом «МИН-8».

Для изучения динамики реактивных процессов в контроле и на фоне введения ДБА в гистологических препаратах производили подсчет суммарной площади просвета капилляров (СППК) лимбальной области. Лимбальная область, как гистологическое понятие, включает в себя зону перехода роговицы в склеру, при этом ориентирами являются терминальные отделы Боуменовой и Десцеметовой мембран (Вит В.В., 2003). Учитывая, что Боуменова мембрана обнаруживается только в роговицах людей и человекообразных обезьян (Рева Г.В., 1998), в нашей работе ориентиром служил переходный эпителий, определяющийся на стыке переднего эпителия роговицы и эпителия конъюнктивы. Морфометрический анализ производили с использованием программы Biovision 3.0 Professional и аппаратного комплекса, включающего исследова-

тельский микроскоп МС-50, цифровой фотоаппарат Nikon CP 4500 и персональный компьютер:

- при световой микроскопии выявляли область введения биоматериала и контактную зону (тканевое ложе ДБА);
- производили микрофотографирование, данные передавались на ПК для дальнейшей обработки;
- определяли площадь просвета отдельных капилляров на 22,5 тыс. мкм² с помощью специальной функции программы Biovision 3.0;
- полученные значения суммировали и переводили в программу Microsoft Excel для удаления случайных значений;
- данные обрабатывали в программе Statistica 5.5 для построения графиков.

Наши исследования показали, что наиболее адекватным методом для сравнительного изучения поляризационно-оптических свойств роговицы является окраска по Маллори. Представленный метод и полученные с его помощью результаты требуют отдельного описания.

Для данных исследований использованы гистологические срезы роговицы в сагиттальной и горизонтальной плоскостях. При этом блоки ориентировались таким образом, чтобы срез проходил через центральную зону роговицы. Это позволяло получить на одном срезе зону ожоговой травмы роговицы, контактную и реактивную зоны, а также условно интактную область роговицы. Затем срезы окрашивали по методу Маллори в прописи Д.С. Саркисова (1996). Данная методика позволила выявить оптически активные структуры роговицы при микроскопии в условиях полностью скрещенных поляризационных фильтров. В частности, было показано, что в контрольной серии резко снижается, а в отдельных участках и полностью исчезает способность к двойному лучепреломлению. По данным результатам глубина ожогового повреждения роговицы составляет от 30 до 50 мкм. В последующем, по возрастанию показателя двойного лучепреломления оценивали зрелость новообразованного коллагена области травмы. Физическую основу метода составляет способность коллагеновых во-

локон, сохранивших свою структурную организацию, изменять угол поворота плоскополяризованного света. Более раннее появление зрелого коллагена характерно для собственного вещества роговицы, на фоне локального и акупунктурного введения диспергированного аллогенного биоматериала.

Для количественной оценки полученных результатов использовали аппаратный комплекс, включающий в себя поляризационный микроскоп Мин. 8 с цифровой фотонасадкой Nikon Coolpix 4500 при скрещенных фильтрах. Полученные фотоснимки передавали с Flash-карты фотоаппарата в персональный компьютер для дальнейшей обработки. С помощью предварительно откалиброванной на объектив $\times 20$ программы Biovision 3.0 производили измерение площади оптически активных объектов препарата с помощью специальной функции программы – «сегментация», при заданном диапазоне яркости: 170÷250. Затем определяли площадь исследуемой части препарата. Полученные результаты переводили в программу Microsoft Office Excel 2003 для устранения погрешностей. В данной программе производили расчёт отношения суммарной площади оптически активных объектов к общей площади выбранного участка. Затем обработанные данные переводили в программу Statistica 5.5. для построения графиков.

В трех сериях опытов проводили иммуногистохимические исследования на серийных парафиновых срезах толщиной 5 мкм. Использовали непрямой иммунопероксидазный метод с применением моноклональных антител (МКАТ) к трансформирующему фактору роста TGF β -1 и к PCNA – ядерному антигену пролиферирующих клеток (Santa Cruz Biotechnology Inc).

Уровень TGF β -1 является косвенным показателем фиброзирования во всех тканях организма человека (Пальцев М.А., Иванов А.А., 1995; Critchlow M. et al., 1995), в том числе, в глазном яблоке (Connor t. et al., 1989). В связи с чем считаем необходимым оценивать уровень данного цитокина в ткани роговицы в динамике при репаративной регенерации. При этом экспрессия TGF β -1 в собственном веществе роговицы косвенно отражает структуру формируемо-

го регенерата. Так, известно, что высокий уровень трансформирующего фактора роста в ткани приводит к чрезмерному образованию волокнистого компонента соединительной ткани и замедляет рост сосудов, приводя к локальному фиброзу (Roberts A.B., Sporn M.B., 1990).

После окрашивания производили микрофотографирование нужных участков препарата с использованием фотонасадки Nikon Coolpix 4500 на микроскопе MC-50 (Micros, Австрия) при объективе $\times 40$. С помощью предварительно откалиброванной на данный объектив программы Biovision производили измерение площади прокрашенных МКАТ (TGF β -1+) участков препарата и площади части препарата, находящейся в поле зрения. Прокрашенные участки выделяли с помощью функции «сегментация», при заданном диапазоне яркости до 128. Для дальнейшей обработки данных также использовали программы Microsoft Office Excel 2003 и Statistica 5.5. Проведенный анализ позволил вывести относительный показатель содержания TGF β -1 в контактной зоне сетчатого слоя дермы, выражающийся в процентах.

В клетках эпителия роговицы в норме и в эксперименте определяли митотический индекс (количество PCNA-положительных клеток на 100 эпителиоцитов), позволяющий судить о пролиферативной активности клеток (Yew D.T. et al., 2000). Оценка результатов производили с помощью функции «подсчет части» программы Biovision 3.0. Оценивали положительно окрашенные эпителиоциты, в результате также получен относительный показатель содержания PCNA в клетках роговицы, выражающийся в процентах.

2.3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кожа и субдермальная рыхлая волокнистая соединительная ткань области инъекции забирали с помощью трепана диаметром 7 мм. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, и после обезвоживания заливался в парафин.

Срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты исследовали в поляризационном микроскопе МИН-8 с использованием объективов 40х, 60х и окуляра 10х. Микрофотографирование производили на пленку «Фуджиколор» – 400 в аппарате МФН-10 с использованием гомали 3.0. Для морфометрии использовали микрометр окулярный винтовой типа МОВ-15.0.

Закономерности гистофизиологических преобразований в ЛРЗ параорбитальной области и задней срединной линии были едиными. С учетом этого приводится общее описание результатов. Реактивные процессы в двух сериях сравнивали по морфометрическим параметрам. Для этого на гистологических препаратах производили подсчет суммарной площади просвета капилляров аналогичным предыдущей серии опытов способом. При этом использовали участок площадью 22,5 тыс. мкм². Также определяли плотность макрофагальной инфильтрации в основной и контрольной сериях. При этом производили подсчет количества клеток в единице площади микропрепарата (10 тыс. мкм²).

Для изучения динамики резорбции биоматериала использовали метод количественной оценки коэффициента анизотропии (КА) коллагеновых структур. При этом производили поляризационную микроскопию неокрашенных гистологических срезов с использованием микроскопа Мин. 8 с цифровой фотонасадкой Nikon Coolpix 4500 при скрещенных фильтрах. Полученные фотоснимки передавали с Flash-карты фотоаппарата в ПК для дальнейшей обработки. С помощью предварительно откалиброванной на объектив × 20 программы Biovision производили измерение площади зоны препарата, находящейся в поле зрения. Оптически активные объекты регистрировали с помощью специальной функции программы – «сегментация», при заданном диапазоне яркости: 100÷200, затем также определяли их суммарная площадь. Полученные результаты переводили в программу Microsoft Office Excel 2003, где производили расчёт отношения суммарной площади оптически активных объектов к общей площади выбранного участка, а также устраняли погрешности. Затем обработанные данные переводили в программу Statistica 5.5 для построения графиков.

В настоящей работе использовали методику определения TGF β -1. Последний выявляли в клетках и межклеточном веществе соединительной ткани в серии опытов по классической иглорефлексотерапии в контактной зоне дермы. Иммуногистохимические исследования проводили на серийных парафиновых срезах толщиной 5 мкм. При этом использовали МКАТ к TGF β -1 (фирма Santa Cruz Biotechnology Inc., 1999). Более подробно методика описана в разделе 2.2.

2.4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛОКАЛЬНЫХ РЕФЛЕКСОГЕННЫХ ЗОН

Все современные методы определения рефлексогенных зон основаны на регистрации кожного импеданса, значения которого достоверно снижаются в акупунктурных точках (Самосюк И.З., Лысенко В.П., 2004). Локальные рефлексогенные зоны определяли с помощью аппарата «AcuVision-04» (Россия), представляющего собой высоковольтный импульсный генератор с микропроцессорным управлением, предназначенный для визуализации точек с наименьшим электрическим сопротивлением путем их высвечивания в электростатическом поле коронного разряда, а также, для проведения электропунктурной и аэроионной терапии. Аппарат включает блок управления и питания, активный электрод (положительный и отрицательный) и заземляющий электрод (для пациента и оператора). Для визуализации точек с локальным понижением сопротивления необходимо использовать относительно толстый диэлектрик, который значительно увеличивает суммарное сопротивление, складывающееся из сопротивления кожи и диэлектрика. Над точечной зоной низкого электрического сопротивления кожи на диэлектрике возникает «пробой», где наблюдается наиболее высокая интенсивность коронного разряда. В том же месте на диэлектрике формируется феномен люминесценции в виде яркого пятна.

Для измерения локальной (точечной) проводимости применяются и другие контактные методы. При этом измеряемые группы ЛРЗ и величина тока варьирует у различных авторов (Nakatani Y., 1956; Готовский Ю.В., Мхитарян К.Н., 1999; Черныш И.М., 2004). Принципиальная схема используемых методов представлена на рис. 1.

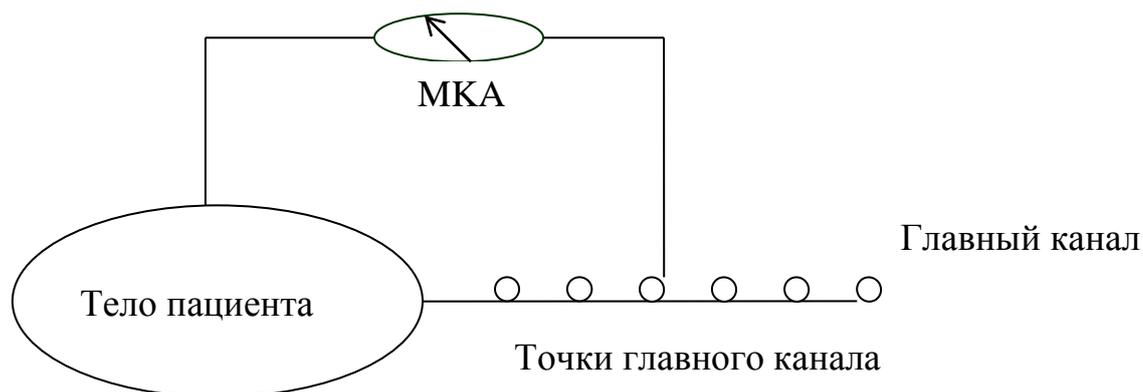


Рис. 1. Принципиальная схема измерения локальной (точечной) проводимости (приводится по Авакян Р.С., 2005)

Таким образом, применение аппарата «AcuVision-04» является одним из методов визуализации точек наименьшего электрического сопротивления. В настоящем исследовании данная методика выбрана в связи с тем, что прибор «AcuVision-04» зарегистрирован в Российской Федерации и внесен в реестр медицинских изделий (Регистрационное удостоверение № 29/23010203/5270-03 от 20 мая 2003 года). Прибор производится научно-производственным предприятием «Гравитон» (Москва) по требованиям технических условий ТУ 9444-050-40062169-2003, сертификат соответствия № РОСС RU.ИМ15.В00577.

Показатели кожного импеданса в локальных рефлексогенных зонах определяли у всех исследованных животных (n=49). В опытной серии (n=11) в локальные рефлексогенные зоны под кетаминным наркозом производили инъекцию аллогенного диспергированного биоматериала «Стимулятор регенерации» (ДБА). Данный биоматериал производится тканевым банком Всерос-

сийского центра глазной и пластической хирургии в соответствии с требованиями ТУ 42-2-537-2006. Навеска в одном флаконе составляет 200 мг. Указанное количество разбавляли 5 мл физиологического раствора. Подкожно вводили 0,5 мл полученной суспензии в каждую ГА. Животных выводили из опыта путем воздушной эмболии на 3, 7, 14 и 30-е сутки эксперимента. В контрольной серии в аналогичных условиях производили иглорефлексотерапию (n=11). Животным визуализировали ГА по задней срединной линии и в параорбитальной области (те же, что и в предыдущей серии опытов) с помощью прибора «AcuVision-04», после чего первому животному производили введение акупунктурной иглы D=0,46 мм с экспозицией 10 минут (среднее раздражение по Д.М. Табеевой, 2004) в одну биоактивную точку. Следующему животному также производили иглоукалывание и повторяли его через 24 часа с введением акупунктурной иглы в ту же точку. У третьего животного иглорефлексотерапию выполняли трижды с интервалом 24 часа и использованием одной и той же ГА и т. д. Последнему – десятому кролику было выполнено соответственно 10 манипуляций с интервалом 24 часа. Независимо от числа иглоукалываний животных выводили из эксперимента на 14-е сутки с момента последней манипуляции. Предварительные исследования, проведенные в отделе морфологии ФГУ «ВЦГПХ Росздрава» (зав. отделом Муслимов С.А.), показали, что именно на 14-е сутки в коже кролика завершается «острая» сосудистая реакция на травму (инъекция, иглоукалывание и т. п.). При этом в данный срок представляется возможным адекватно оценить состояние микроциркуляторного русла.

2.5. МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ

В нашей работе исследовались количественные показатели: суммарная площадь просвета капилляров, относительные показатели содержания цитокинов и маркеров, коэффициент анизотропии.

В исследуемых нами показателях среднее значение и среднее квадратическое отклонение заранее не были известны, а их расчет с помощью пакета программ Microsoft Office является трудоемким. Исходя из этого анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения производили методами Лиллиефорса и Шапиро-Уилка в программе Statistica 5.5. Уровень статистической значимости для рассматриваемых количественных показателей, рассчитанный приведенными методами, всегда был больше 0,05, а в некоторых случаях больше 0,1, следовательно, распределение исследуемых признаков приближено к нормальному. Для описания выборочного нормального распределения исследуемых признаков использовали следующие параметры программы Statistica 5.5 → модуля «основные статистики и таблицы» → промодуля «описательные статистики»: число наблюдений (всегда ≥ 100); среднее значение признака; стандартная ошибка (m); доверительный интервал (ДИ).

Соответственно на полученных графиках отражались только три последних параметра ($M \pm \text{ДИ}$, $\pm m$). Для сравнения полученных результатов в различных сериях опытов использовали параметрический метод (t-критерий Стьюдента для независимых групп). Учитывая, что средние значения признаков и средние квадратические отклонения были заранее известны, проверку нулевой статистической гипотезы выполняли процедурой «различия между двумя средними (нормальное распределение)» ← промодуль «другие критерии значимости» ← модуль «основные статистики и таблицы» ← Statistica 5.5. В случае если $p > 0,05$ различия признавали статистически незначимыми, принималась нулевая гипотеза об отсутствии различий. Альтернативная гипотеза принималась при $p < 0,05$, такие различия считались статистически значимыми.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ РОГОВИЦЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХИМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ

3.1.1. Морфофункциональные процессы в роговице на фоне химического ожога

При изучении гистологических препаратов роговицы наблюдается фазовость реактивных процессов, а также выраженные микро топографические границы в зоне ожоговой травмы и прилежащих областях.

При моделировании химического ожога роговицы происходит деструкция эпителия, базальной мембраны в области воздействия щелочного агента, а также поверхностных слоев собственного вещества роговицы. Это четко выявляется при сравнении микропрепаратов нормальной роговицы с микропрепаратами роговицы, полученными через час после химического ожога (рис. 3, 4).

Независимо от серии эксперимента, нами были выделены гистотопографические зоны в области травмы. Некроз клеток происходит не только в области воздействия химического агента глубиной 50 мкм, но также в прилежащей зоне шириной около 200 мкм. В этой зоне наблюдается снижение коэффициента анизотропии роговичных пластин уже в первый час после воздействия химического агента (рис. 5). Данную область мы определяем как краевую зону повреждения с выраженным отеком и явлениями деструкции. Далее выделяется пролиферативная зона, которую можно определить как зону реактивных изменений, ширина которой составляет в среднем 500 мкм. Кератобласты данной зоны активно участвуют в процессах репаративной регенерации. Кроме кератобластов в процессах регенерации участвуют также клетки лимба, обладающие высокими про-

лиферативными свойствами, а также клетки гематогенного происхождения (например, моноциты, трансформирующиеся в макрофаги, клетки воспалительного инфильтрата). По периферии от области пролиферации расположены структуры без видимых морфологических изменений. Несомненно, что компенсаторные и патоморфологические изменения охватывают и данную область. Однако, учитывая, что реактивные изменения описываемой зоны не выявляются при светооптическом исследовании, мы определяем данную область как условно интактную.

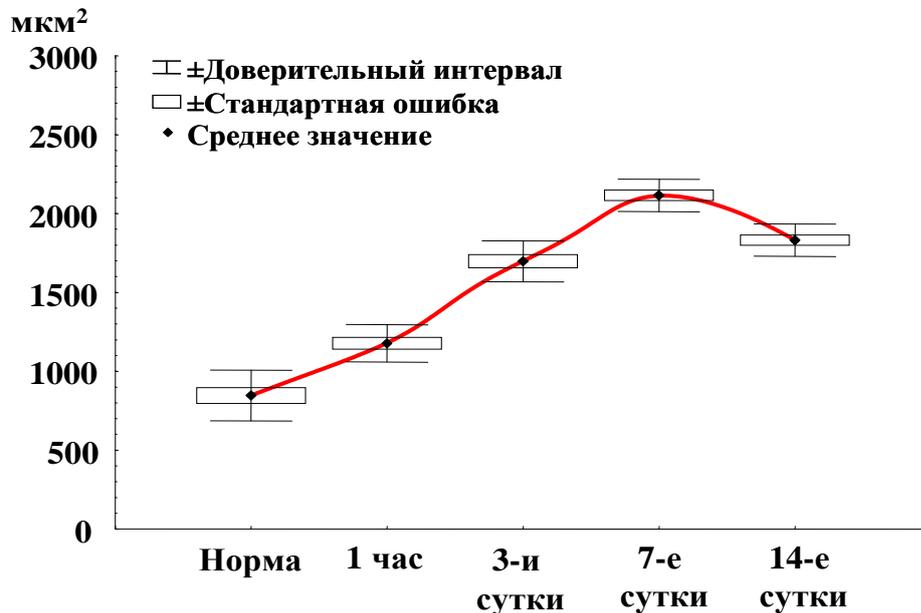


Рис. 2. Динамика изменения суммарной площади просвета капилляров в лимбальной области на фоне экспериментального ожога роговицы.

Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: СППК, мкм²

Во всех сериях опытов четко выделяются три фазы морфологических изменений в области химического ожога. В первую фазу превалируют явления воспаления. Продолжительность данной фазы в среднем составляет до трех суток. Затем начинаются пролиферативные процессы со стороны прилежащих тканей. В частности в контрольной серии наблюдаются сосудистые и клеточные изменения в перилимбальной области. Через час после ожога наблюдается увеличение суммарного просвета капилляров в области лимба до $1177 \pm 118,98$

мкм² (в норме $846 \pm 161,08$ мкм²). Затем вплоть до 7-х суток визуализируется подъем выбранного показателя до $2115 \pm 102,88$ мкм². В более поздние сроки происходит уменьшение СППК, однако данный показатель по-прежнему выше нормы – $1831 \pm 102,25$ мкм² (рис. 2). Фаза пролиферации, по нашим данным, продолжается в среднем от 7 до 20 суток. В третьей фазе происходят процессы перестройки сформировавшегося регенерата. Фаза перестройки существенно зависит от серии опыта и ее сроки широко варьируют.

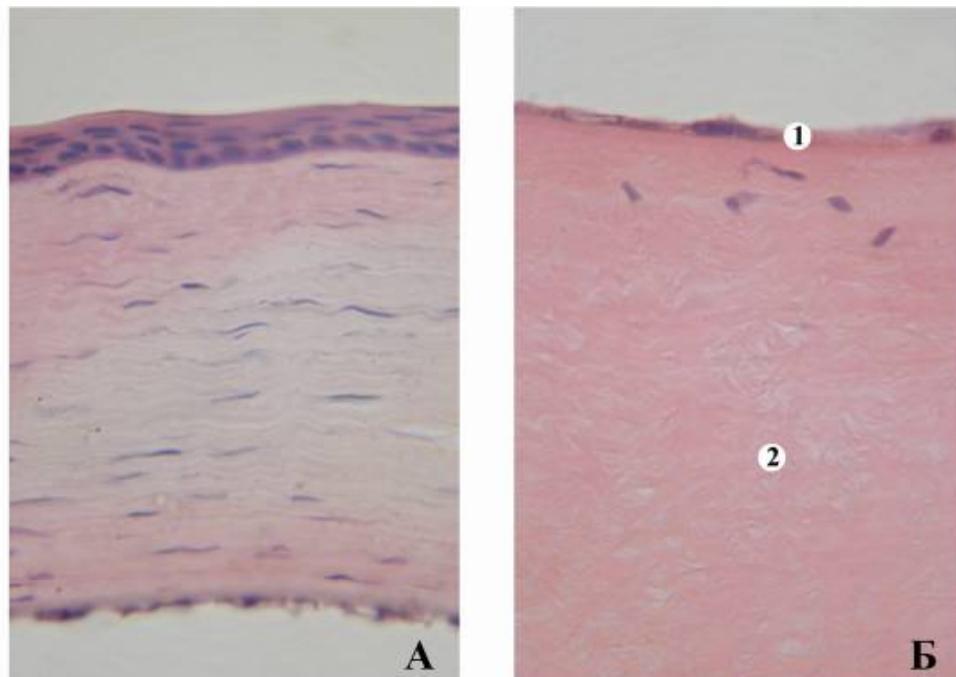


Рис. 3. Гистотопографический срез роговицы кролика. А – в норме;
 Б – в динамике через 1 час после химического ожога роговицы:
 деструкция эпителия (1), выраженный отек собственного вещества роговицы (2).
 Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40, ок. 20

В контрольной серии опытов в первый час после ожога происходит снижение КА до $26,9 \pm 3,85\%$. При этом, в норме выбранный показатель составляет $86,5 \pm 5,43\%$ (рис. 5). На 3-и сутки в области лимба определяется полиморфная клеточная инфильтрация высокой плотности. При этом роговица покрывается одно-, двухслойным эпителием с сохранившимися участками десквамации

(рис. 8). В данный срок определяется пик снижения КА волокон в собственном веществе роговицы: $16,7 \pm 1,99\%$ (рис. 5).

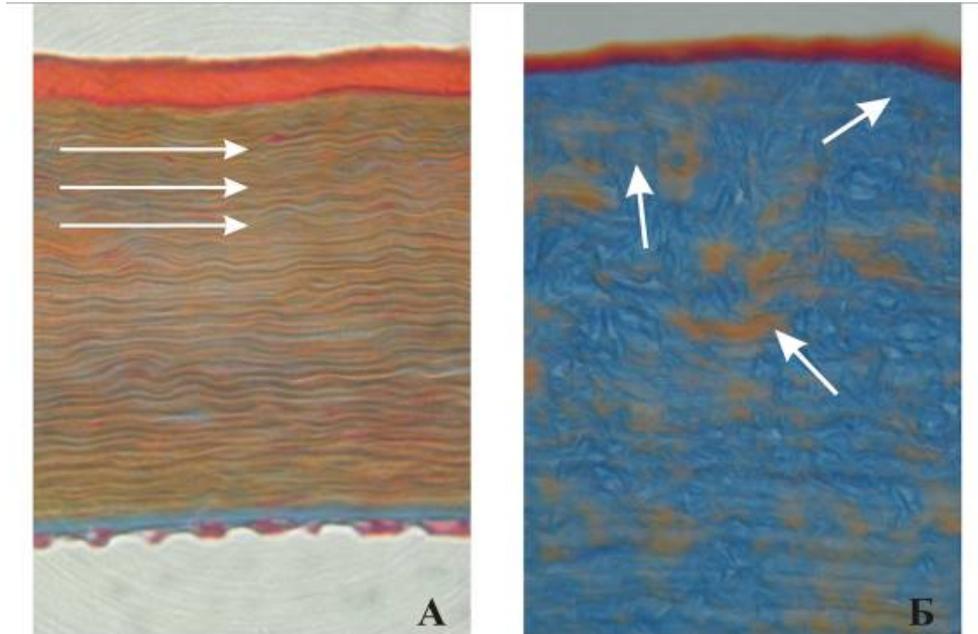


Рис. 4. Гистотопографический срез роговицы кролика. А – в норме: однонаправленная ориентация волокон в собственном веществе роговицы (стрелки); Б – в динамике через 1 час после химического ожога роговицы: дезорганизация роговичных пластин, поливекторная ориентация коллагеновых волокон (стрелки).

Окраска по Маллори. Об. 40, ок. 20

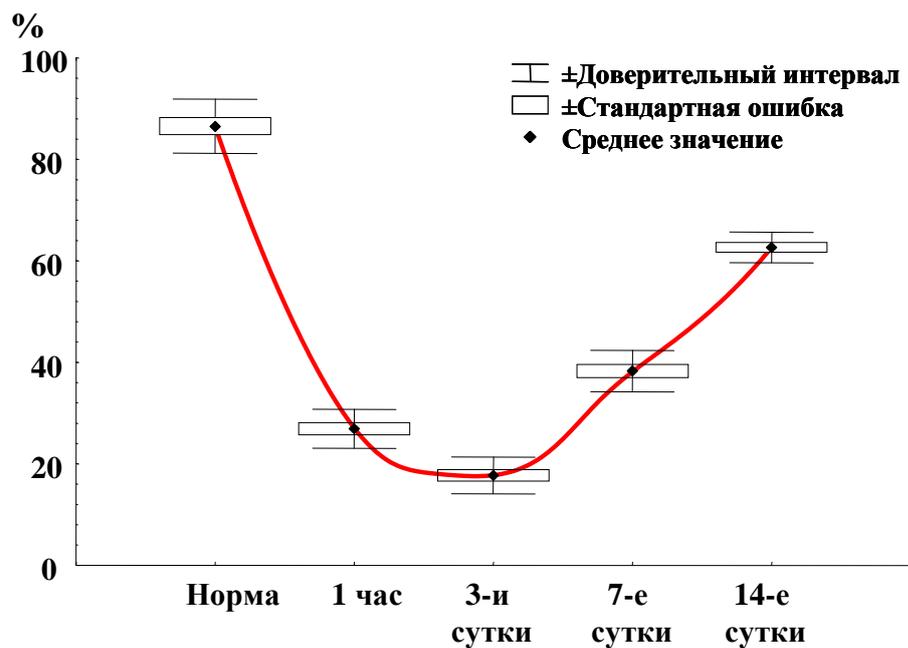


Рис. 5. Динамика изменения коэффициента анизотропии роговичных пластин в норме и при экспериментальном ожоге роговицы. Ось абсцисс: сроки эксперимента.

Ось ординат: коэффициент анизотропии, %

При макрофотографировании на 7-е сутки в области ожога роговицы обнаруживается помутнение округлой формы $D = 4 \pm 0,26$ мм (рис. 9). Микроскопическое исследование показывает, что эпителий полностью не восстанавливается. На значительном протяжении встречаются участки с тонким эпителиальным покровом в один слой клеток. Толщина эпителия колеблется от 11 до 14 мкм. В собственном веществе роговицы определяется выраженный отек и фрагментация роговичных пластин (рис. 10). Причем, собственное вещество роговицы отечно не только в зоне ожога, но и в контактной зоне. Фрагментированные пучки волокон имеют толщину от 3 до 12 мкм. Данный факт, по-видимому, связан с высокой гидратацией протеогликанов роговицы (рис. 11А). В свою очередь, процессы гидратации связаны с проницаемостью Десцеметовой мембраны. По-видимому, ожоговая травма, увеличивая проницаемость Десцеметовой мембраны, создает условия для высокой гидратации протеогликанов собственного вещества роговицы. В последующем (14–30-е сутки) происходит постепенное восстановление структуры роговицы (рис. 12, 13). Возрастает коэффициент анизотропии коллагеновых волокон роговицы, формирующихся в области ожога, что свидетельствует о синтетической активности кератобластов. Так, на 14-е сутки КА составляет $62,6 \pm 3,02\%$ (рис. 5).

Следует отметить, что макромикроскопическая картина в целом соответствует результатам морфологических и иммуногистохимических исследований. Так, уже в ранние сроки (3–7 сутки) при биомикроскопическом исследовании под микроскопом МБС-2 в центральной зоне роговицы, соответствующей ожоговой травме, определяется хорошо выраженное помутнение. Данное бельмо во всех случаях эксперимента сохранялось на 14-е сутки. Затем происходит его поэтапное просветление. В некоторых случаях локальные зоны помутнения выявлялись и на 30-е сутки.

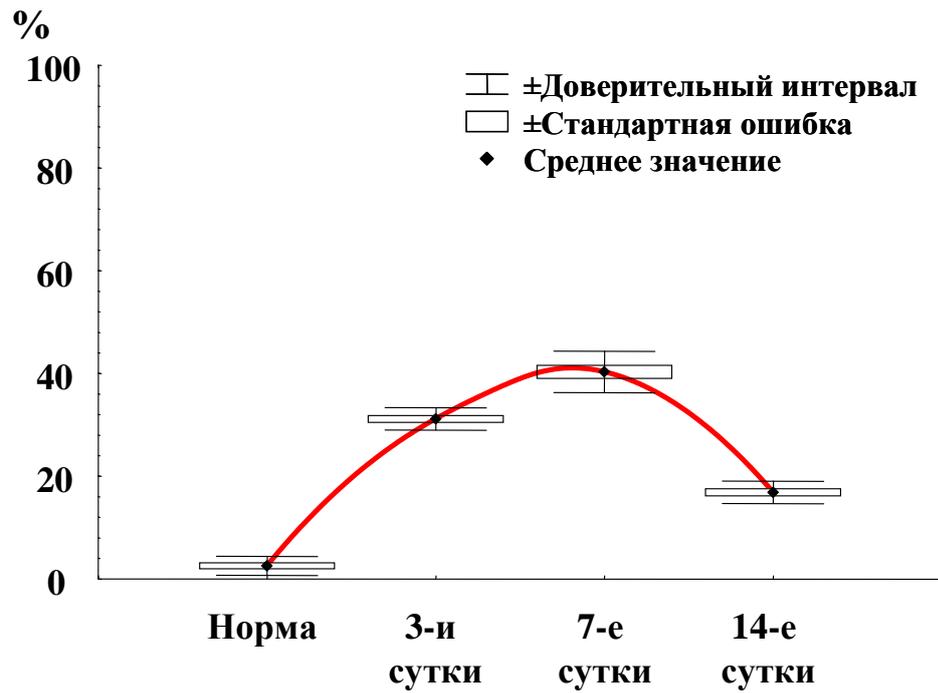


Рис. 6. Динамика изменения относительного показателя содержания TGFβ-1 в собственном веществе роговицы кролика в норме и после экспериментального ожога. Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: показатель, %

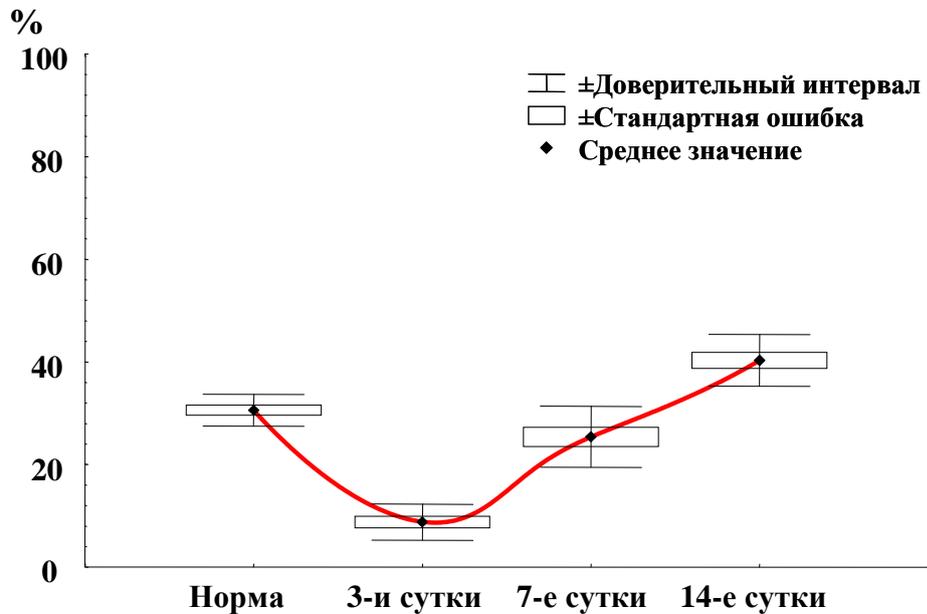


Рис. 7. Динамика изменения митотического индекса эпителиоцитов роговицы кролика в норме и после химического ожога в эксперименте. Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: показатель, %

Исследования по выявлению TGF β -1 в собственном веществе роговицы показали, что содержание данного цитокина в эксперименте по ожогу роговицы имеет характерную динамику. Так, в норме TGF β -1 выявляется в цитоплазме фибробластов и, в меньшей степени, в основном веществе роговицы. Относительный показатель, отражающий содержание TGF β -1 в роговице в норме, составляет $2,6 \pm 1,86\%$. На 3-и сутки после химического ожога роговицы трансформирующий фактор роста – β 1 определяется в собственном веществе роговицы и в цитоплазме макрофагов и фибробластов различной степени дифференцировки, содержащихся в клеточном инфильтрате. При этом относительный показатель содержания цитокина составляет $31,2 \pm 2,17\%$. Пик возрастания выбранного показателя приходится на 7-е сутки ($40,3 \pm 4,06\%$). В дальнейшем наблюдается постепенное снижение содержания TGF β -1 в собственном веществе роговицы (рис. 11Б, 6).

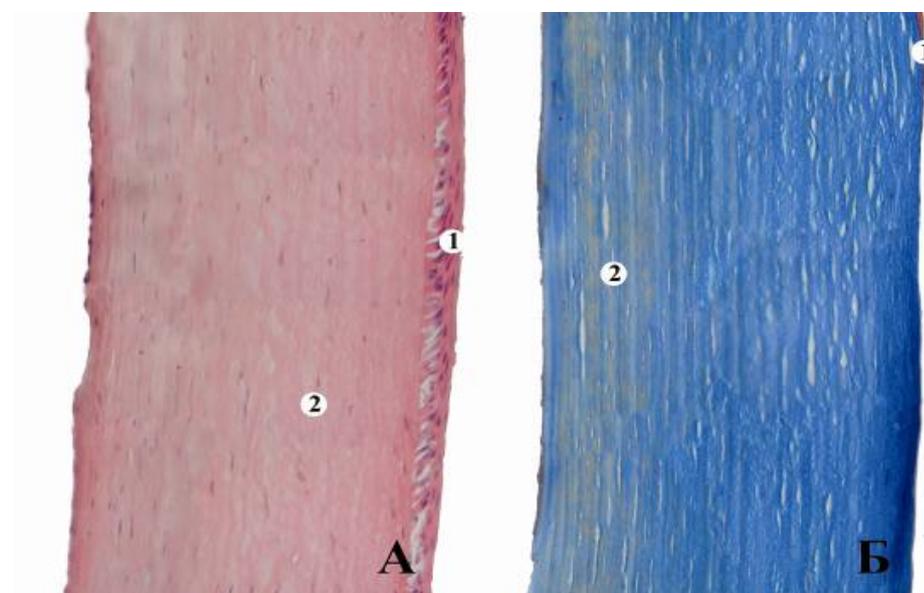


Рис. 8. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога – реконструкция. Контрольная серия. В динамике на 3-и сутки эксперимента. А – зона частичной деструкции эпителия (1); отек и фрагментация роговичных пластин (2). Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 20. Б – эпителий отсутствует на большом протяжении (1); отек роговичных пластин охватывает

все слои собственного вещества. Окраска по Маллори. Об. 10, ок. 20

В нашем исследовании также определялся ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA). В норме в роговице данный антиген определяется в ядрах базального слоя эпителия, а в эксперименте моноклональными антителами к данному антигену прокрашиваются ядра клеток всего эпителиального пласта. Данное прокрашивание в разных сериях опытов имеет свои закономерности. Мы рассчитывали число прокрашенных эпителиоцитов из ста произвольно выбранных и получили средний показатель содержания PCNA в ядрах эпителиоцитов роговицы в норме: $30,6 \pm 3,09\%$. В контрольной серии на фоне ожога большинство эпителиоцитов в зоне альтерации находятся в состоянии некробиоза. Так, на 3-и сутки происходит резкий спад содержания PCNA в ядрах эпителиоцитов – положительно на данный антиген прокрашиваются лишь ядра $8,8 \pm 3,5$ клеток из ста. В более поздние сроки (на 7-е и 14-е сутки) выбранный показатель возрастает до $25,4 \pm 5,3$ и $40,3 \pm 5,09\%$ соответственно (рис. 7).



Рис. 9. Глаз кролика после экспериментального ожога. Макрофотография.

Контрольная серия. 7-е сутки эксперимента. Помутнение роговицы

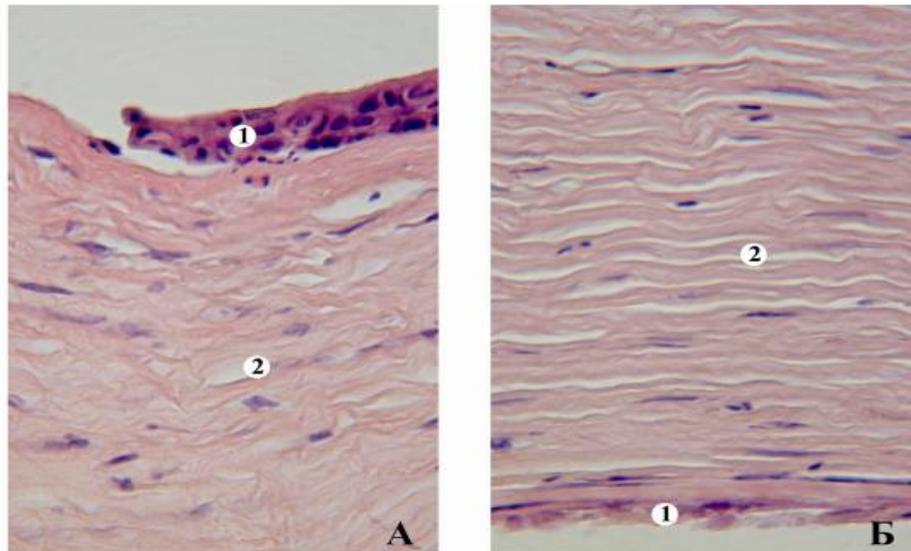


Рис. 10. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Контрольная серия. В динамике на 7-е сутки эксперимента. А – поверхностные слои роговицы: десквамация эпителия (1), дезорганизация роговичных пластин (2);

Б – глубокие слои роговицы: десквамация заднего эпителия роговицы (1), отек собственного вещества (2), выраженный отек собственного вещества роговицы (2).

Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40, ок. 20

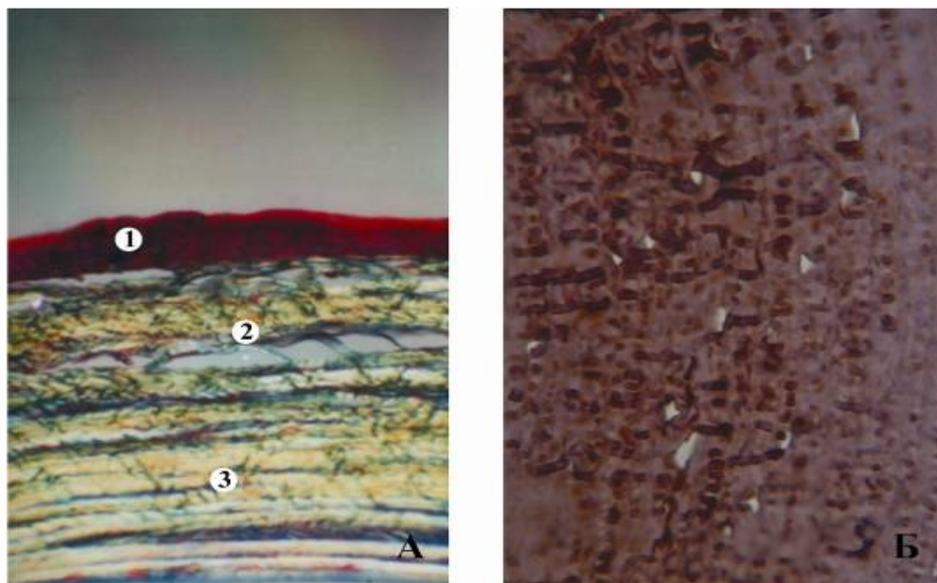


Рис. 11. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Контрольная серия. В динамике на 7-е сутки эксперимента. А – эпителий (1), отек и фрагментация роговичных пластин (2), патологические изменения в средних слоях собственного вещества роговицы (3). Окраска по Маллори. Поляризационная микроскопия. Об. 20. Гом. 3. Б – выраженная экспрессия TGFβ-1

в собственном веществе роговицы. Об. 40, ок. 20

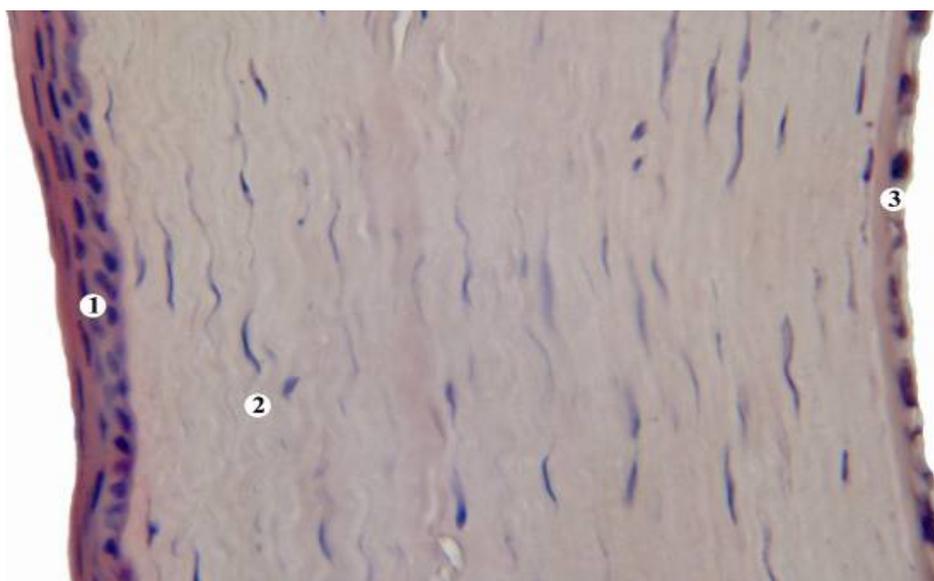


Рис. 12. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Контрольная серия. В динамике на 14-е сутки эксперимента. Восстановление эпителия роговицы (1); одноосная ориентация роговичных пластин (2); эндотелий (3). Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40, ок. 20

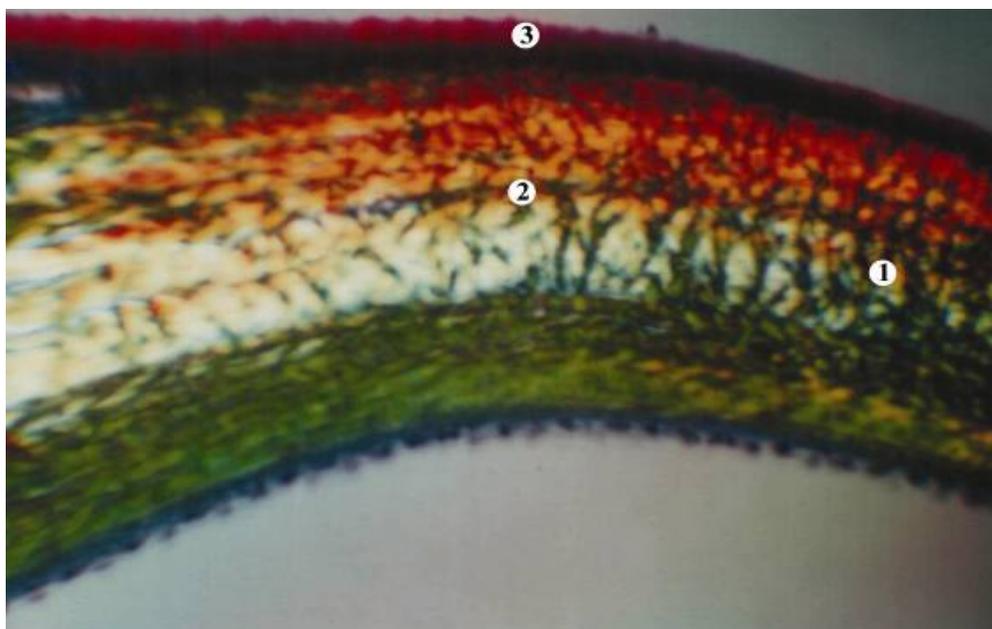


Рис. 13. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Контрольная серия. Переходная зона роговицы в склеру. В динамике на 30-е сутки эксперимента. Высокая оптическая активность собственного вещества роговицы (1), волокнистый остов склеры (2), переходная зона эпителия.

Окраска по Маллори. Поляризационная микроскопия. Об. 20. Гом. 3.

Таким образом, химический ожог роговицы вызывает некротические и некробиотические изменения в эпителии и поверхностных слоях собственного вещества роговицы. Данные изменения наблюдаются в первые часы после воздействия химического агента. Так, в эти сроки обнаруживается десквамация эпителия и выраженный отек поверхностных и средних слоев роговицы. Дальнейшие изменения, по-видимому, обусловлены как последствиями самого ожога, так и местными воспалительными явлениями – вторичной альтерацией.

Последняя является одним из механизмов ограничения нежизнеспособных тканей. Эпителий слущивается и может не определяться на гистологических срезах на 3-и сутки эксперимента в зоне ожога роговицы. Данный факт подтверждается при исследовании пролиферативной активности эпителиоцитов методом определения PCNA. Так, на 3-и сутки происходит уменьшение количества PCNA+ клеток в 3,48 раза ($p < 0,01$) в сравнении с нормальным эпителием роговицы.

В контактной зоне также выявляются изменения собственного вещества роговицы. Наиболее показательным в этом отношении служит оптический анализ роговичных пластин. В первые часы коэффициент анизотропии коллагеновых волокон в собственном веществе роговицы снижается в 3,21 раза ($p < 0,01$). При этом основные оптические изменения затрагивают поверхностные слои роговицы. В дальнейшем также происходит снижение выбранного показателя с пиком на 3-и сутки, когда КА составляет лишь 1/5 часть от нормы. В данный срок изменения оптической активности выявляются во всех слоях роговицы. Начиная с 7-х суток, наблюдается увеличение оптической активности роговицы. Однако на 14-е сутки не происходит полного восстановления оптических свойств ткани роговицы. Так, коэффициент анизотропии в выбранный срок составляет 72% от нормы ($p > 0,05$). Нарушение поляризационно-оптических свойств роговицы макроскопически проявляется в её помутнении. Данный факт подтверждается при макро-микроскопии роговицы.

Особого внимания заслуживают изменения со стороны микроциркуляторного русла лимбальной области. Доказано, что структуры данной зоны

принимают непосредственное участие в процессах физиологической и репаративной регенерации. В настоящее время перилимбальная область рассматривается, как источник стволовых клеток роговицы. Краевая петлистая сеть является одним из основных источников питания тканей роговицы. СППК в области лимба частично отражает состояние именно этой сосудистой сети. Так, уже через час наблюдается увеличение просвета капилляров в 1,4 раза ($p < 0,05$), по-видимому, за счет воспалительной дилатации сосудов. Выбранный показатель нарастает до срока семь суток и составляет 250% от нормы ($p < 0,05$). На 14-е сутки сохраняются высокие уровни СППК – 216% от нормы ($p < 0,05$). Увеличение суммарного просвета капилляров обусловлено не только воспалительной дилатацией сосудов краевой петливой сети, но и включением в кровоток покоившихся в норме сосудистых терминалей.

Изменения в собственном веществе роговицы также отражаются в изменении титра TGF β -1. На фоне химического ожога наблюдается увеличение содержания данного цитокина в собственном веществе роговицы. Возможно, это происходит за счёт миграции в область травмы блуждающих макрофагов и активации оседлых макрофагов, а также клеток фибробластического дифферона. Указанные популяции клеток являются продуцентами TGF β -1. На 7-е сутки наблюдается пик возрастания титра трансформирующего фактора роста. Так, относительный показатель, отражающий содержание TGF β -1, более чем в 15 раз превышает нормальные значения ($p < 0,001$). В более поздние сроки (на 14-е сутки) происходит снижение титра TGF β -1, что, по-видимому, объясняется спадом острой воспалительной реакции на ожог. Однако относительный показатель, используемый нами для демонстрации содержания TGF β -1 в тканях, по-прежнему превышает показатели нормы в 6,55 раза ($p < 0,01$).

3.1.2. Репаративная регенерация роговицы после экспериментального ожога на фоне перилимбального введения ДБА

В серии опытов с перилимбальным введением ДБА стадия воспаления менее выражена. На 3-и сутки в препаратах не обнаруживается выраженной гидратации собственного вещества роговицы, характерной для контрольной серии (рис. 18). Репаративные процессы развиваются в более ранние сроки и, как правило, минуя стадию выраженного помутнения роговицы. По-видимому, ускорение процессов репаративной регенерации в данной серии опытов связано с двумя группами факторов. Перилимбальное введение ДБА активирует процессы макрофагальной инфильтрации и, тем самым, способствует резорбции тканевого детрита (рис. 20). В области лимба наблюдается сосудисто-клеточная реакция на введение биоматериала. На 3-и сутки происходит увеличение суммарной площади просвета капилляров до $1764 \pm 113,55$ мкм² (рис. 15).

На 7-е сутки наблюдается нормализация переднего эпителия роговицы. Последний представлен 3–4 слоями клеток, при этом верхние один-два слоя уплощены. В собственном веществе роговицы происходит восстановление однонаправленной ориентации коллагеновых волокон (рис. 22А). Между пучками волокон обнаруживаются зрелые фибробласты (рис. 21). Данные макро-микроскопии также свидетельствуют о раннем восстановлении структуры роговицы. На макрофотографиях глаз в области ожога определяется слабое помутнение $D = 2,2 \pm 0,26$ мм. При этом помутнение, как правило, располагается не строго по центру роговицы, а смещается контрлатерально от области перилимбального введения ДБА (рис. 19). СППК в области лимба увеличивается до $2260,4 \pm 104,49$ мкм² на 7-е сутки, что свидетельствует о мобилизации структур лимба и об их активном участии в репаративной регенерации роговицы (рис. 14).

В более поздние сроки (14-е сутки) при поляризационной микроскопии наблюдается высокая оптическая активность роговичных пластин, которая равномерно сохраняется на всем протяжении роговицы (рис. 23).

Оптический анализ собственного вещества роговицы показал, что на 3-и сутки коэффициент анизотропии возрастает преимущественно в глубоких и средних слоях собственного вещества роговицы и достигает $46,5 \pm 3,78\%$. На 7-е сутки,

как и в контрольной серии, происходит неполное восстановление оптических свойств роговицы. Так, в данный срок КА составляет $81,41 \pm 2,85\%$ (рис. 15).

TGF β -1 определялся в цитоплазме клеток собственного вещества роговицы и в межуточном веществе. При этом содержание указанного цитокина в клетках моноцитарно-макрофагальной системы было значительно выше, чем в клетках фибробластического дифферона. Относительный показатель содержания TGF β -1 в собственном веществе роговицы на 3-и сутки составляет $16,1 \pm 2,13\%$. В дальнейшем происходит снижение уровня TGF β -1 в собственном веществе роговицы практически до нормальных значений. Так, на 7-е сутки изучаемый нами показатель составляет $2,3 \pm 1,32\%$ (рис. 16, 22Б).

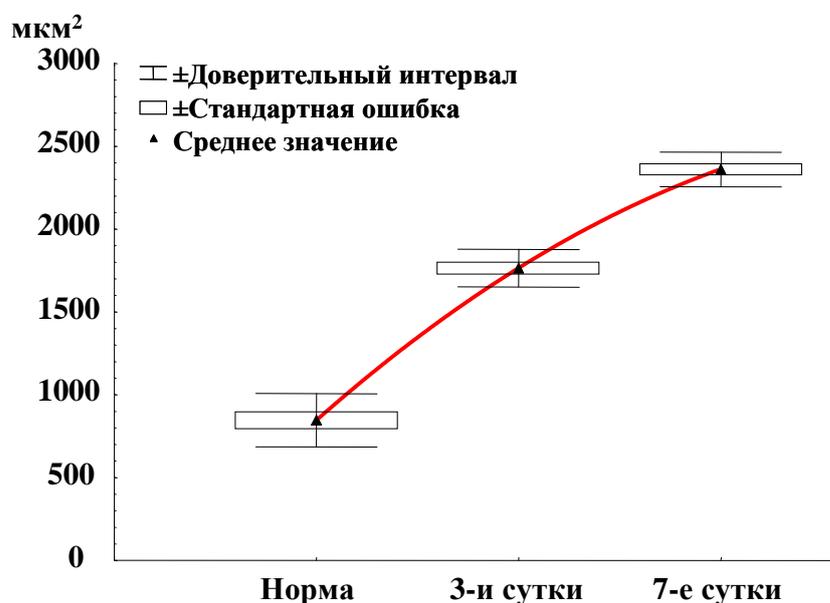


Рис. 14. Динамика изменения суммарной площади просвета капилляров в области лимба после экспериментального ожога роговицы при перилимбальном введении ДБА. Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: СППК, мкм²

Нормализация переднего эпителия роговицы в данной серии опытов происходит на 7–14-е сутки. При этом содержание PCNA в ядрах эпителиоцитов имеет характерную динамику. На 3-и сутки происходит снижение уровня PCNA ввиду отсутствия клеток переднего эпителия на данном этапе репаративных процессов. Эпителиоциты, подверженные некротическим изменениям, слущиваются. На ядрах клеток, находящихся в состоянии десквамации, обна-

руживается низкий уровень PCNA. Показатель, отражающий содержание PCNA в эпителиоцитах, составляет $16,8 \pm 4,42\%$ (в норме $30,6 \pm 3,1\%$). На 7-е сутки происходит восстановление уровня PCNA, который определяется в ядрах клеток базального слоя переднего эпителия. Относительный показатель содержания данного антигена в указанный срок составляет $36,4 \pm 4,27\%$ (рис. 17).

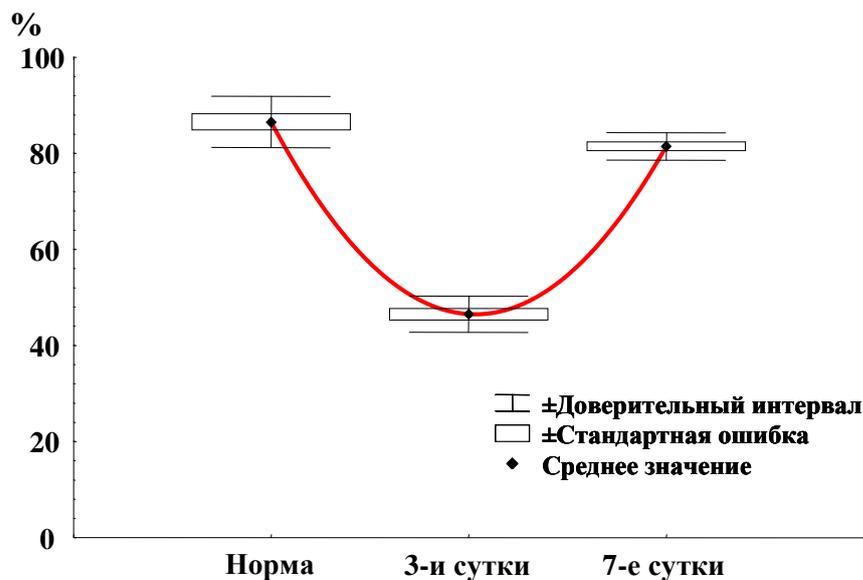


Рис. 15. Динамика изменения коэффициента анизотропии роговичных пластин в норме и после экспериментального ожога роговицы на фоне перилимбального введения ДБА. Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: коэффициент анизотропии, %

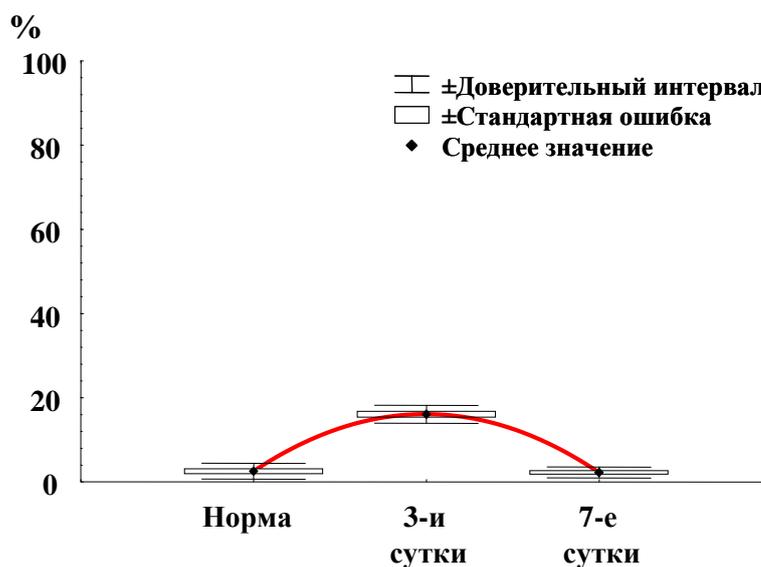


Рис. 16. Динамика изменения относительного показателя содержания TGF β -1 в собственном веществе роговицы кролика в норме и после экспериментального ожога на фоне перилимбального введения ДБА. Ось абсцисс: сроки эксперимента.

Ось ординат: показатель, %

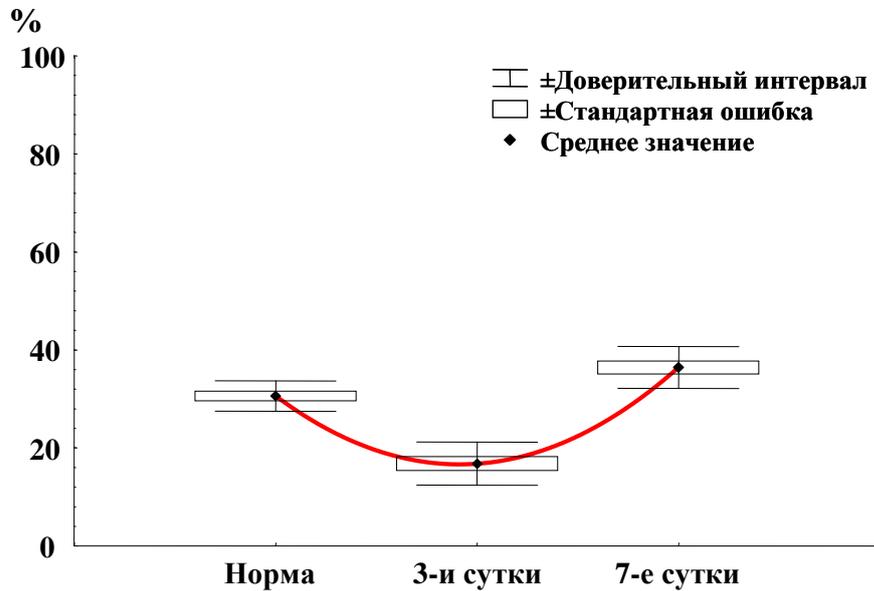


Рис. 17. Динамика изменения митотического индекса в ядрах клеток переднего эпителия роговицы кролика в норме и после химического ожога на фоне перилимбального введения ДБА. Ось абсцисс: сроки эксперимента.

Ось ординат: показатель, %

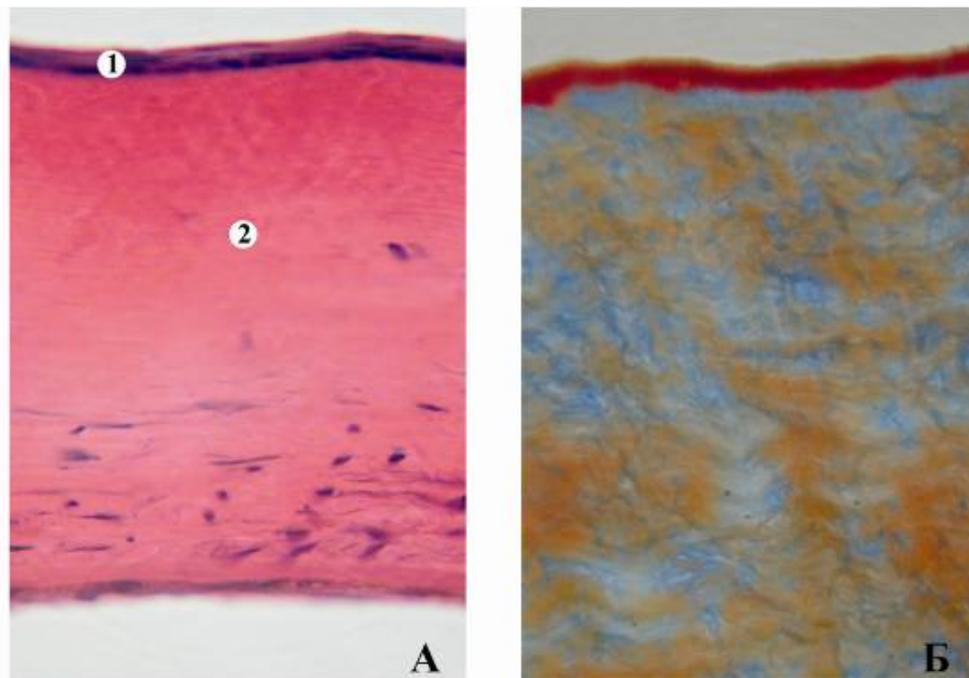


Рис. 18. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Перилимбальное введение ДБА. В динамике на 3-и сутки эксперимента. А – восстановленный эпителий имеет 1–2 слоя (1), собственное вещество роговицы лишено клеток в поверхностных слоях (2). Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40, ок. 20. Б – дезорганизация роговичных пластин. Окраска по Маллори. Об. 40, ок. 20

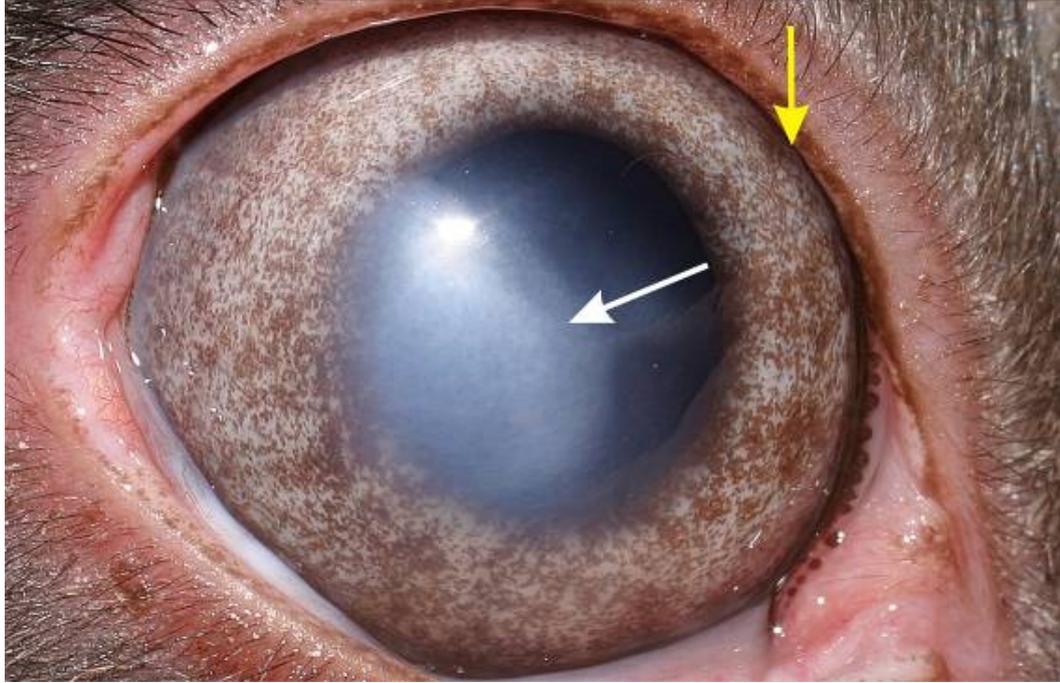


Рис. 19. Глаз кролика после экспериментального ожога. Макрофотография. Перилимбальное введение ДБА. В динамике на 7-е сутки, стрелка) от области перилимбального введения ДБА (желтая стрелка)

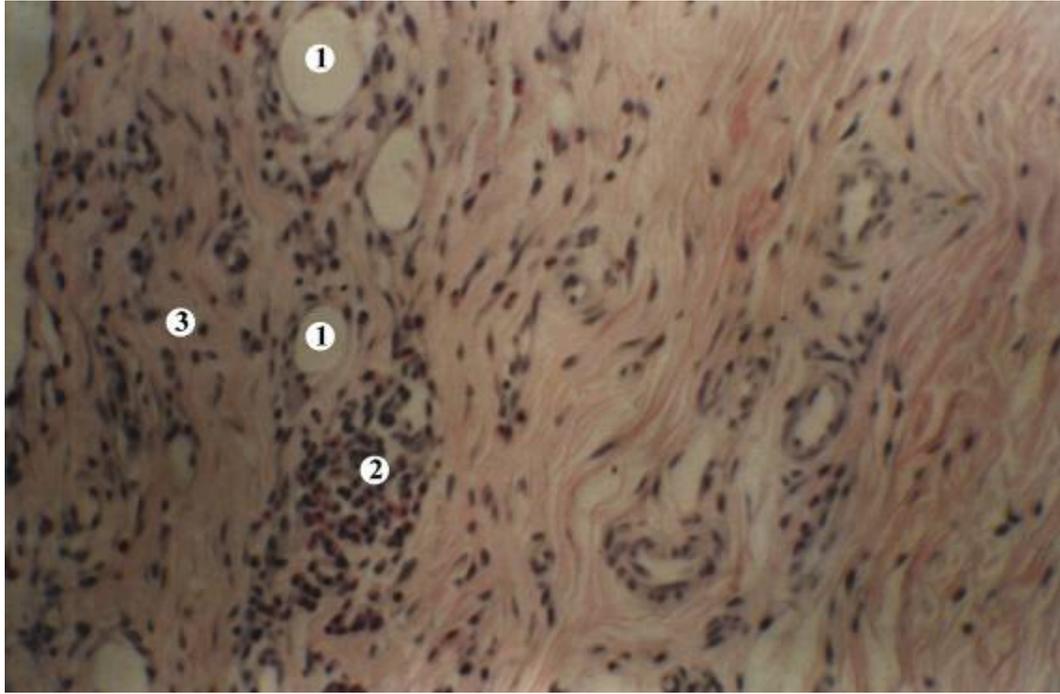


Рис. 20. Перилимбальное введение ДБА. В динамике на 7-е сутки эксперимента.

Новообразованные сосуды (1); полиморфноклеточная инфильтрация (2),

миграция макрофагов в область введения ДБА (3).

Окраска гематоксилином и эозином. Об. 20. Гом. 3

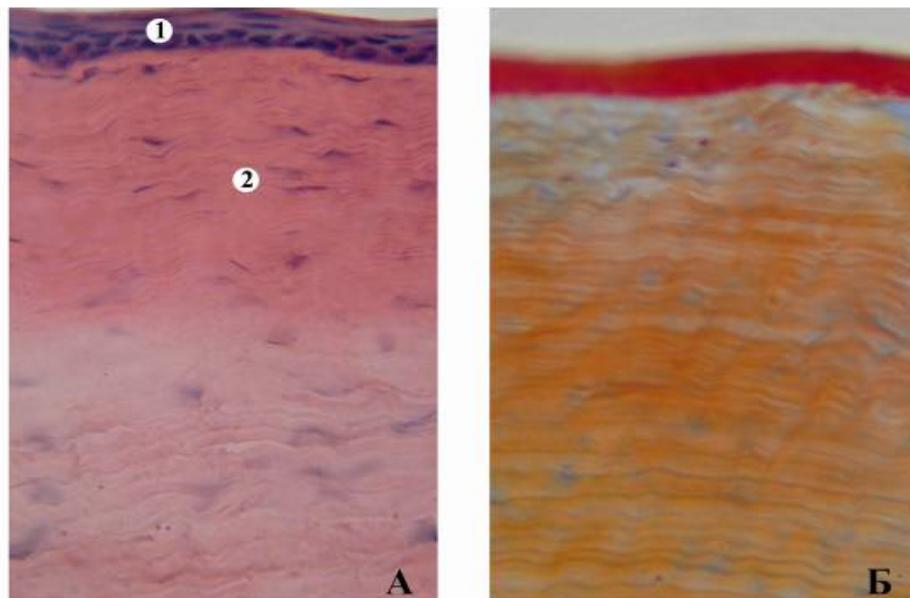


Рис. 21. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального

ожога. Перилимбальное введение ДБА. В динамике на 7-е сутки эксперимента.

А – нормальный эпителий (1), однонаправленная ориентация коллагеновых волокон,

фибробласты (2), Б – восстановление оптических свойств собственного вещества.

Окраска гематоксилином и эозином. Окраска по Маллори. Об. 40, ок. 20

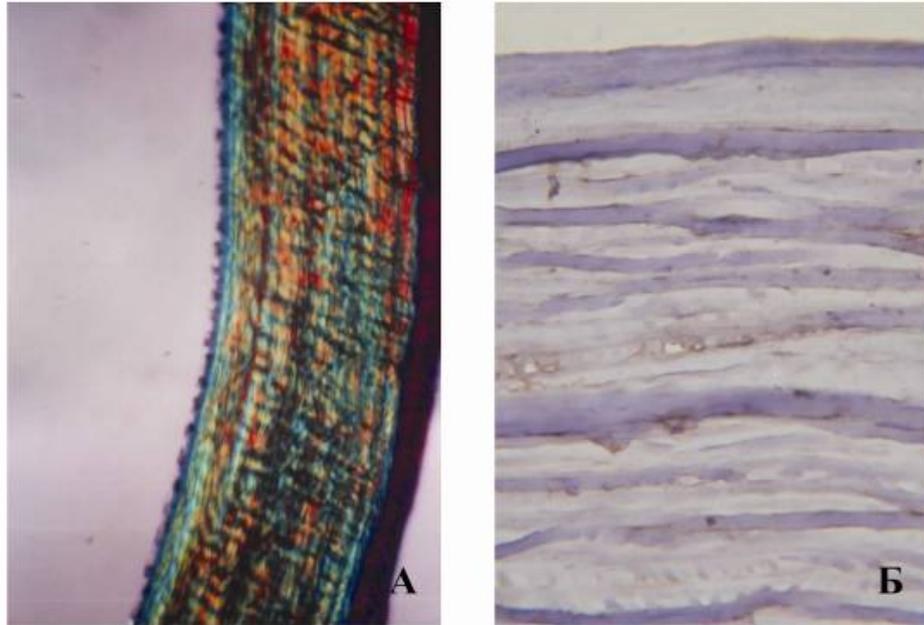


Рис. 22. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Перилимбальное введение ДБА. Контактная зона. В динамике на 7-е сутки эксперимента. А – Высокая оптическая активность роговичных пластин.

Окраска по Маллори. Поляризационная микроскопия. Об. 20. Гом. 3.

Б – низкий уровень экспрессии TGFβ-1, Об. 40, ок. 20

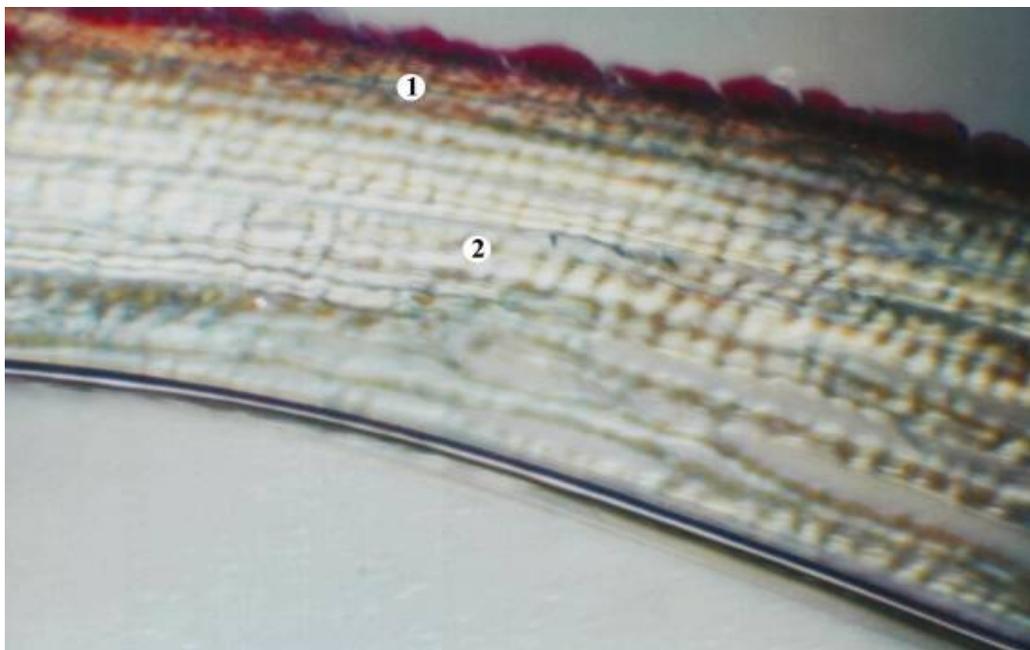


Рис. 23. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Перилимбальное введение ДБА. Контактная зона. В динамике на 14-е сутки эксперимента. Высокая оптическая активность роговичных пластин как в глубоких (2), так и в поверхностных слоях (1) собственного вещества роговицы.

Окраска по Маллори. Поляризационная микроскопия. Об. 20. Гом. 3

Таким образом, перилимбальное введение ДБА стимулирует репаративные процессы в роговице. При этом включаются механизмы более раннего восстановления структур переднего эпителия. Уже на 7-е сутки в гистологических препаратах обнаруживается 3–4-слойный эпителий. Уровень PCNA в данной серии нормализуется также на 7-е сутки эксперимента.

Динамика репаративной регенерации переднего эпителия в данной серии опытов коррелирует с восстановлением оптических свойств роговицы. Данный факт подтверждается результатами оптико-структурного анализа. Так, коэффициент анизотропии на 7-е сутки составляет 94% от нормы ($p < 0,05$). В серии с перилимбальным введением ДБА на 7-е сутки происходит восстановление всех слоев собственного вещества роговицы. Возможно, данный факт объясняется тем, что на ранних этапах репарации не происходит вовлечения в патологический процесс средних и глубоких слоев собственного вещества роговицы. Данные оптико-структурного анализа подтверждаются при макромикроскопическом исследовании. При этом выявленное на 7-е сутки незначительное помутнение роговицы смещено контрлатерально от области перилимбального введения ДБА. По-видимому, наблюдаемое смещение связано с неодинаковой скоростью течения репаративных процессов в периферической зоне ожога роговицы. Соответственно на стороне, в которую вводился ДБА, репарация роговицы происходит быстрее.

Необходимо также отметить более выраженную реакцию со стороны сосудов склеры. Так, на 7-е сутки СППК в области лимба в 1,12 раза выше, чем в контрольной серии ($p > 0,05$). Следует отметить, что данная сосудистая реакция обусловлена не только дилатацией сосудов и включением в циркуляцию покоившихся терминалей, но и явлениями неоангиогенеза.

Перилимбальное введение ДБА приводит к незначительному увеличению уровня TGF β -1 в собственном веществе роговицы в ранние сроки. При этом TGF β -1 обнаруживается в основном в цитоплазме фибробластов различ-

ной степени дифференцировки и клеток моноцитарно-макрофагальной системы. На 7-е сутки происходит нормализация содержания TGF β -1 в собственном веществе роговицы (рис. 16).

3.1.3. Репаративная регенерация роговицы после экспериментального ожога на фоне акупунктурного введения ДБА

Для серии с акупунктурным введением диспергированного биоматериала Аллоплант также характерна активация процессов репаративной регенерации, как в эпителии, так и в собственном веществе роговицы. Уже в ранние сроки (3-и сутки) признаки отека собственного вещества слабо выражены (рис. 29А, 30А). Область ожога роговицы на всем протяжении покрыта одним-двумя слоями переднего эпителия. В области лимба происходит увеличение суммарного просвета капилляров до $2118,9 \pm 131,07$ мкм². Макро- и микроскопические исследования показали, что на 7-е сутки в области химического ожога роговицы определяется незначительное помутнение D = $3,1 \pm 0,24$ мм, расположенное в центральной части роговицы (рис. 28).

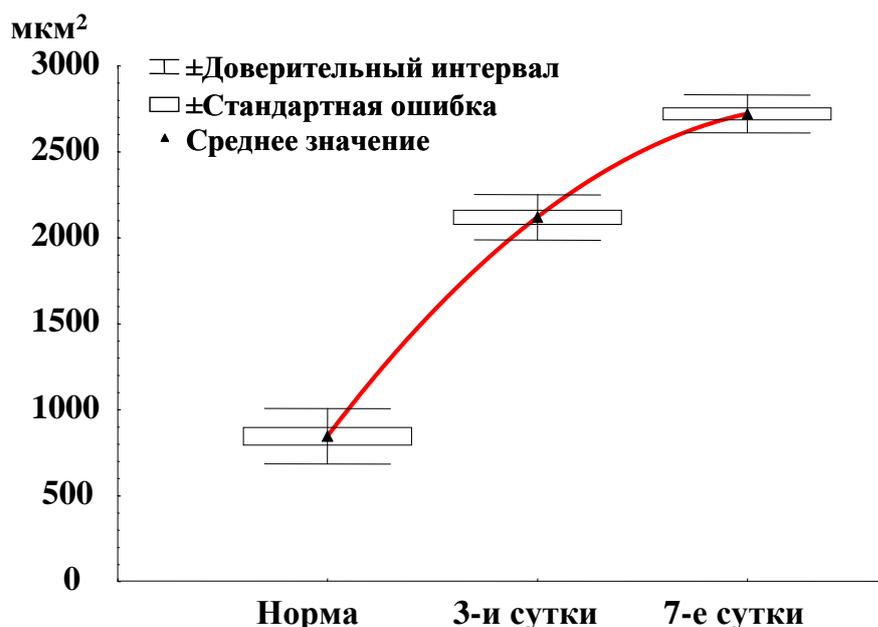


Рис. 24. Динамика изменения суммарной площади просвета капилляров

в лимбальной области после экспериментального ожога роговицы при акупунктурном введении ДБА. Ось абсцисс: сроки эксперимента.

Ось ординат: СППК, мкм^2

При микроскопическом исследовании в этот же срок передний эпителий представлен двумя слоями клеток. В поверхностных структурах собственного вещества роговицы обнаруживается восстановление коллагеновых структур. Между коллагеновыми волокнами выявляются юные фибробласты. Глубокие и средние слои собственного вещества роговицы полностью нормализуются (рис. 29Б, 30Б). В области лимба наблюдается увеличение СППК до $2720 \pm 110,15 \text{ мкм}^2$ на 7-е сутки (рис. 24).

В дальнейшем (на 14-е сутки) наблюдается восстановление многослойности переднего эпителия. При этом базальный слой представлен более округлыми клетками, в то время как апикальный слой – двумя пластами клеток, имеющими продолговатое строение. Собственное вещество роговицы в данный срок имеет гомогенное строение во всех слоях. При поляризационной микроскопии отмечается высокая оптическая активность роговичных пластин и апикального слоя переднего эпителия (рис. 31А, 32).

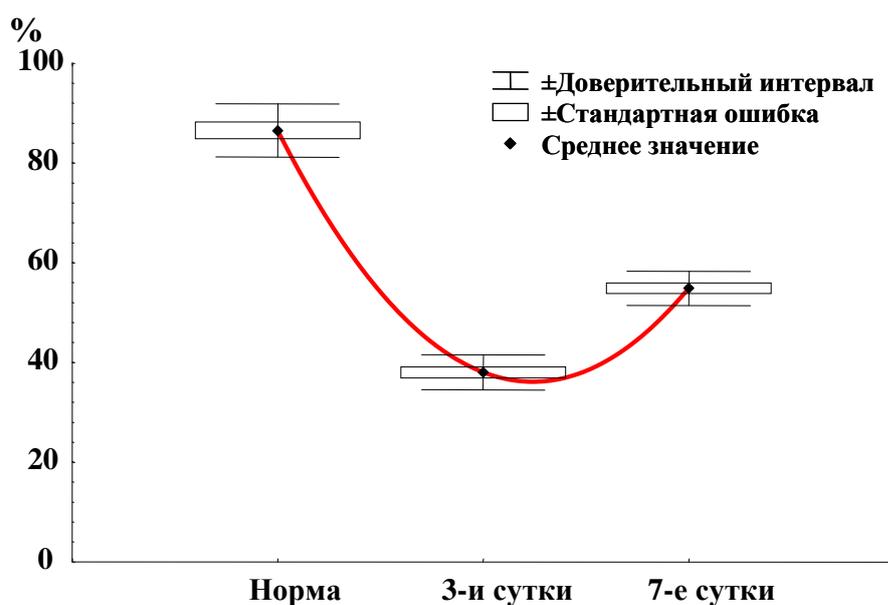


Рис. 25. Динамика изменения коэффициента анизотропии роговичных пластин в норме и после экспериментального ожога роговицы на фоне акупунктурного введения ДБА.

Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: коэффициент анизотропии, %

При исследовании макроскопического препарата под стереомикроскопом МБС-2 лишь в части случаев выявляется слабовыраженное поверхностное помутнение, которое полностью исчезает на 14-е сутки. В указанные сроки, в целом, формируется эпителиальный покров, характерный для нормальной роговицы.

Оптическая активность роговицы в серии с акупунктурным введением ДБА имеет сходную с предыдущими сериями динамику. В ранние сроки наблюдается снижение оптических свойств собственного вещества роговицы на фоне химического ожога. Начиная с 3-х суток, наблюдается увеличение коэффициента анизотропии до $38 \pm 3,5\%$. Затем, на 7-е сутки, выбранный показатель увеличивается до $54,9 \pm 3,41\%$, не достигая нормы ($86,5 \pm 5,34\%$) (рис. 25).



Рис. 26. Динамика изменения относительного показателя содержания TGFβ-1 в собственном веществе роговицы кролика в норме и после экспериментального ожога на фоне акупунктурного введения ДБА. Ось абсцисс: сроки эксперимента.

Ось ординат: показатель, %

Иммуногистохимические исследования, проведенные в выбранной серии опытов, показали, что на 3-и сутки происходит увеличение содержания TGF β -1 в собственном веществе роговицы. Указанный цитокин обнаруживается в цитоплазме блуждающих макрофагов и фибробластов различной степени дифференцировки, а также в основном веществе. При этом содержание TGF β -1 в собственном веществе роговицы выше, чем в предыдущей серии. Относительный показатель содержания TGF β -1 на 3-и сутки составляет $26,5 \pm 4,45\%$. На 7-е сутки наблюдается снижение содержания TGF β -1 в собственном веществе роговицы (рис. 31Б). В указанный срок происходит нормализация клеточного состава поверхностных слоев роговицы: преобладают структуры внеклеточного матрикса. Клетки представлены зрелыми фибробластами. TGF β -1 обнаруживается в цитоплазме данных клеток и в меньшей степени в межклеточном веществе. Регистрируемый показатель содержания TGF β -1 на 7-е сутки составляет $4,74 \pm 1,64\%$ (рис. 26).

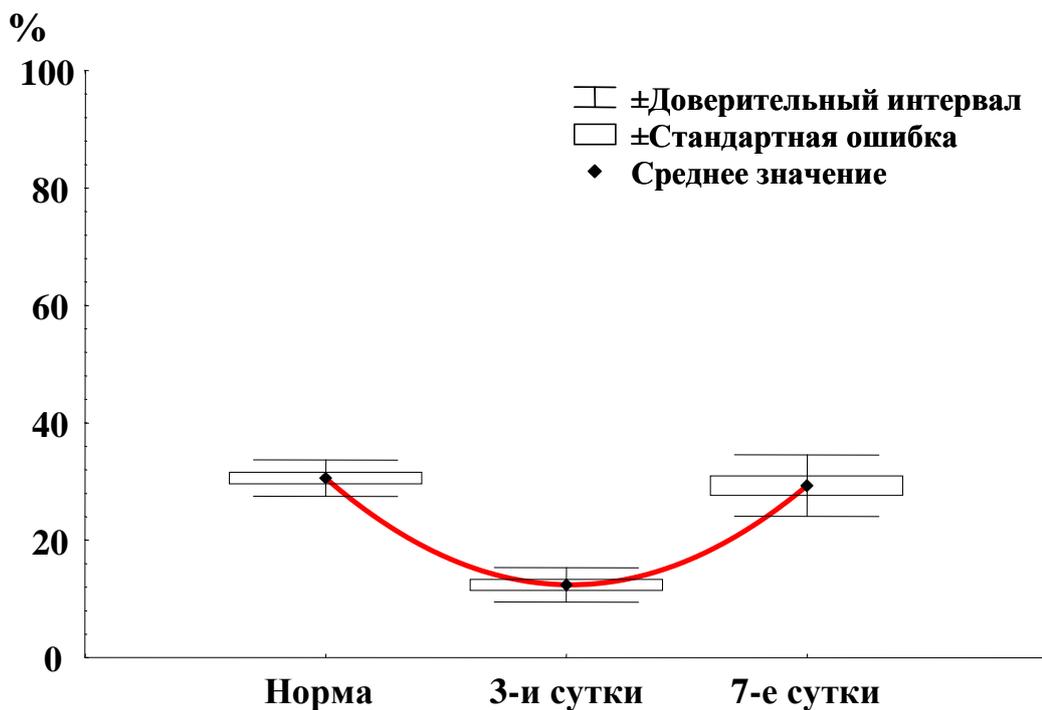


Рис. 27. Динамика изменения митотического индекса клеток переднего эпителия роговицы кролика в норме и после химического ожога на фоне акупунктурного введения ДБА. Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: показатель, %

Следующим этапом иммуногистохимических исследований явилось определение PCNA в ядрах клеток переднего эпителия роговицы. В ранние сроки наблюдается снижение уровня PCNA в эпителиоцитах в связи с гибелью большинства клеток. Клетки, сохранившиеся в зоне ожога подвержены некробиотическим изменениям и не способны к пролиферации. На 3-и сутки показатель, отражающий содержание PCNA в ядрах клеток, рассчитанный на сто эпителиоцитов, составляет $12,4 \pm 2,95\%$. В последующем происходит восстановление переднего эпителия за счет пролиферации клеток контактной зоны. Соразмерно с данным явлением наблюдается увеличение уровня PCNA в ядрах эпителиоцитов. Выбранный нами показатель нормализуется и составляет $29,3 \pm 5,25\%$ (рис. 27).



Рис. 28. Глаз кролика после экспериментального ожога. Макрофотография. Акупунктурное введение ДБА. 7-е сутки эксперимента. Незначительное транзитное помутнение роговицы в области химического ожога

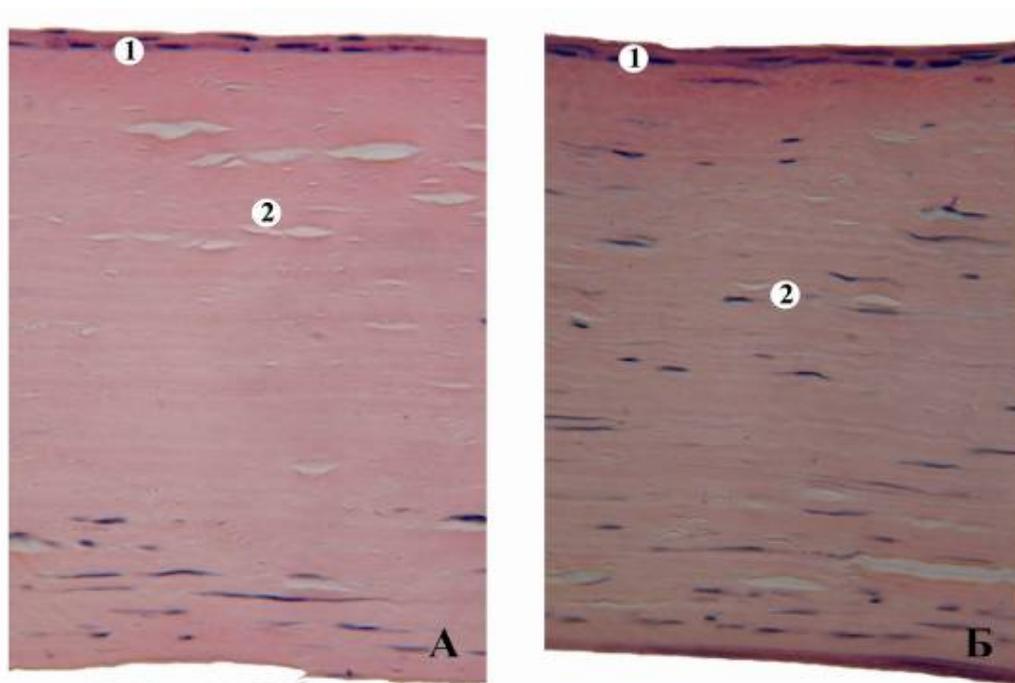


Рис. 29. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога.

Акупунктурное введение ДБА. А – 3-и сутки эксперимента. Одно-двухслойный эпителий (1), выраженный отек в поверхностных слоях собственного вещества (2), Б – 7-е сутки эксперимента. Эпителий (1), восстановление коллагеновых структур собственного вещества (2). Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40, ок. 20

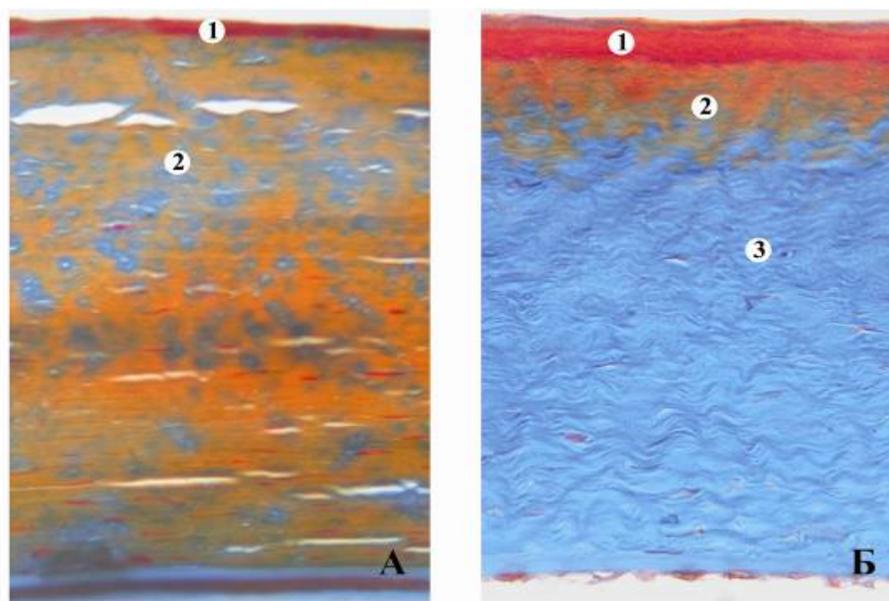


Рис. 30. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Акупунктурное введение ДБА. А – 3-и сутки эксперимента. Однослойный эпителий (1), нарушение упорядоченности коллагеновых структур (2), Б – 7-е сутки

эксперимента. Эпителий (1), восстановление однородности всех слоев собственного вещества роговицы (2, 3). Окраска по Маллори. Об. 40, ок. 20

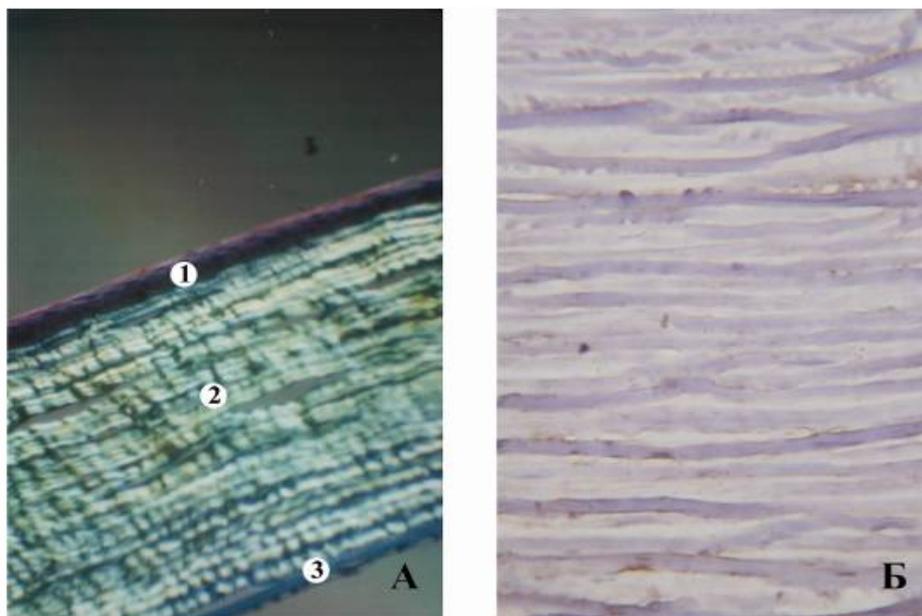


Рис. 31. Гистотопографический срез роговицы кролика после экспериментального ожога. Акупунктурное введение ДБА. 7-е сутки эксперимента. А – высокая оптическая активность эпителия (1); роговичные пластины (2), Десцеметова мембрана (3). Окраска гематоксилином и эозином. Поляризационная микроскопия. Об. 20. Гом. 3. Б – низкий уровень экспрессии TGFβ-1 в собственном веществе роговицы. Об. 40, ок. 20

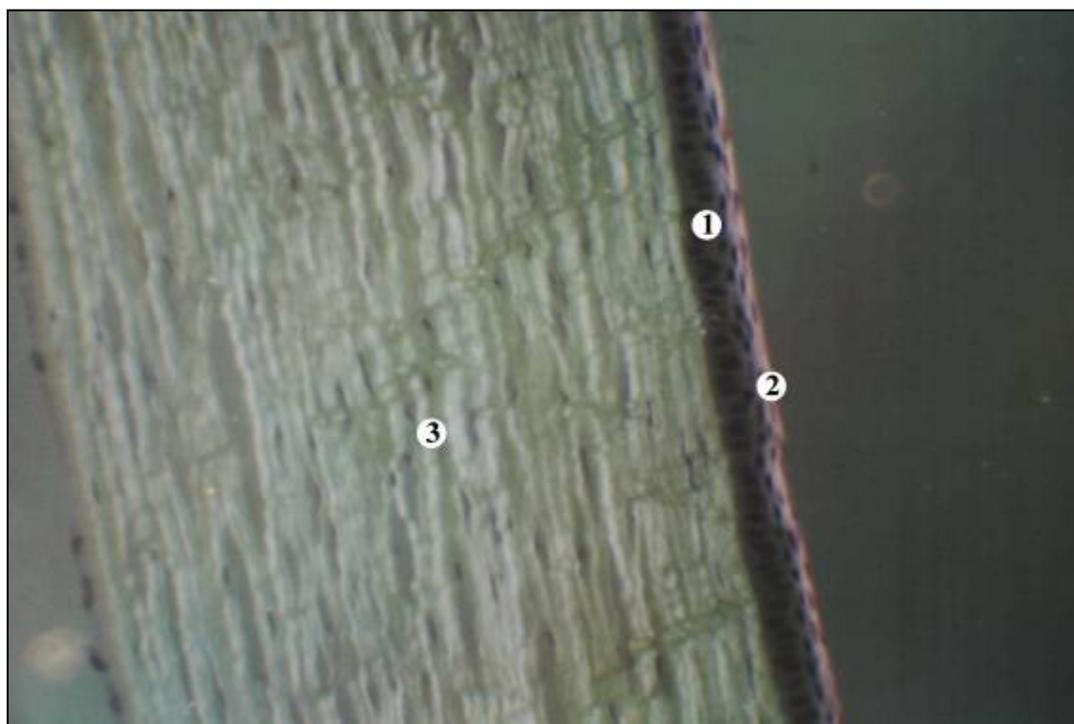


Рис. 32. Гистотопографический срез роговицы кролика

после экспериментального ожога. Акупунктурное введение ДБА. Контактная зона. 14-е сутки эксперимента. Передний эпителий роговицы (1, 2); высокая оптическая активность роговичных пластин (3). Окраска гематоксилином и эозином.

Поляризационная микроскопия. Об. 20. Гом. 3

Таким образом, в эксперименте по химическому ожогу роговицы на фоне акупунктурного введения ДБА в ранние сроки наблюдается восстановление поврежденных структур роговицы. Передний эпителий, характерный для нормальной роговицы, обнаруживается на 14-е сутки эксперимента. При этом уровень PCNA в ядрах клеток переднего эпителия нормализуется уже на 7-е сутки.

Патоморфологические изменения в собственном веществе роговицы в серии с акупунктурным введением ДБА имеют схожую динамику с контрольной серией опытов. Однако при акупунктуре с использованием ДБА наблюдается менее выраженный отек собственного вещества роговицы. Также как и в контрольной серии опытов, на 3-и сутки происходит вовлечение средних и глубоких слоев собственного вещества роговицы в воспалительный процесс. Следует отметить, что в данной серии наблюдается более выраженная сосудистая реакция структур лимба: СППК на 3-и сутки в 1,2 раза выше, чем в серии с перилимбальным введением ($p > 0,05$). При этом на 7-е сутки суммарный просвет капилляров в области лимба при акупунктурном введении ДБА на фоне ожога роговицы в 1,15 раз выше, чем при локальном (перилимбальном) введении ДБА ($p > 0,05$). Уменьшение разницы в показателях СППК между двумя опытными сериями объясняется местной реакцией сосудистого русла на продукты резорбции ДБА при локальном введении на 7-е сутки. К 7-м суткам коллагеновые волокна средних и глубоких слоев собственного вещества роговицы имеют одноосную ориентацию. В поверхностных слоях собственного вещества наблюдается снижение оптической активности. Так, на 7-е сутки КА собственного вещества роговицы восстанавливается на 63%

($p < 0,01$). В контрольной серии схожий эффект достигается лишь на 14-е сутки (72,3%). Полученные данные согласуются с результатами макромикроскопического исследования: в области ожога определяется менее выраженное, чем в контрольной серии помутнение роговицы.

Уровень TGF β -1 в собственном веществе роговицы в ранние сроки при акупунктурном введении ДБА незначительно увеличивается. При этом TGF β -1 обнаруживается, в основном, в клетках фибробластического и макрофагального дифференоров. На 7-е сутки наблюдается нормализация содержания TGF β -1 в ткани роговицы, как и в предыдущей серии опытов. По-видимому, это объясняется механизмом действия биоматериалов Аллоплант. Через систему макрофагов данные биоматериалы влияют на пролиферативную и синтетическую активность фибробластов.

Подводя итог результатам исследования, которые обобщены в табл. 2, необходимо отметить следующее. Показатель митотического индекса эпителиоцитов роговицы после ожога в контрольных опытах значимо снизился на 3-и сутки, на 7–14-е сутки обнаружена тенденция к росту этого показателя. После локального введения ДБА обнаружено значимое повышение показателя митотического индекса эпителиоцитов роговицы, причем, на 7-е сутки показатель превысил исходные значения. Акупунктурное введение ДБА вызвало тенденцию к повышению относительно контроля.

Таблица 2

**ПОКАЗАТЕЛИ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ РОГОВИЦЫ
ПРИ ЛОКАЛЬНОМ И РЕФЛЕКСОГЕННОМ ВВЕДЕНИИ ДБА**

Серия	Контроль		Локальное введение		Рефлексогенное воздействие	
	3	7	3	7	3	7
Сроки, сутки						
В сравнении	с исходным состоянием		с контролем		с контролем	
Показатели экспрессии TGF β -1, % (M \pm m) n=27						

Исходное состояние 2,57±1,86	31,15± 1,86	40,3± 2,06	16,1± 2,13	2,27± 1,32	26,5± 1,45	4,74± 1,64
Уровень доверия	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,05	p < 0,001	p > 0,05	p < 0,01
Показатели митотического индекса эпителия роговицы, % (M ± m) n=27						
Исходное состояние 30,6±3,09	8,8± 3,50	25,4± 5,30	16,8± 4,42	36,4± 4,27	12,4± 2,95	29,3± 5,25
Уровень доверия	p < 0,05					
Показатели коэффициента анизотропии, % (M ± m) n=27						
Исходное состояние 86,5±5,34	16,7± 1,99	38,3± 4,08	46,5± 3,78	81,4± 2,85	38± 3,5	54,9± 3,41
Уровень доверия	p < 0,01	p < 0,05	p < 0,05	p > 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Показатели суммарной площади просвета капилляров лимба, мкм ² (M ± m) n=27						
Исходное состояние 846±161,1	1697± 130	2115± 102,9	2119± 161,1	2720± 110,2	1764± 113,6	2360± 104,5
Уровень доверия	p < 0,05					

Примечание. М – средняя арифметическая, m – ошибка средней арифметической

Исследование экспрессии TGFβ-1 показало резкое (в 15 раз) увеличение после ожога с пиком на 7-е сутки. Локальное введение ДБА вызвало статистически достоверное снижение фактора фиброобразования с минимумом на 7-е сутки и достижением исходного уровня. При акупунктурном воздействии динамика экспрессии TGFβ-1 оказалась несколько менее выраженной на 3-и сутки, и значимой – на 7-е сутки.

Коэффициент анизотропии коллагеновых волокон роговицы после ожога резко снизился с минимумом показателя на 3-и сутки. Локальное введение ДБА привело к увеличению коэффициента анизотропии так, что на 7-е сутки показатель практически достиг исходного уровня. Акупунктурное воздействие вызвало наиболее выраженный рост показателя на 7-е сутки.

Суммарная площадь просвета капилляров лимба после ожога увеличилась двукратно на 3-и сутки с пиком на 7-е сутки. Как при локальном, так и акупунктурном воздействии во все сроки эксперимента обнаружено достоверное увеличение исследуемого показателя микроциркуляторного русла лимба относительно контроля.

3.2. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛОКАЛЬНЫХ РЕФЛЕКСОГЕННЫХ ЗОН ПРИ АКУПУНКТУРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ И ВВЕДЕНИИ ДБА

Данный раздел включен в работу как самостоятельный для того, чтобы обосновать принципиальную возможность фармакопунктурного введения диспергированного биоматериала. При этом в качестве группы сравнения выбран метод классической иглорефлексотерапии.

3.2.1. Морфофункциональные изменения локальных рефлексогенных зон при акупунктурном воздействии

В исследуемых группах лабораторных животных заживление кожных ран области акупунктуры проходило первичным натяжением. Течение репаративных процессов между сериями опытов с разницей в один-два сеанса иглоукалывания (1 и 3, 4 и 5 и т. д.) не имеет существенных различий. В связи с этим мы решили разделить проведенный эксперимент на три группы по количеству сеансов иглорефлексотерапии и дать общее описание патоморфологических изменений для каждой группы: 1–3 сеанса иглоукалывания – первая группа; 4–7 сеансов – вторая; 8–10 сеансов – третья.

В первой группе (1–3 иглоукалывания) к морфологическим проявлениям раневого процесса следует отнести расширение всех элементов микроциркуляторного русла в перифокальной зоне (ширина данной зоны до 2000 мкм), явления экссудации и отека краев раневого дефекта. Раневой канал содержит незначительное количество детрита. На 14-е сутки эпителий над раневым каналом восстанавливается и имеет несколько меньшее количество слоев в сравнении с нормальной тканью в периферической зоне. Пролиферация в глубоких слоях эпидермиса указывает на постепенное восстановление его структуры (рис. 34).

Воспалительные явления наиболее выражены в дерме. В сосочковом слое дермы выявляется проекционная зона. Она начинается от базальной мембраны эпителия и распространяется на глубину до 720 мкм. В данной зоне отмечается полиморфноклеточная инфильтрация, образуемая недифференцированными соединительнотканью клетками, эозинофилами, макрофагами.

В сетчатом слое дермы наблюдается пролиферация клеток фибробластического дифферона и синтез коллагеновых и эластиновых волокон, которые прорастают в детрит. Таким образом, происходит очищение раневого канала за счёт организации части детрита, а также за счёт его отторжения и вытеснения за пределы раневого дефекта новообразованной грануляционной тканью. Организация детрита проходит в несколько стадий: полиморфноклеточная инфильтрация, биодеградация и резорбция некротизированных масс макрофагами, пролиферация недифференцированных соединительнотканью клеток с последующим синтезом основного вещества соединительной ткани. Следует отметить, что в данной группе опытов стенка раневого канала образована рыхлой неоформленной волокнистой соединительной тканью. При окраске по Маллори в контактной зоне выявляется рыхлая ткань, богатая клетками и сосудами (рис. 35). Данный факт также подтверждается при определении суммарной площади просвета капилляров в контактной зоне (рис. 33). Плотность макрофагальной инфильтрации в контактной зоне сетчатого слоя дермы составляет $26,6 \pm 0,43$ клеток на единицу площади.

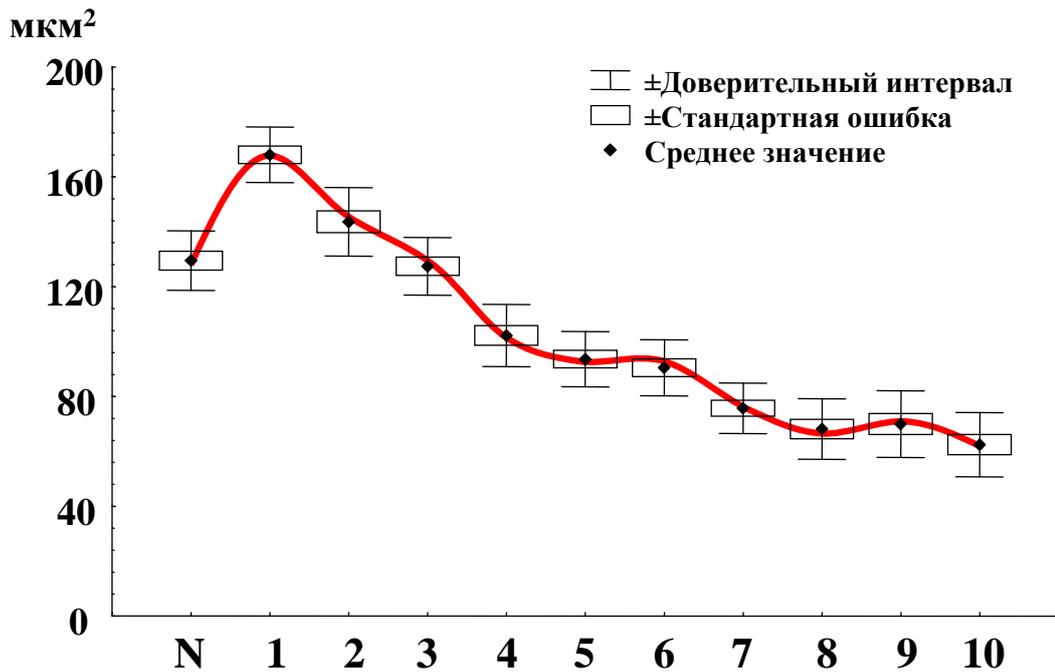


Рис. 33. Классическая иглорефлексотерапия в эксперименте на кроликах.

Ось абсцисс: N – норма, 1-10 – число сеансов иглорефлексотерапии.

Ось ординат: СППК в контактной зоне, мкм²

В толще поверхностной фасции (1200 мкм) наблюдается отек и прорастание рыхлой соединительной ткани в области дефекта. Кожная мышца в периферической зоне воздействия иглы утолщается до 300–350 мкм, в межпучковых пространствах выявляется миграция миосателлитоцитов и недифференцированных соединительнотканых клеток, что свидетельствует об активации репаративных процессов в мышечной ткани. В данной области также отмечается рост рыхлой соединительной ткани (рис. 36). При этом участок кожной мышцы, замещенный соединительной тканью, в толщину не превышает 100 мкм. В эксперименте по иглорефлексотерапии определялась суммарная площадь просвета капилляров в контактной зоне сетчатого слоя дермы. Для выбранной группы экспериментов (1–3 сеанса иглорефлексотерапии) характерны следующие значения СППК: при одном сеансе иглоукалывания – $168 \pm 10,12$ мкм²; при двух сеансах – $143,6 \pm 12,48$

мкм²; при трех – $127,4 \pm 10,47$ мкм². В норме СППК сетчатого слоя дермы составляет $129,5 \pm 10,85$ мкм² (рис. 33).

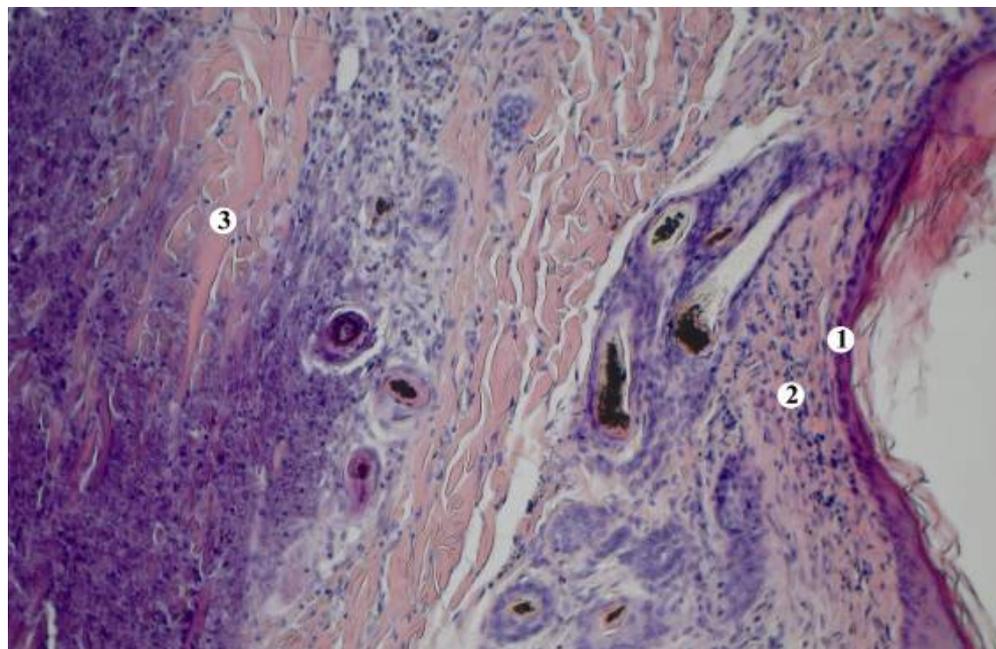


Рис. 34. Гистотопографический срез кожи кролика в динамике на 14-е сутки после двух сеансов иглоукалывания. Восстановление эпителия (1), проекционная зона в сосочковом слое дермы (2), коллагеновые волокна, прилежащие к детриту (3).

Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 20

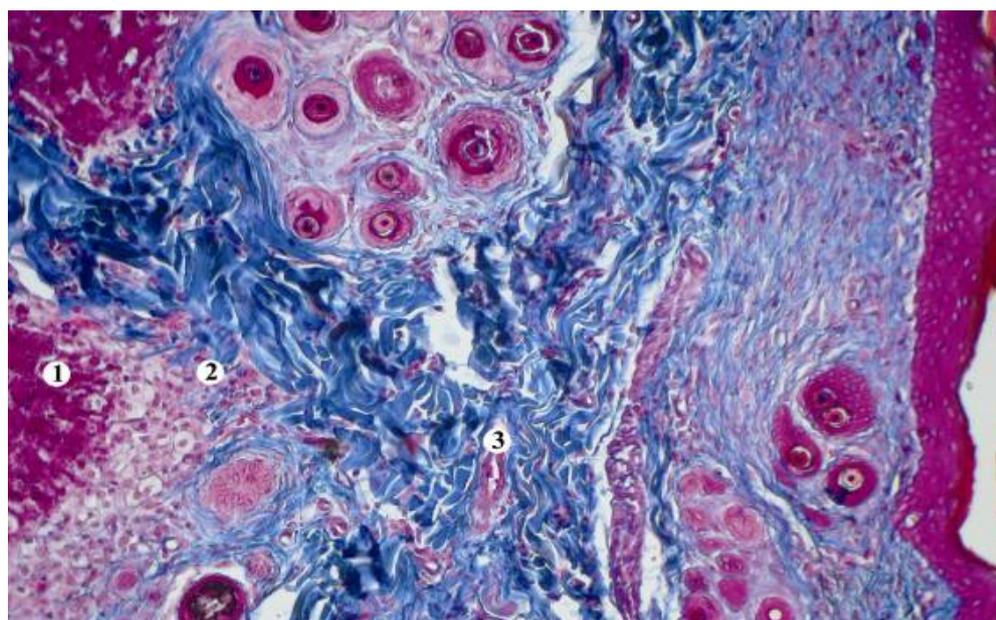


Рис. 35. Гистотопографический срез кожи кролика в динамике на 14-е сутки

после двух сеансов иглоукалывания. Детрит (1), рыхлая неоформленная соединительная ткань образует стенку раневого канала (2), венула D=30 мкм (3).

Окраска по Маллори. Об. 10, ок. 20

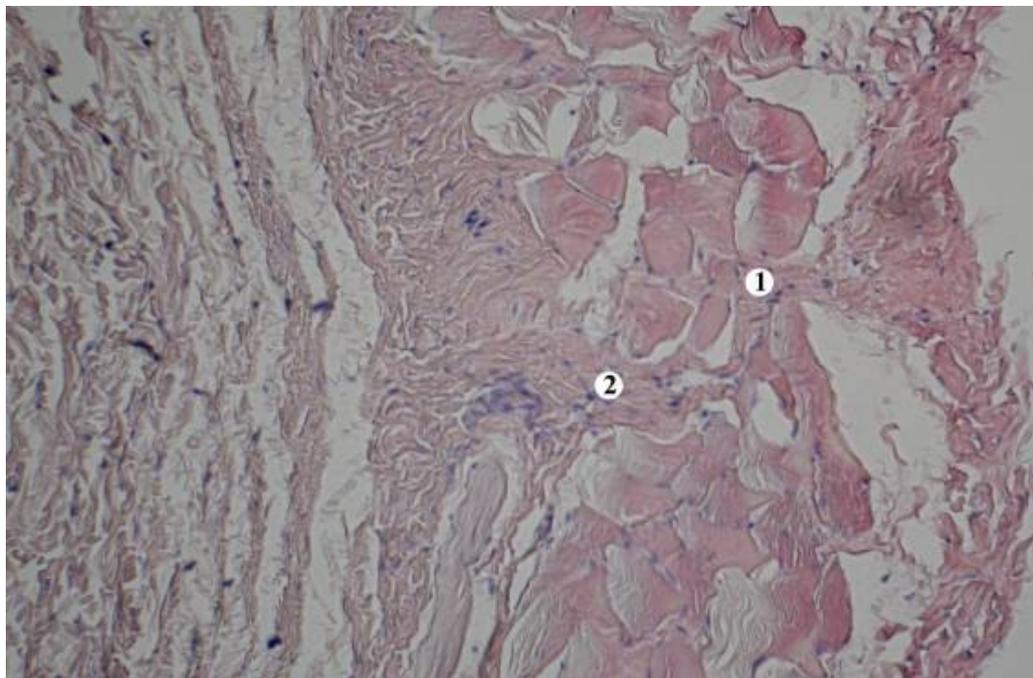


Рис. 36. Гистотопографический срез кожи кролика в динамике на 14-е сутки после трех сеансов иглоукалывания. Миграция недифференцированных соединительнотканых клеток (1), прорастание рыхлой соединительной ткани в толщу кожной мышцы (2). Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 20

Показатель, характеризующий содержание трансформирующего фактора роста в контактной зоне сетчатого слоя дермы ($TGF\beta-1$) в цитоплазме макрофагов и клеток фибробластического дифферона в межклеточном веществе, составляет $29,9 \pm 1,36\%$. В норме выбранный показатель в сетчатом слое дермы равен $20,1 \pm 1,32\%$ (при этом $TGF\beta-1$ чаще выявляется в цитоплазме фибробластов и оседлых макрофагов, нежели в основном веществе соединительной ткани). В данном случае наблюдается тенденция к образованию фиброзной ткани (рис. 37).

Во второй группе (4–7 сеансов иглорефлексотерапии) также наблюдаются явления воспалительного отека и полиморфноклеточной инфильтрация перифокальной области. Раневой канал заполнен детритом. Эпителий над областью дефекта имеет один-два слоя. В данной группе опытов выполнена рекон-

струкция гистотопографического среза контактной зоны кожи. На данной реконструкции определяется стенка раневого канала от эпителия до кожной мышцы при окраске по Маллори (рис. 38).

В сосочковом слое дермы обнаруживается проекционная зона. В данной зоне наблюдается инфильтрация макрофагами, эозинофилами (рис. 39). В проекционной зоне также идет пролиферация недифференцированных соединительнотканых клеток и синтез тонких пучков коллагеновых волокон. При этом сосочковый слой дермы утолщается и достигает 920–1000 мкм (в норме до 800 мкм).

В сетчатом слое дермы контактная зона образована рыхлой неоформленной соединительной тканью. Плотность макрофагальной инфильтрации в этой зоне составляет $32,3 \pm 0,38$ клеток на единицу площади. При этом наблюдается неоднородность данной ткани. Более плотной по своему строению представляется ткань, выполняющая стенки раневого канала. В данном случае важную роль играет фактор хронической травматизации тканей. Детрит в раневом канале подвергается организации, аналогично предыдущей группе опытов. Соединительнотканые волокна синтезируются фибробластами перифокальной области и прорастают от стенок раневого канала к его центру.

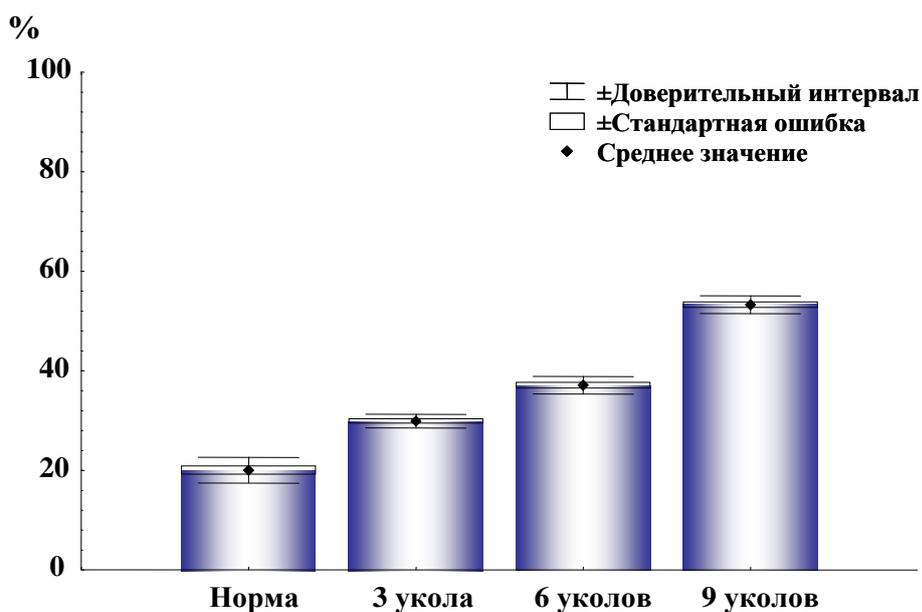


Рис. 37. Относительный показатель содержания TGFβ-1 в сетчатом слое дермы в норме и при классической иглорефлексотерапии в эксперименте на кроликах. Ось абсцисс: норма и число манипуляций соответственно. Ось ординат: показатель, %

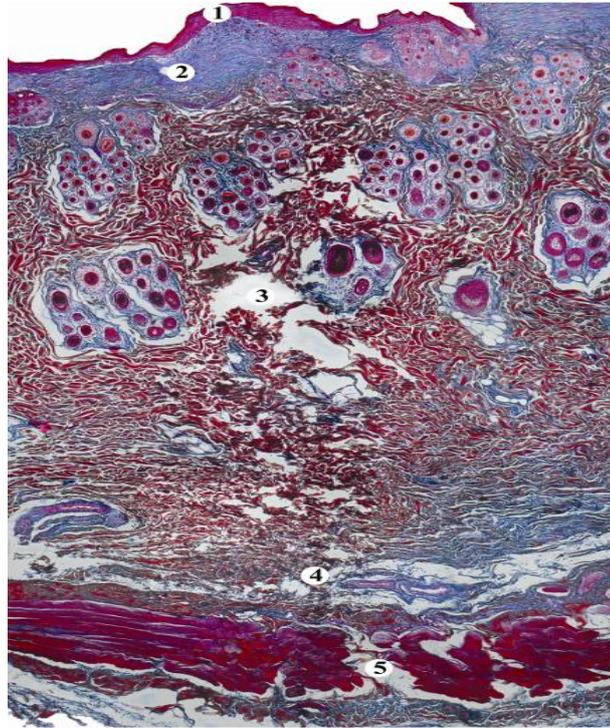


Рис. 38. Гистотопографический срез кожи кролика в динамике на 14-е сутки после четырех сеансов иглоукалывания. Кожа кролика, контактная зона – реконструкция. Эпителий (1), дефект в сосочковом (2) и сетчатом (3) слоях дермы, поверхностная фасция (4), кожная мышца (5). Окраска по Маллори

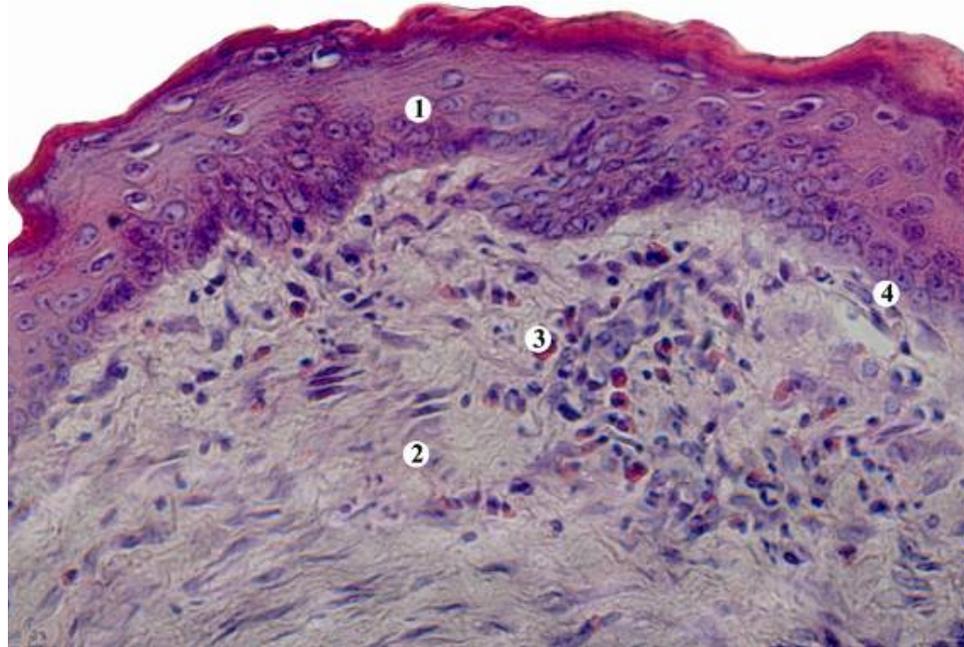


Рис. 39. Гистотопографический срез кожи кролика в динамике на 14-е сутки после пяти сеансов иглоукалывания (реконструкция). Проекционная зона в сосочковом слое дермы (2). Эпителий (1), инфильтрация эозинофилами (3), макрофагами (4) и клетками фибробластического дифферона. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40, ок. 20

В поверхностной фасции над кожной мышцей обнаруживается утолщение до 310 мкм, образованное рыхлой неоформленной соединительной тканью. Данный регенерат соответствует зоне дефекта поверхностной фасции, полученной в результате микротравматизации при выполнении сеансов игло-рефлексотерапии.

Кожная мышца в контактной зоне утолщена и инфильтрирована недифференцированными соединительнотканными клетками, что указывает на реакции мышечной ткани. В зоне воздействия иглы кожная мышца прерывается и полностью замещается соединительной тканью поверхностной фасции. При окраске по Маллори четко выявляется соединительнотканый тяж толщиной до 120 мкм, пересекающий мышечный слой в толще фасции (рис. 40).

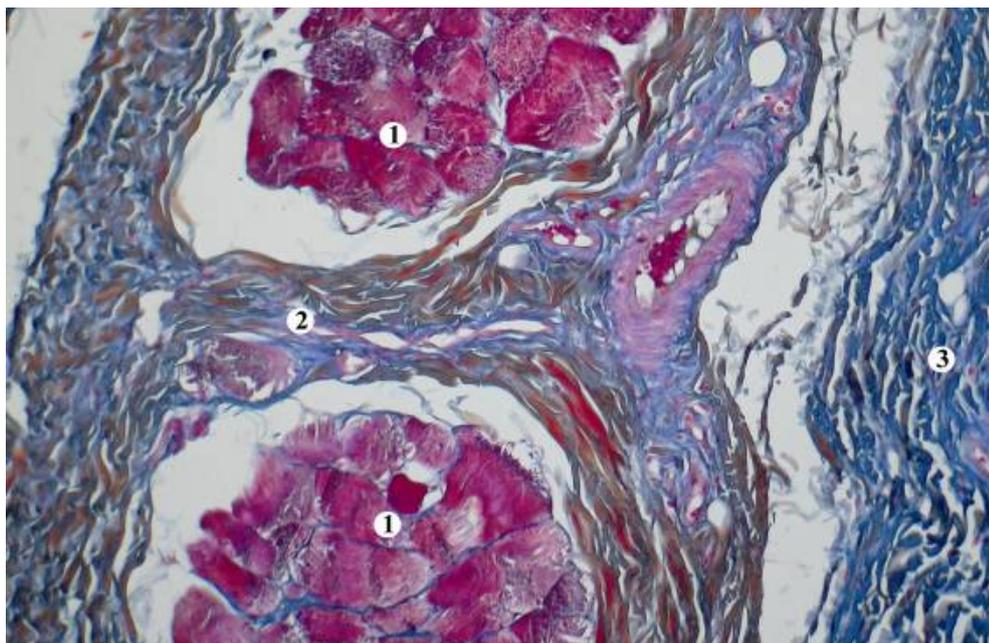


Рис. 40. Гистотопографический срез кожи кролика в динамике на 14-е сутки после шести сеансов иглоукалывания. Кожная мышца (1), соединительнотканый тяж в области дефекта (2), утолщение поверхностной фасции над кожной мышцей в зоне травмы (3). Окраска по Маллори. Об. 10, ок. 20

Во второй группе классической иглорефлексотерапии определялась суммарная площадь просвета капилляров. При этом были получены следующие значения СППК: четырехкратное иглоукалывание – $102,2 \pm 11,33$ мкм²; пятикратное иглоукалывание – $93,6 \pm 10,11$ мкм²; шестикратная манипуляция – $90,4 \pm 10,19$ мкм². При этом результаты исследования отражают тенденцию к снижению СППК и фиброзированию соединительной ткани контактной зоны (рис. 33).

Об этой же тенденции свидетельствует высокий показатель, характеризующий содержание трансформирующего фактора роста (TGFβ-1), равный $36,9 \pm 1,48\%$ (рис. 37). Наиболее активно приведённый цитокин выявляется в контактной зоне сетчатого слоя дермы в цитоплазме блуждающих макрофагов и клеток фибробластического дифферона, а также межклеточном веществе. Являясь цитокином, воздействующим на фибробласты, TGFβ-1 стимулирует их дифференцировку и потенцирует синтез основного вещества соединительной ткани. Так, избыточный синтез TGFβ-1 макрофагами (как в данной

серии) непременно приводит к развитию бедно васкуляризированной грубоволокнистой соединительной ткани.

Третья группа (8–10 сеансов иглоукалывания) отличается от предыдущих групп незавершенностью репаративных процессов. Эпителий над областью дефекта содержит один слой клеток.

Для данной группы характерны активные пролиферативные процессы в проекционной зоне, захватывающие сосочковый слой кожи. При этом указанный слой гипертрофируется за счет новообразованных коллагеновых волокон и пролиферирующих фибробластов и коллагенобластов. Толщина сосочкового слоя дермы достигает 1200 мкм, что в 1,5 раза больше нормы (рис. 41). Проекционная зона, как и в первых двух группах опытов, инфильтрирована недифференцированными соединительнотканными клетками, макрофагами и эозинофилами.

По ходу раневого канала формируется соединительнотканый регенерат, к которому прилежат локальные организованные участки тканевого детрита. Основу стенки раневого канала, как и в предыдущей группе опытов, образует грубоволокнистая соединительная ткань с высокой плотностью упаковки коллагеновых волокон. При этом от периферии к центру раневого канала происходит чередование различных видов соединительной ткани. В периферической зоне обнаруживается незначительно инфильтрированная оформленная волокнистая соединительная ткань сетчатого слоя дермы. Затем следует грубая волокнистая соединительная ткань стенки раневого канала (до 120 мкм толщиной). От неё в тканевой детрит продолжают волокна рыхлой неоформленной соединительной ткани толщиной до 80 мкм (рис. 42).

Здесь плотность макрофагальной инфильтрации достигает $36,5 \pm 0,51$ клеток на единицу площади. Примечательно, что рыхлая волокнистая соединительная ткань помимо макрофагов и клеток фибробластического дифферона содержит эозинофилы.

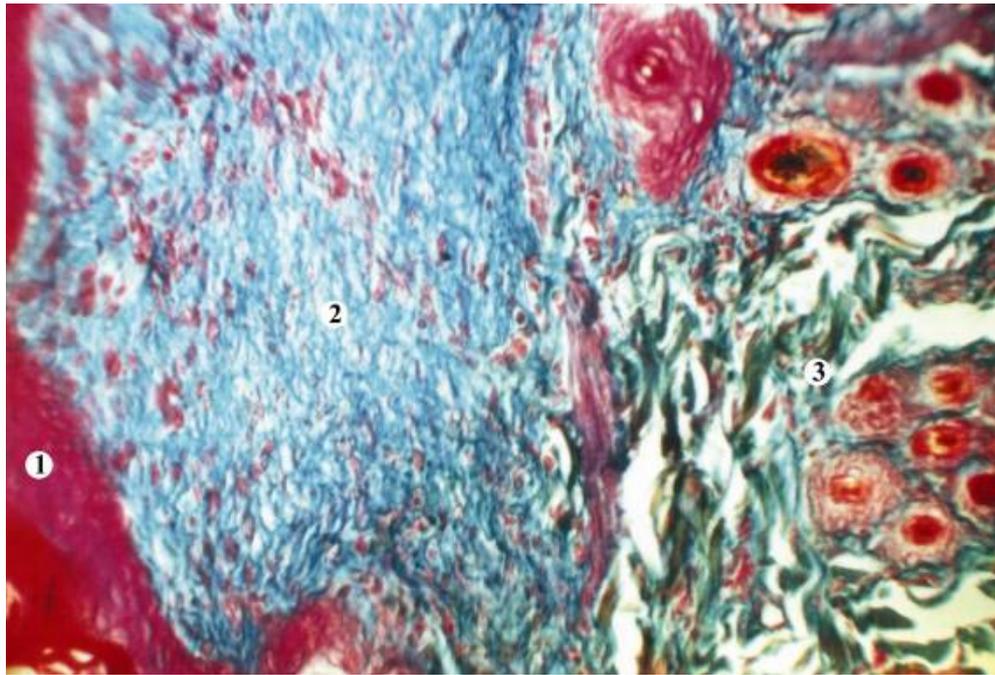


Рис. 41. Гистотопографический срез кожи кролика в динамике на 14-е сутки после восьми сеансов иглоукалывания. Эпителий (1), гипертрофированный сосочковый слой дермы (2), сетчатый слой дермы. Окраска по Маллори. Об. 20, Гом. 3

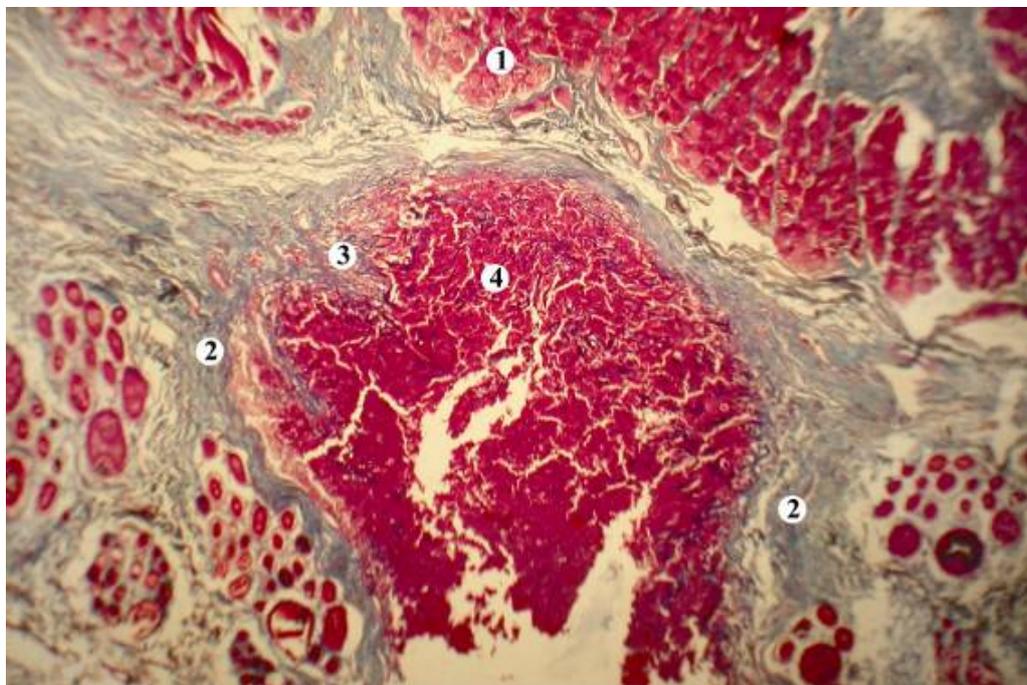


Рис. 42. Гистотопографический срез кожи кролика в динамике на 14-е сутки после девяти сеансов иглоукалывания. Кожная мышца (1), грубоволокнистая соединительная ткань, образующая стенки раневого канала (2), рыхлая волокнистая соединительная ткань (3) переходящая в детрит (4). Окраска по Маллори. Об. 4, ок. 20

В области перимизия кожной мышцы формируется участок компактного расположения пучков коллагеновых волокон. В отличие от вышеописанных групп опытов кожная мышца на относительно большом протяжении (до 210 мкм) замещена волокнистой соединительной тканью (рис. 43). Наряду с явлениями фиброза в кожной мышце наблюдается активация клеточных дифферонов самой мышцы и перимизия миосателлитоцитов и недифференцированных соединительнотканых клеток.

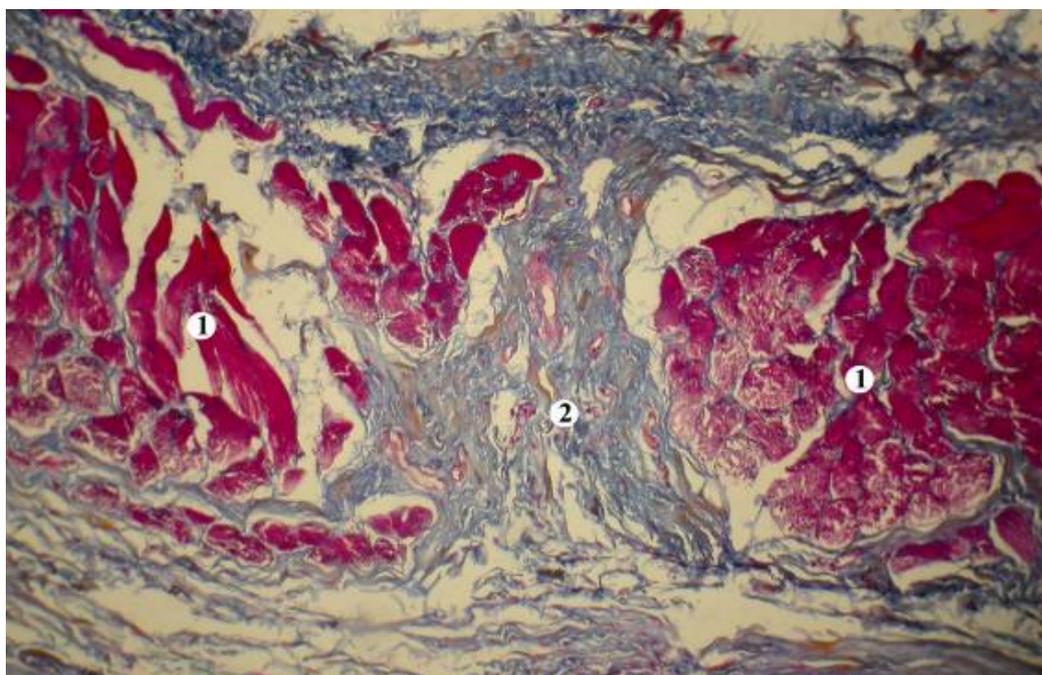


Рис. 43. Гистотопографический срез поверхностной фасции кролика в динамике на 14-е сутки после десяти сеансов иглоукалывания. Кожная мышца (1) на относительно большом протяжении замещена соединительной тканью (2).

Окраска по Маллори. Об. 10, ок. 20

Исследование суммарной площади просвета капилляров в третьей группе опытов по классической иглорефлексотерапии показало следующие результаты. При восьмикратном иглоукалывании СППК составляет $68,1 \pm 11,03$ мкм²; при девяти и десяти сеансах иглорефлексотерапии СППК составляет – $69,9 \pm 12,16$ мкм² и $62,4 \pm 11,67$ мкм² соответственно. Данная группа опытов характеризуется самыми низкими показателями СППК в контактной зоне (рис. 33).

О явлениях фиброза в контактной зоне сетчатого слоя дермы также говорит наиболее высокий уровень TGF β 1. Так, относительный показатель, характеризующий содержание данного цитокина составил $53,1 \pm 1,39\%$. При максимальном числе сеансов иглорефлексотерапии трансформирующий фактор роста выявлялся аналогично с предыдущими группами опытов в цитоплазме макрофагов, фибробластов различной степени дифференцировки и в межклеточном веществе соединительной ткани. При этом в данной группе опытов контактная зона имеет наибольшую ширину (до 200 мкм), и соответственно TGF β 1 также обнаруживался в высоких титрах на большем участке микропрепарата (рис. 37). Таким образом, эксперимент по классической иглорефлексотерапии позволил выявить зависимость между числом сеансов иглоукалываний и характером патоморфологических изменений в коже.

Так, один-три сеанса иглорефлексотерапии вызывают реактивные процессы во всех слоях кожи. В сосочковом слое дермы выявляется проекционная зона, свидетельствующая о включении специфических механизмов акупунктуры. В сетчатом слое дермы в области дефекта и в контактной зоне наблюдается рост хорошо васкуляризированной рыхлой неоформленной соединительной ткани. Так, при минимальном числе сеансов акупунктуры значения СППК превышают нормальные в 1,1–1,2 раза ($p > 0,05$). Однако исследование содержания TGF β -1, во многом определяющего ход репаративных процессов, показывает увеличение титров данного цитокина в контактной зоне сетчатого слоя дермы. Данный факт говорит о тенденции к образованию грубоволокнистой соединительной ткани. Одновременно происходит восстановление эпидермиса, раневой канал относительно быстро освобождается от детрита.

Четыре-семь сеансов иглорефлексотерапии вызывают более значительные изменения в коже. Так восстановление эпидермиса происходит относительно медленнее. Наблюдается незначительное увеличение толщины сосочкового слоя за счет пролиферации клеток фибробластического дифферона и последующего синтеза основного вещества соединительной ткани. Контактная зона сетчатого слоя дермы представлена плотной неоформлен-

ной волокнистой соединительной тканью с выраженной тенденцией к фиброзированию. Данный факт подтверждается показателями СППК в контактной зоне сетчатого слоя дермы (значения, полученные в данной группе опытов, в 1,27–1,72 раза ($p < 0,05$) ниже нормальных) и TGF β -1 в этой же зоне (относительный показатель содержания выбранного цитокина в 1,84 раза ($p < 0,05$) выше, чем в норме).

Максимальное число сеансов иглорефлексотерапии (8–10) приводит к организации стенок раневого канала в грубую волокнистую соединительную ткань. Наряду с этим происходит утолщение сосочкового слоя дермы в 1,5 раза ($p < 0,05$). Данные СППК в контактной зоне свидетельствуют о низком уровне кровоснабжения. Показатель содержания TGF β -1, в выбранной группе опытов в 2,6 раза ($p < 0,01$) превышает нормальные значения. Данный факт коррелирует с высокой плотностью упаковки пучков коллагеновых волокон образованного регенерата.

Во всех сериях опытов происходят изменения в области гиподермы. Наиболее реактивно на хроническую микротравматизацию реагируют структуры кожной мышцы. При этом в области дефекта мышцы образуется соединительнотканый регенерат, ширина и плотность которого также зависит от кратности процедур иглорефлексотерапии.

Следует отметить, что явления фиброза в дерме при многократных сеансах иглорефлексотерапии обусловлены двумя процессами: пролиферацией фибробластов в проекционной зоне (сосочковый слой дермы) и формированием плотной волокнистой соединительной ткани в сетчатом слое дермы и в области перимизия и всего комплекса соединительнотканых структур кожной мышцы.

3.2.2. Морфофункциональные изменения локальных рефлексогенных зон при введении ДБА

При анализе настоящего материала мы столкнулись с проблемой морфофункциональной идентификации биоактивной точки. Дело в том, что мик-

ротопография данных точек может варьировать в пределах нескольких миллиметров. Поэтому при описании гистотопографических препаратов нами обнаружены различия в динамике морфологических изменений в центральной и периферической зоне инъекций диспергированного биоматериала Аллоплант. Другими словами, не всегда представляется возможным точно локализовать биоактивную точку, и, в результате, в пределах одного препарата выявляется разнообразная динамика морфогенетических процессов в центральной и периферической зоне введения биоматериала.

При введении ДБА в акупунктурную точку в ранние сроки (3-и сутки) биоматериал локализовался субдермально. При этом фрагменты ДБА располагались в основном выше кожной мышцы, формируя округлый или овальный домен диаметром до 1600–1800 мкм. В участке контакта биоматериала с кожной мышцей, как правило, оказывался небольшой дефект мышечного пласта, через который фрагменты аллотрансплантата частично проникали в поверхностную фасцию глубже указанной мышцы (рис. 44). По-видимому, при выполнении фармакопунктуры в гиподерме за счет инъецируемого биоматериала создается повышенное давление, которое и является основным фактором локальной деформации кожной мышцы с выходом части фрагментов трансплантата в подмышечное пространство. На аллогенный биоматериал развиваются клеточные реакции, имеющие выраженные различия в описываемых сериях опытов.

В выбранной серии опытов реактивные процессы как в трансплантате, так и в тканевом ложе наиболее выражены в ранние сроки – на 3-и и 7-е сутки эксперимента. Так, уже на 3-и сутки в субдермальном слое волокнистой соединительной ткани выявляется полиморфноклеточная инфильтрация (рис. 45). В составе инфильтрата доминируют макрофаги ($32,5 \pm 0,54$ клеток на единицу площади ($p < 0,05$)). Повышается проницаемость эндотелия капилляров. Морфологически это проявляется экстравазацией плазмы и форменных элементов крови, в том числе эозинофилов.

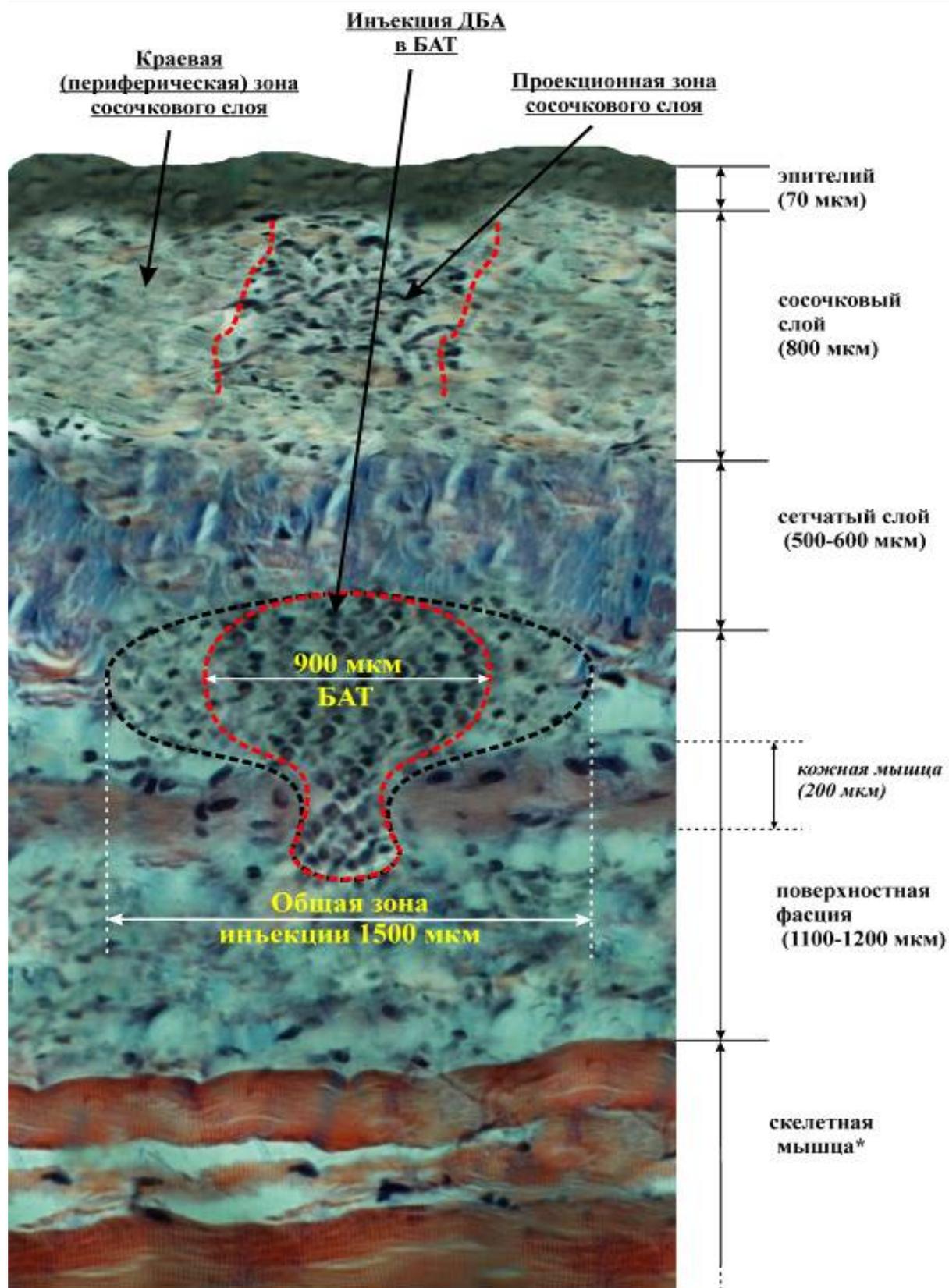


Рис. 44. Схема введения диспергированного биоматериала Аллоплант в биологически активную точку

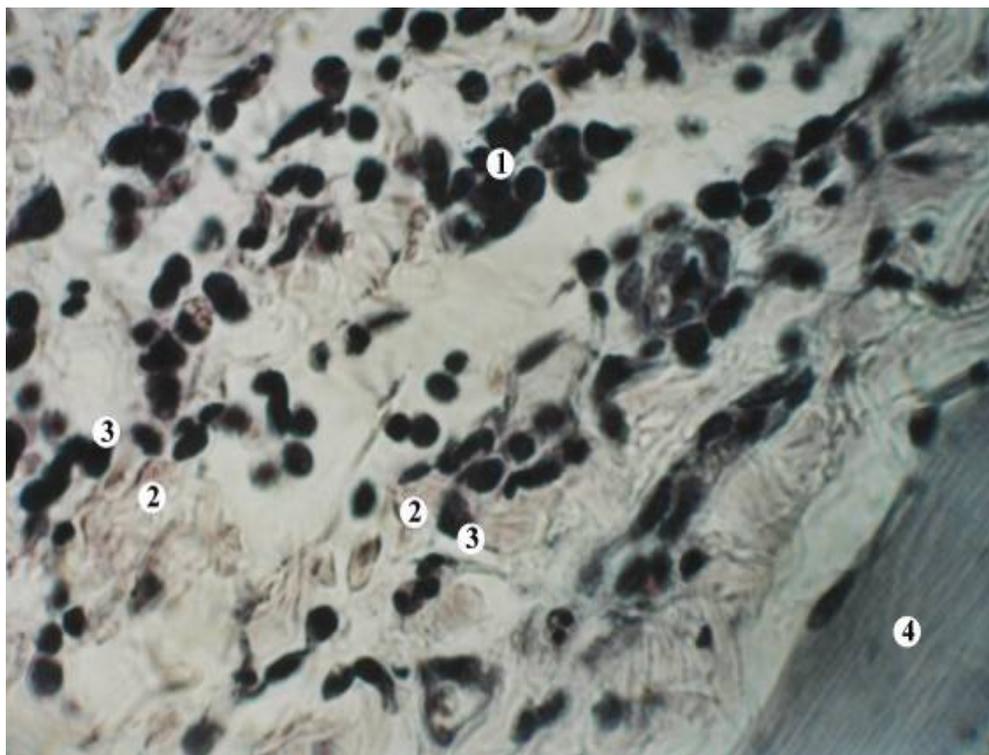


Рис. 45. Экспериментальное введение ДБА в биологически активную точку в сетчатом слое дермы. Полиморфноклеточный инфильтрат (1); адгезия макрофагов (3) на фрагментах биоматериала (2); кожная мышца (4). В динамике на 3-и сутки после трансплантации. Окраска гематоксилином и эозином. Частичная поляризационная микроскопия. Об. – 60, гом. – 3.0

Периферическая зона аллогенного биоматериала предположительно выходит за пределы биологически активной точки и, соответственно, клеточная реакция на него менее выражена. Кроме того, высокая плотность инфильтрата определяется также в области контакта биоматериала с соединительнотканной стромой кожной мышцы (рис. 46). Примечательно, что прилегающая к трансплантату зона сетчатого слоя дермы сохраняется относительно ареактивной, не проявляя выраженных сосудистых и клеточных реакций. В тоже время в сосочковом слое дермы обнаруживается локальное скопление макрофагов и недифференцированных соединительнотканых клеток в проекции центральной инъекционной зоны диспергированного биоматериала Аллоплант (рис. 47).

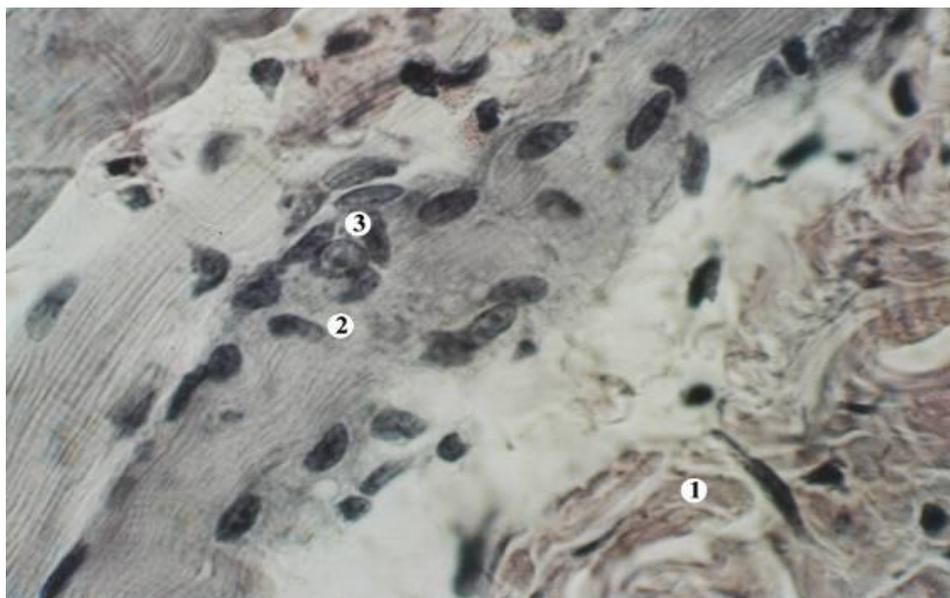


Рис. 46. Экспериментальное введение ДБА в биологически активную точку в сетчатом слое дермы. Реакция миосателлитов (3) в кожной мышце (2); фрагменты биоматериала (1). В динамике на 3-и сутки трансплантации. Окраска гематоксилином и эозином. Частичная поляризационная микроскопия.

Об. – 60, гом. – 3.0

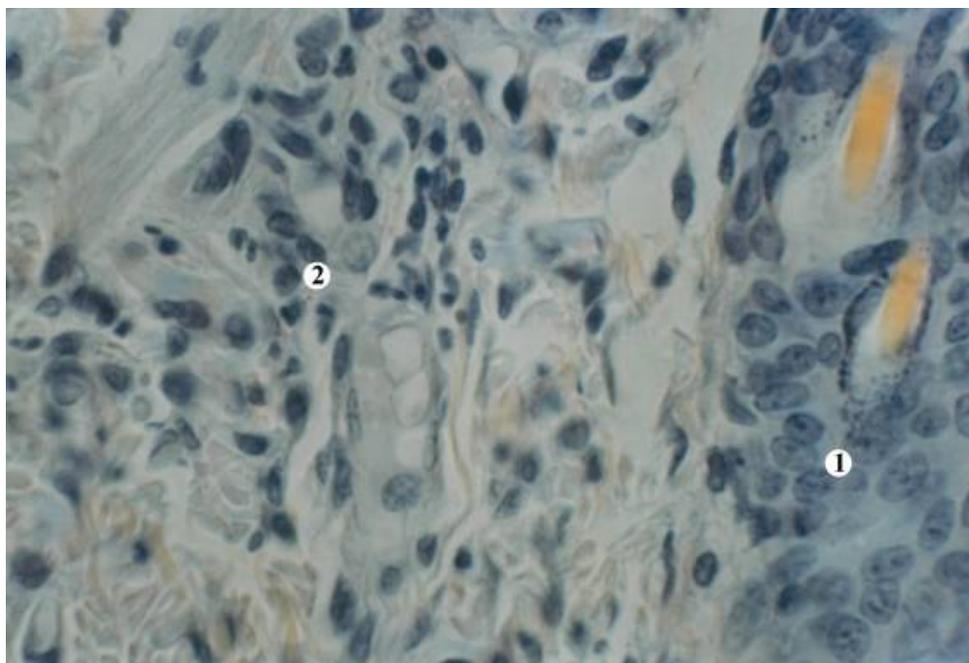


Рис. 47. Экспериментальное введение ДБА в биологически активную точку. Полиморфноклеточный инфильтрат в сосочковом слое дермы над областью введения ДБА – проекционная зона (2); эпителий (1). В динамике на 3-и сутки трансплантации. Окраска гематоксилином и эозином. Об. – 60, гом. – 3.0

Данную область повышенной реактивности сосочкового слоя в области введения биоматериала в акупунктурную точку мы определяем как проекционную зону дермы. Эта зона не всегда соответствует всей области инъекции биоматериала, а охватывает только ту её часть, в которой локализованы и наиболее активны воспалительные, регенеративные, ангиогенные и резорбтивные процессы. Выраженные клеточные реакции данной гистотопографической зоны, гиподермы и кожной мышцы с их проекцией в сосочковом слое дермы позволяют рассматривать её как эквивалент биоактивной точки в клиническом и биофизическом определении.

Описанные гистотопографические взаимоотношения в области инъекции ДБА в биологически активную точку сохраняются на 7-е сутки. Однако в последующем происходит постепенная резорбция биоматериала при активном участии макрофагов и новообразованного терминального сосудистого русла.

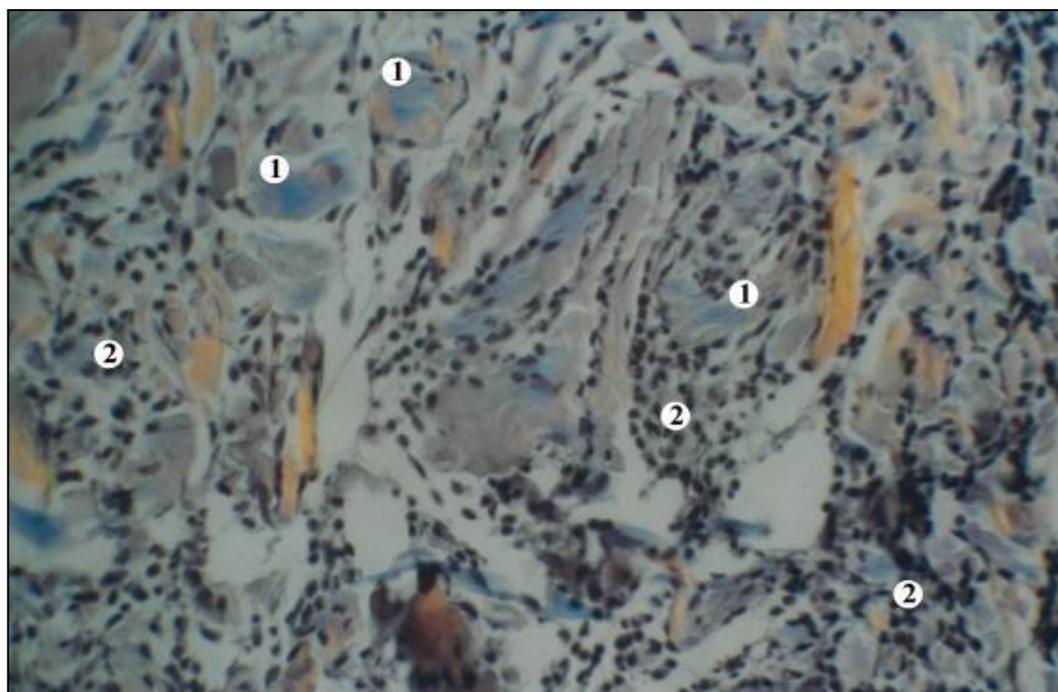


Рис. 48. Экспериментальное введение диспергированного биоматериала Аллоплант в биологически активную точку (сетчатый слой дермы). Оптическая активность частиц биоматериала (1), полиморфноклеточный инфильтрат (2). В динамике на 7-е сутки после инъекции ДБА. Окраска гематоксилином и эозином.

Частичная поляризационная микроскопия. Об. – 20, гом. – 3.0

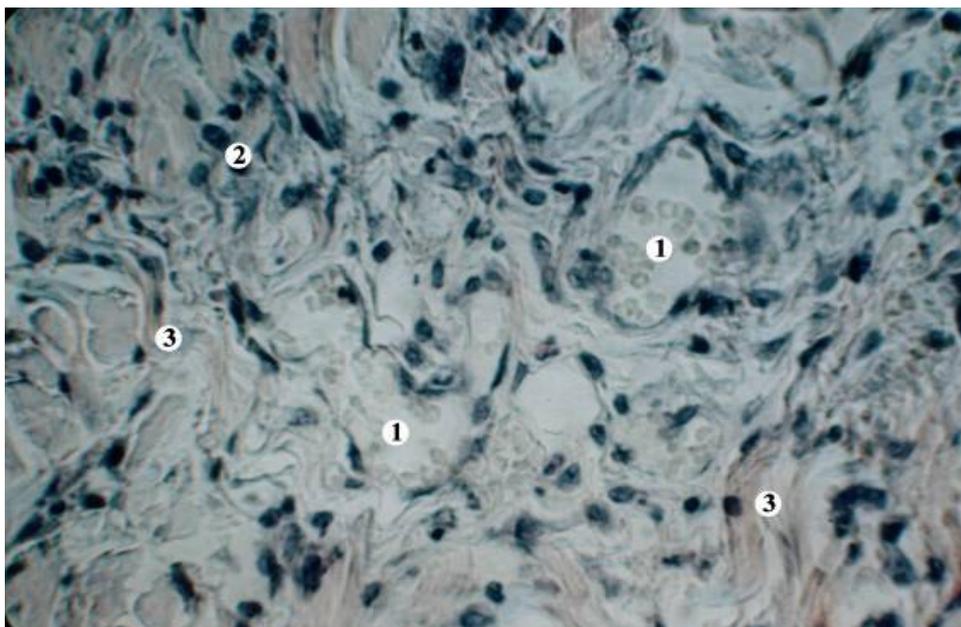


Рис. 49. Экспериментальное введение ДБА в биологически активную точку. Перифокальная зона сетчатого слоя дермы. Новообразованные сосуды (1); полиморфноклеточная инфильтрация (2); фрагменты биоматериала (3). В динамике на 14-е сутки после инъекции ДБА. Окраска гематоксилином и эозином.

Частичная поляризационная микроскопия. Об. – 60, гом. – 3.0

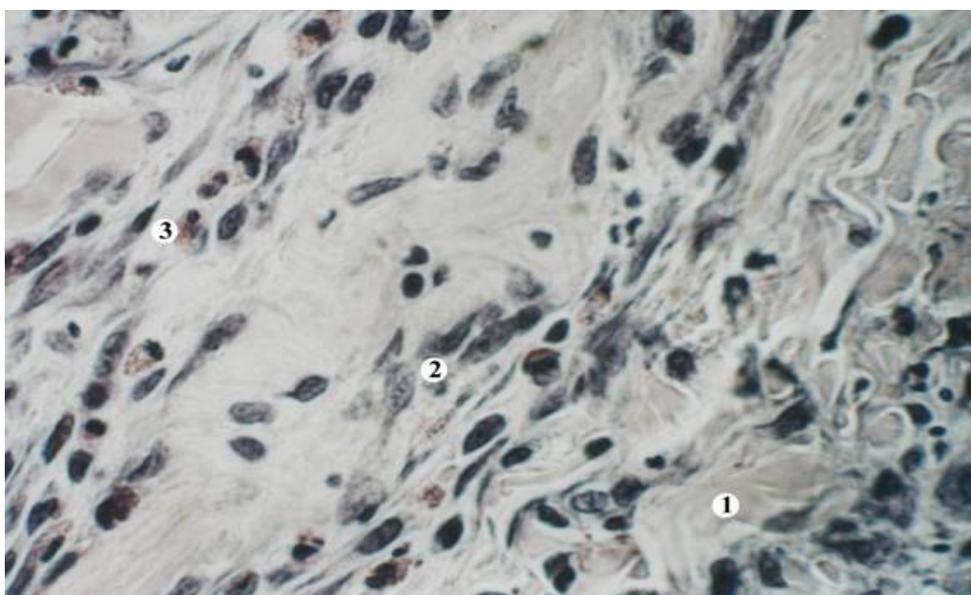


Рис. 50. Экспериментальное введение ДБА в биологически активную точку (перифокальная зона сетчатого слоя дермы). Фрагменты биоматериала (1); макрофаги (2); эозинофилы (3). В динамике на 30-е сутки после инъекции ДБА. Окраска гематоксилином и эозином. Частичная поляризационная микроскопия.

Об. – 60, гом. – 3.0

Аналогичные процессы характерны и для слоев дермы. Функционально активные макрофаги здесь занимают основное поле зрения. Встречаются также эозинофилы, содержащие хорошо выраженную ацидофильную зернистость. Данный факт также указывает на их метаболическую активность. На 7-е сутки клеточная манифестация достигает своего максимума. Инфильтрат, состоящий из макрофагов, эозинофилов, недифференцированных соединительнотканых клеток занимает межпучковые пространства в перифокальной зоне дермы. Пучки волокон разделяются не только клеточными компонентами, но и экссудатом. В самой зоне инъекции ДБА также выявляется макрофагальная инфильтрация и единичные эозинофилы. Миграция клеточных элементов при этом проходит по межпучковым пространствам (рис. 48). Однако плотность клеточного инфильтрата в трансплантате несколько ниже, чем в тканевом ложе ($p < 0,05$). Так, на 7-е сутки количество макрофагов в трансплантате составило $16 \pm 0,27$ клеток, эозинофилов – $2 \pm 0,82$. Следует отметить, что, несмотря на выраженную клеточную инфильтрацию как самого трансплантата, так и тканевого ложа (дермы, субдермального слоя), нами не отмечалось явлений дистрофии, некроза или некробиоза тканей реципиента.

На 14-е сутки реактивные процессы менее выражены. В области введения биоматериала также сохраняются макрофаги, однако, их численность значительно уменьшается: $8,5 \pm 0,26$ клеток на единицу площади. На продолжение сосудистых и клеточных процессов указывают новообразованные терминальные сосуды (рис. 49). Фрагменты трансплантата в данный срок встречаются лишь в отдельных участках в виде сохранившихся волокнистых компонентов.

Соединительнотканые структуры трансплантата практически полностью исчезают уже на 30-е сутки (рис. 50).

Показателем резорбции биоматериала на наш взгляд является изменение его поляризационно-оптических свойств в динамике. Так, при определении коэффициента анизотропии частиц ДБА в области введения выявлена тенденция к снижению данного показателя в отдаленные сроки эксперимента. При этом

в первые сутки после акупунктурного введения ДБА выбранный показатель имеет максимальное значение ($67,0 \pm 0,79\%$), а на 30-е сутки снижается до минимума ($25,6 \pm 0,7\%$) (рис. 51).

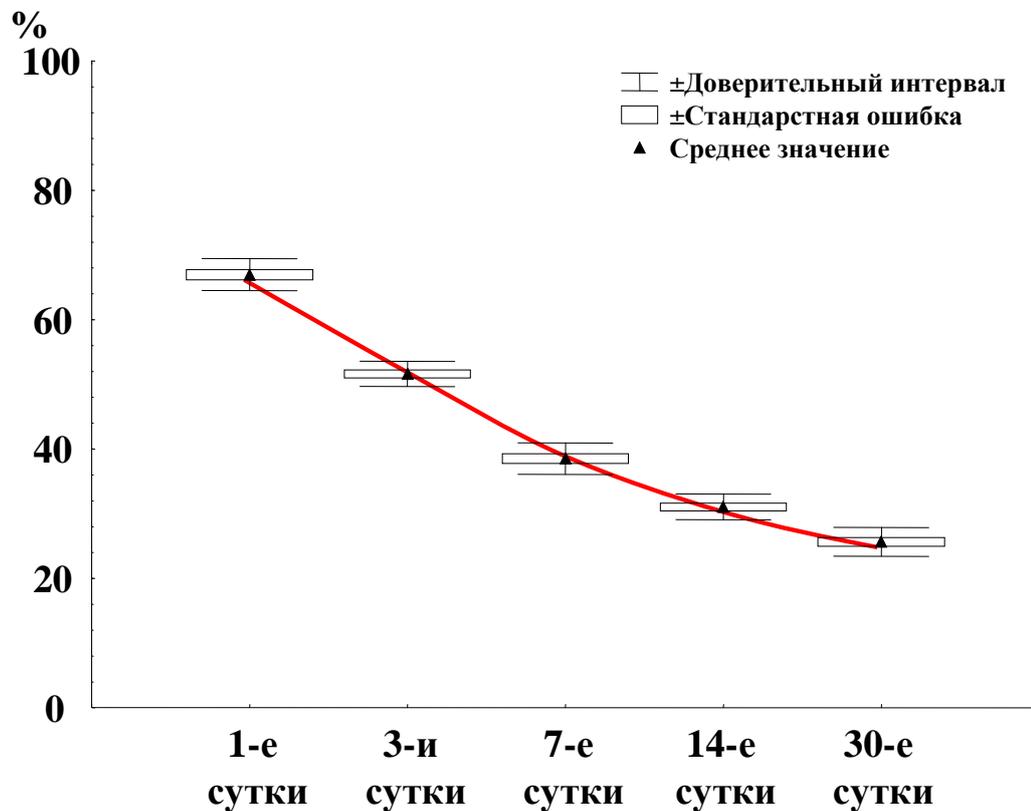


Рис. 51. Динамика изменения коэффициента анизотропии коллагеновых волокон ДБА в различные сроки после его введения в дерму АТ по задней срединной линии. Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: КА фрагментов биоматериала, %

Определение суммарной площади просвета капилляров показало следующие результаты. Так, в ранние сроки в области введения биоматериала и в перифокальной зоне (контактная зона или тканевое ложе трансплантата) наблюдается увеличение выбранного показателя. При этом, пик роста СППК в области введения ДБА наблюдается на 14-е сутки – $438,26 \pm 10,8$ мкм². Постепенное снижение СППК происходит в более поздние сроки. Однако на 60-е сутки эксперимента выбранный показатель превышает нормальный значения, что свидетельствует о процессах неоангиогенеза (рис. 52).

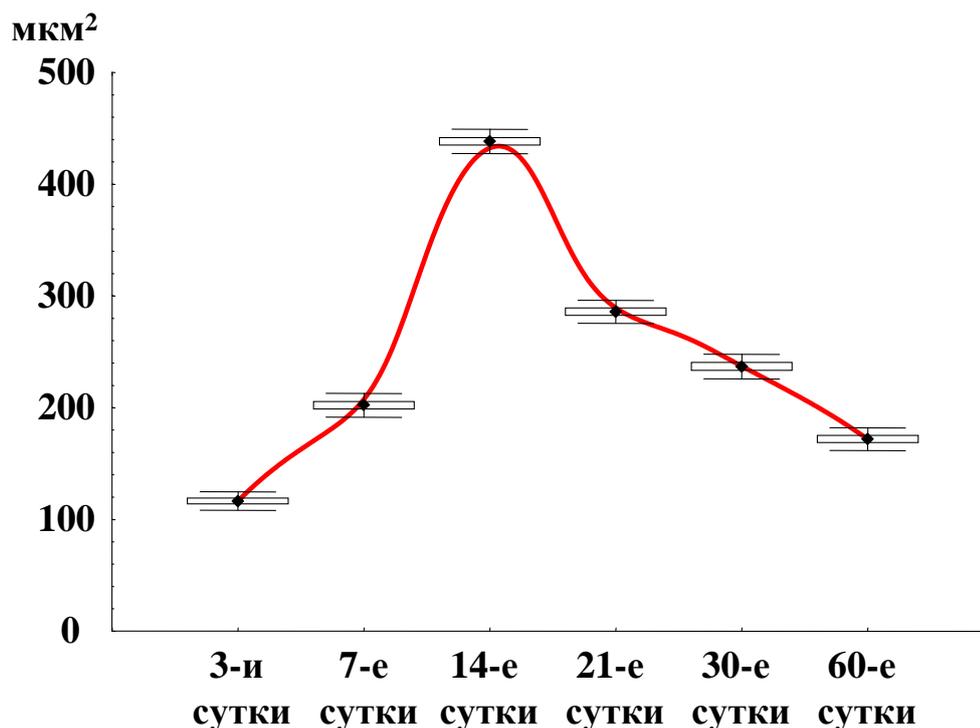


Рис. 52. Динамика изменения суммарной площади просвета капилляров в области введения диспергированного биоматериала Аллоплант в акупунктурные точки кролика. Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: показатель, мкм²

В тканевом ложе наблюдается более раннее снижение СППК. При этом пик СППК приходится на 3-и сутки, когда выбранный показатель достигает максимального значения: $518,6 \pm 9,85$ мкм². На 7-е сутки происходит постепенное снижение СППК до $344,4 \pm 9,73$ мкм² (рис. 53).

Результаты гистохимических исследований уровня экспрессии TGF β -1 в сетчатом слое дермы в области введения ДБА косвенно подтверждают его поэтапную резорбцию без тенденции к фиброзу. При этом в ранние сроки наблюдается незначительное увеличение уровня TGF β -1 в сетчатом слое дермы. Трансформирующий фактор роста – β 1 выявляется в цитоплазме блуждающих и оседлых макрофагов и клеток фибробластического дифферона. Наибольший уровень экспрессии наблюдается в зонах активной резорбции биоматериала. В меньшей степени TGF β -1 обнаруживается в межуточном веществе сетчатого слоя дермы. Так, на 3-и сутки относительный показа-

тель, отражающий содержание выбранного цитокина, составляет $30 \pm 1,48\%$ (в норме $20,1 \pm 1,32$). В дальнейшем, начиная с 7-х суток эксперимента, происходит медленное снижение уровня экспрессии TGF β -1 до нормальных значений. На 30-е сутки происходит нормализация уровня данного цитокина в области введения ДБА. При этом, TGF β -1 в равной степени обнаруживается как в цитоплазме клеток макрофагального и фибробластического дифференгов, так и в межклеточном веществе (рис. 54).

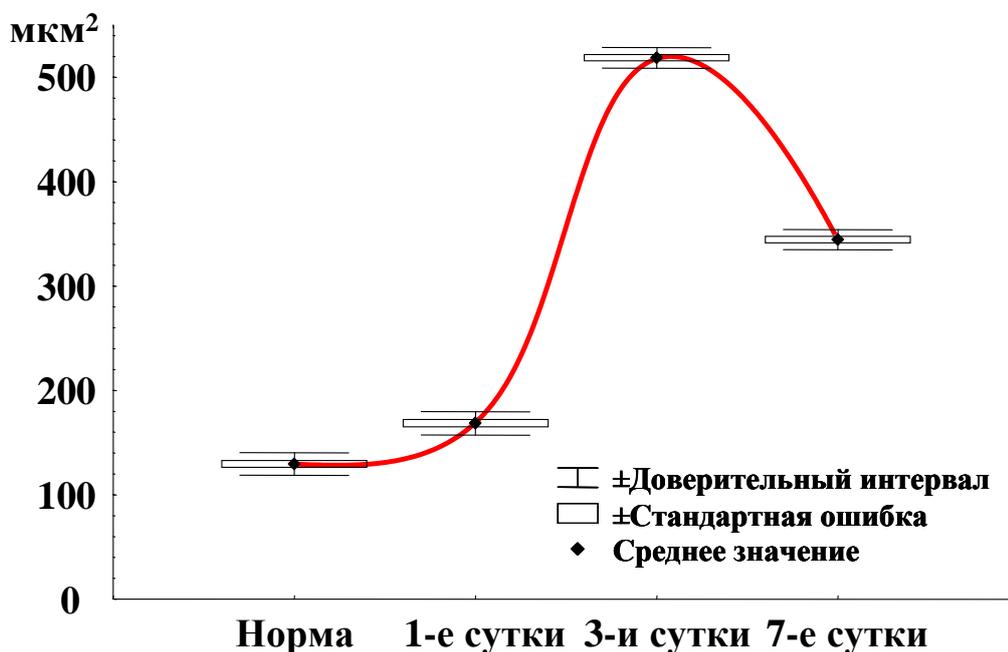


Рис. 53. Динамика изменения СППК в тканевом ложе диспергированного биоматериала Аллоплант на фоне его экспериментального введения в акупунктурные точки кролика. Ось абсцисс: сроки эксперимента. Ось ординат: СППК в тканевом ложе биоматериала, мкм²

Таким образом, введение диспергированного биоматериала Аллоплант в акупунктурные точки приводит к выраженным клеточным реакциям в дерме и гиподерме, которые достигают своего максимума на 7-е сутки и постепенно снижаются на 14-е и 30-е сутки. Сосудистые реакции также имеют свою динамику. При этом в перифокальной зоне в ранние сроки наблюдается четырехкратное увеличение СППК. Начиная с 7-х суток, наблюдается постепенное

снижение выбранного показателя. В ложе трансплантата также наблюдается увеличение СППК, причем пик выбранного показателя приходится на 14-е сутки. Выбранный показатель в 3,4 раза превышает нормальные значения ($p < 0,01$). В отдаленные сроки происходит сохранение высоких значений СППК: 133% от нормы ($p < 0,05$). Данный факт свидетельствует о перестройке микроциркуляторного русла в области введения биоматериала.

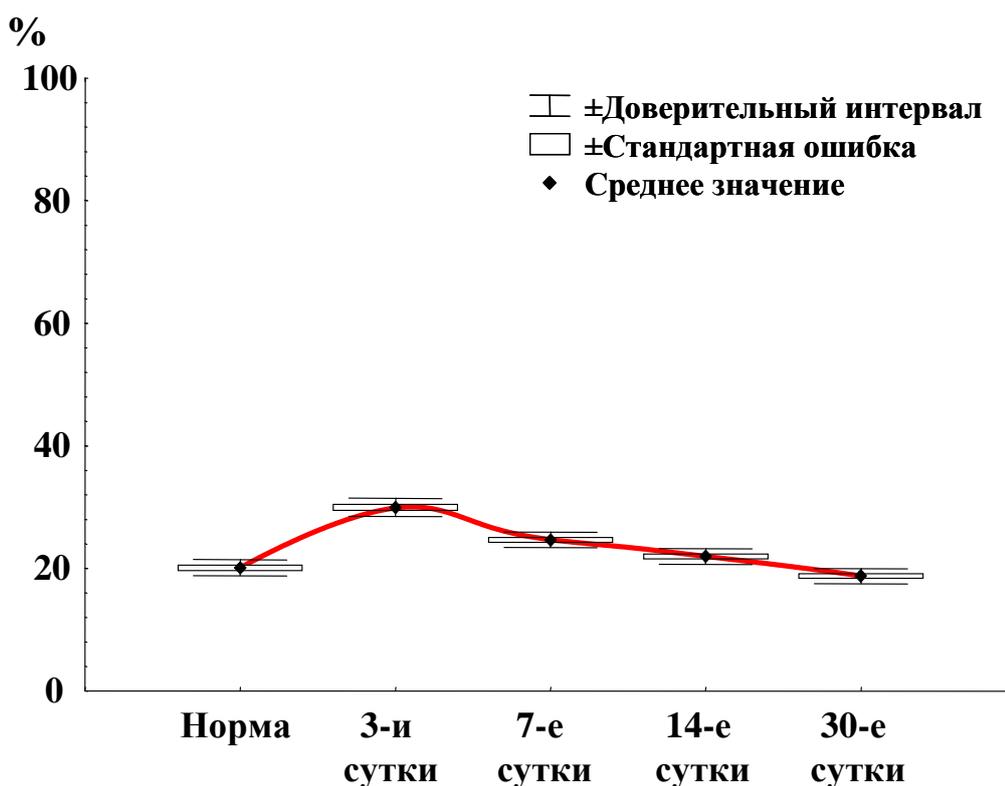


Рис. 54. Динамика изменения экспрессии $TGF\beta-1$ в норме и при акупунктурном введении ДБА в эксперименте на кроликах. Ось абсцисс: норма и число манипуляций соответственно. Ось ординат: показатель, %

В исследованные сроки сохраняется высокая плотность макрофагальной инфильтрации в трансплантате и тканевом ложе, что можно рассматривать как структурный эквивалент высокой биологической активности акупунктурной точки при введении ДБА. Макрофагальная реакция обеспечивает полную резорбцию биоматериала на 30-е сутки. Резорбция частиц ДБА подтверждается при проведении оптико-структурного анализа: в динамике с первых по трид-

цатые сутки эксперимента наблюдается снижение КА коллагеновых волокон в 2,62 раза ($p < 0,01$).

Таким образом, как следует из табл. 3, показатели экспрессии трансформирующего фактора роста в локальных рефлексогенных зонах после 3–7 сеансов акупунктурного воздействия претерпели статистически значимое повышение, а при локальном введении диспергированного аллогенного биоматериала значимых изменений обнаружено не было.

Таблица 3

**ПОКАЗАТЕЛИ РЕАКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ
В ЛОКАЛЬНЫХ РЕФЛЕКСОГЕННЫХ ЗОНАХ
ПРИ АКУПУНКТУРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ И ВВЕДЕНИИ ДБА**

Исходное состояние	3 сеанса	5 сеансов	7 сеансов	Введение ДБА
Экспрессия TGFβ-1				
20,1±1,32	29,9±1,36	36,9±1,48	53,1±1,39	22±1,3
Уровень доверия	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p > 0,05$
Уровень СППК				
129,5±8,28	127,4±10,47	93,6±10,11	62,4±11,67	438,3±10,84
Уровень доверия	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Показатели суммарной площади просвета капилляров в локальных рефлексогенных зонах после акупунктурного воздействия статистически значи-

мо снизились после 5–7 сеансов. Примечательно, что после введения диспергированного аллогенного биоматериала СППК в указанные зоны возрос почти четырехкратно.

Обнаруженная динамика исследованных процессов свидетельствует о подавлении процессов фиброза в локальных рефлексогенных зонах при введении ДБА, что является благоприятным патофизиологическим признаком – акупунктурное введение биоматериалов аллоплант запускает сосудистые и клеточные реакции, завершающиеся их резорбцией.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как было показано в предыдущей главе, после локального и рефлексогенного воздействия на фоне ожога роговицы улучшились базовые показатели ее морфофункционального состояния, о чем свидетельствует статистически значимое повышение показателя митотического индекса эпителиоцитов роговицы, снижение фактора фиброзирования, увеличение коэффициента анизотропии коллагеновых волокон, рост суммарной площади капилляров лимба. Поскольку основной целью представленной работы явилось изучение возможного влияния перилимбального введения и рефлексогенного воздействия диспергированного аллогенного биоматериала Аллоплант на репаративные процессы эпителия и соединительной ткани, полученные результаты подтверждают эффективность выбранных экспериментальных подходов для регенерации роговицы.

Во всех сериях экспериментов унифицированная ожоговая травма привела к развитию реактивных процессов, имеющих выраженный стадийный характер и гистотопографические зоны очага поражения (Kenyon K.P., 1983; Yamada J. et al., 2003; Tatham A., Castillo A., 2008; David S.S., 2008). Так, области ожога соответствовала зона деструкции эпителия, базальной мембраны и поверхностных слоев собственного вещества роговицы, глубина ожоговой травмы достигала 50 мкм. На границе с указанной зоной также происходили выраженные деструктивные процессы, что позволило определить нам выбранную область как краевую зону повреждения (200 мкм). Отражением деструктивных процессов в строме роговицы явилось резкое снижение коэффициента анизотропии (в 2,7 раза в сравнении с нормой ($p < 0,01$)). По периферии от контактной зоны выявились реактивные процессы в виде пролиферации кератобластов, макрофагов, лейкоцитов.

Приведенную область мы определили как реактивную зону, ее границы распространяются до 500 мкм от контактной зоны. В периферической зоне роговицы на светооптическом уровне изменения не определяются, что позволило нам отнести описанную область к условно интактной зоне. Подобное определение используется нами с известными допущениями, поскольку ожоговая травма, несомненно, приводит к реактивным процессам во всей роговице, а также в перилимбальной области, где также наблюдаются сосудистые и клеточные реакции. Выделенные нами гистотопографические зоны при ожоговой травме роговицы, в целом, соответствуют таковым на фоне экспериментальной механической травмы (Максимов И.Б., 1988; Пучковская Н.А. с соавт., 2001).

Выраженность указанных зон и динамика репаративных процессов зависела от серии экспериментов. Комплекс морфологических и гистохимических методов в комбинации с оптико-структурным анализом позволил определить ряд закономерностей в указанных сериях экспериментов.

В контрольной серии наблюдается выраженная сосудистая реакция в перилимбальной области, проявляющаяся в увеличении СППК уже через час после ожога роговицы. Пик роста выбранного показателя приходится на 7-е сутки, когда суммарный просвет капилляров в 2,5 раза превышает норму ($p < 0,05$). Высокий уровень СППК обусловлен при этом не только дилатацией сосудов краевой петливой сети, но и включением в кровоток покоившихся в норме сосудистых терминалей. В настоящее время доказано, что лимб является одним из основных источников питания роговицы и обеспечивает процессы физиологической и репаративной регенерации. Доказано, что в лимбальной области располагаются стволовые клетки роговицы, способные к миграции (Tseng S.C.G., 1996; Вит В.В., 2003). Поэтому адекватное кровоснабжение лимба является необходимым для обеспечения его репаративной функции по отношению к структурам роговицы (Boulton M.E. et al., 2007; Ruberti J.W. et al., 2007).

Как было отмечено ранее, динамика репаративных процессов в самой роговице в разных сериях экспериментов неодинакова. Так, передний эпителий восстанавливается с неодинаковой скоростью в разных сериях опытов. При этом в контрольной серии эпителий, характерный для нормальной роговицы, обнаруживается лишь на 14-е сутки эксперимента. Тогда как уровень PCNA в ядрах эпителиоцитов нормализуется уже на 7-е сутки. Перилимбальное введение ДБА запускает механизмы, приводящие к более раннему восстановлению структуры переднего эпителия. Уже на 7-е сутки в гистологических препаратах обнаруживается 3–4-слойный эпителий. Однако уровень PCNA в данной серии нормализуется также на 7-е сутки эксперимента. Известно, что PCNA (ядерный антиген пролиферирующих клеток) является адекватным показателем пролиферации клеток переднего эпителия роговицы (Yew D.T. et al., 2001).

В собственном веществе роговицы в контрольной серии на 3-и сутки наблюдается выраженный отек. При этом происходит вовлечение средних и глубоких слоев *substantia propria* роговицы в воспалительный процесс. К 14-м суткам коллагеновые волокна указанных структур имеют одноосную ориентацию. При этом наблюдается снижение оптической активности поверхностных слоев собственного вещества. Так, на 14-е сутки КА собственного вещества роговицы в контрольной серии восстанавливается лишь на 72,3% ($p < 0,05$).

Очевидно, в проведенных нами экспериментах включаются два основных типа саногенетических механизмов локальный и рефлексогенный.

При перилимбальном введении ДБА нормализация оптических свойств роговицы происходит на 7-е сутки после ожога, что подтверждается результатами оптико-структурного анализа: КА на 7-е сутки составляет 94% от нормы ($p < 0,05$). Известно, что высокая оптическая активность отражает морфологическую и функциональную зрелость коллагеновых структур (Павлова В.Н. с соавт., 1998; Bron A. et al., 2001). В серии с перилимбальным введением ДБА на 7-е сутки происходит восстановление всех слоев собственного вещества роговицы. Возможно, наблюдаемые явления объясняются тем, что средние

и глубокие слои собственного вещества роговицы на ранних этапах воспаления не вовлекаются в патологический процесс.

В области лимба при локальном введении ДБА наблюдается полиморфно-клеточная инфильтрация и расширение всех элементов микроциркуляторного русла. В инфильтрате представлены макрофаги и недифференцированные соединительнотканые клетки. СППК на фоне перилимбальной инъекции биоматериала на 3-и сутки возрастает в 2,1 раза в сравнении с нормой ($p < 0,05$). По данным Р.А. Гундоровой с соавт. (2005) продукты химической деструкции клеток и коллагена вызывают выраженную вазомоторную реакцию сосудов краевой петливой сети в ранние сроки. В дальнейшем воспалительная сосудистая дилатация сменяется процессами неоангиогенеза. Так, СППК на 7-е сутки в данной серии составляет 279% от нормы ($p < 0,05$). Известно, что уровень кровоснабжения лимбальной области во многом определяет исходы регенерации роговицы (Binder, P.S. et al., 1983; Dua H.S. et al., 1994).

Перилимбальное введение ДБА приводит к незначительному увеличению уровня $TGF\beta-1$ в собственном веществе роговицы в ранние сроки. При этом $TGF\beta-1$ обнаруживается, в основном, в цитоплазме фибробластов различной степени дифференцировки и клеток моноцитарно-макрофагальной системы. На 7-е сутки после локального введения ДБА происходит нормализация содержания $TGF\beta-1$ в ткани роговицы. По-видимому, это объясняется механизмом действия биоматериалов Аллоплант. Через систему макрофагов приведенные биоматериалы влияют на пролиферативную и синтетическую активность фибробластов (Муслимов С.А., 2000). Тогда как в контрольной серии наблюдается нарастание титра выбранного цитокина. Указанный факт определяет тенденцию к образованию рубца (бельма) на роговице в контроле, что подтвердилось при макромикроскопии. Доказано, что высокие титры $TGF\beta-1$ в роговице приводят к образованию фиброзной ткани в области дефекта (Lee J. et al., 2008). Таким образом, перилимбальное введение ДБА, нормали-

зуя экспрессию TGF β -1 в собственном веществе роговицы, предупреждает развитие бельма на фоне химического ожога.

Результаты проведенных исследований доказывают положительный эффект от локального введения биоматериалов Аллоплант при лечении патологии роговицы. Данные биоматериалы обладают выраженным стимулирующим действием на репаративные процессы в роговице. Установлено, что продукты распада экзогенного коллагена и комплекса протеогликанов, входящих в состав биоматериалов Аллоплант, оказывают стимулирующее влияние на регенерацию соединительной ткани за счёт усиления макрофагальной активности (Муслимов С.А., 2000; Fang Y., 2004), стимуляции фибриллогенеза (Zheng M.H. et al., 2005).

Известно также, что биоматериалы Аллоплант при их локальном введении стимулируют пролиферацию аутологичных малодифференцированных соединительнотканых клеток, в том числе мезенхимальных стволовых клеток (Курчатова Н.Н. с соавт., 2005). В публикациях целого ряда авторов показано, что в области лимба располагаются роговичные стволовые клетки, которые активируются в процессе репаративной регенерации и способны мигрировать к центральным зонам роговицы (Tseng S.C.G., 1996; Вит В.В., 2003). По-видимому, одним из механизмов реализации эффекта перилимбального введения ДБА, является активизация лимбальных стволовых клеток, которые мигрируют в очаг поражения и участвуют в репаративных процессах.

Мы полагаем, что рефлексогенное воздействие ДБА на локальные рефлексогенные параорбитальные зоны включает иного рода патофизиологические механизмы. Как было рассмотрено в разделе 1.2. обзора диссертации, глазное яблоко и параорбитальная область имеют чрезвычайно богатую чувствительную, двигательную и вегетативную иннервацию, обеспечивающуюся двумя основными мощными источниками – лицевым и тройничным нервами (Лиманский Ю.П., 1983; Вальдман А.В., Цырлин В.А., 1981; Сомов Е.Е., 2005; Румянцева О.А. с соавт., 2005 г. и др.). Поэтому есть все основания полагать,

что рефлексогенное воздействие на параорбитальные локальные зоны активирует стволовые механизмы вегетативной регуляции структур глаза за счет афферентных входов, осуществляющихся за счет чувствительных корешков тройничного и лицевого нервов. Классическими нейрофизиологическими и нейроморфологическими работами указанных выше авторов показано, что эти нервы участвуют в регуляции гемо- и гидродинамики глаза, а также его трофических функций. Это и приводит в конечном счете к запуску обнаруженных в нашем исследовании процессов – фармакопунктура с введением ДБА оптимизирует также процессы репаративной регенерации в строме роговицы. Так, в данной серии опытов наблюдается менее выраженный отек собственного вещества роговицы. Выявленные на 3-и сутки воспалительные явления в средних и глубоких слоях собственного вещества роговицы спадают, и уже на 7-е сутки КА собственного вещества роговицы восстанавливается на 63% ($p < 0,05$). При этом в контрольной серии поляризационно-оптические свойства роговицы восстанавливаются лишь на 44 % ($p < 0,05$).

Акупунктурное введение ДБА в ранние сроки также сопровождается незначительным увеличением уровня $TGF\beta-1$ в собственном веществе роговицы. Указанный цитокин обнаруживается в цитоплазме фибробластов и макрофагов. На 7-е сутки в приведённой серии опытов происходит нормализация содержания $TGF\beta-1$ в ткани роговицы.

Таким образом, акупунктурное и перилимбальное введение ДБА, нормализуя экспрессию $TGF\beta-1$ в собственном веществе роговицы, ограничивают развитие бельма на фоне химического ожога.

Более конкретной нейрофизиологической базой обнаруженных эффектов, как мы полагаем, является эфферентная симпатическая иннервация глаза выходными нейронами боковых рогов последнего шейного и двух верхних грудных сегментов и эфферентная парасимпатическая иннервация нейронов ядра Якубовича среднего мозга.

В историческом аспекте представляет интерес концепция тканевой терапии В.П. Филатова (1961). Как своеобразное развитие данной теории на современном этапе можно рассматривать работы Г.Н. Крыжановского (2002), который сформулировал концепцию единой трофической системы организма. С указанных позиций пересадку биоматериалов Аллоплант, основу которых составляют нейрофизиологические механизмы, можно рассматривать как региональный трофический контур. В работах современных авторов весь комплекс информационных и энергетических взаимодействий при рефлексотерапии рассматривается на основе теории функциональных систем (Василенко А.М., 1997; Зилов В.Г., Судаков К.В., 2000; Карымов Н.Р., Касаткина И.Ю., 2007).

Сосудистые изменения в области лимба при акупунктурном введении имеют свои закономерности. Так, в ранние сроки эксперимента наблюдается резкий подъем уровня СППК. На 3-и сутки выбранный показатель в 2,5 раза превышает нормальные значения ($p < 0,05$), что на 20% выше, чем в серии с перилимбальным введением ДБА ($p > 0,05$). Возможно, данный факт объясняется рефлекторным механизмом действия акупунктуры на сосуды краевой петливой сети (Niboyet J., 1982; Johnson M., Martinson M., 2007). Затем на 7-е сутки происходит увеличение просвета капилляров до 321% от нормы ($p < 0,05$). Следует отметить, что в данной серии уровень СППК, главным образом, обусловлен вазодилатацией и включением в кровоток ранее нефункционирующих сосудистых терминалей. В отличие от локального (перилимбального) введения биоматериала Аллоплант в данной серии явления неоангиогенеза минимальны.

Таким образом, полученные экспериментальные данные по локальным реакциям в коже при акупунктурном введении ДБА и результаты исследования репаративных процессов в роговице при химическом ожоге на фоне акупунктурного введения ДБА, позволяют определить возможные морфофункци-

ональные механизмы реализации эффекта фармакопунктуры с использованием изучаемого биоматериала.

Основными клеточными факторами фармакопунктуры с использованием ДБА являются:

– макрофагальная реакция в тканевом ложе и в биоматериале. Макрофаги через комплекс цитокинов оказывают регулирующее влияние на терминальное сосудистое русло, различные клеточные популяции, динамику резорбции биоматериала (Пальцев М.А., 1995; Муслимов С.А., 2000);

– тучные клетки – дегрануляция лаброцитов сопровождается выделением гистамина, одного из факторов развития воспалительной реакции с широким распространением в тканевом ложе;

– эозинофилы локализуют воспалительный процесс. При введении биоматериала Аллоплант они доминируют над тучными клетками и тем самым создают условия для локальной реакции тканей в области трансплантата;

– мобилизуются регионарные стволовые и малодифференцированные клетки. По нашим данным наибольшую пролиферативную активность проявляют глубокие слои гиподермы, соединительнотканного футляра подкожной мышцы, что согласуется с результатами исследований Р.К. Данилова (2001), который на модели ранения кожи в гиподерме обнаруживал клетки, меченные НЗ-тимидином.

На основе результатов собственных исследований и литературы можно утверждать, что указанные клеточные компоненты выделяют широкий спектр биологически активных веществ, воздействующих на нервные рецепторы, в том числе на рецепторы кровеносных сосудов, а также увеличивают скорость циркуляции тканевой жидкости. При этом в нервных рецепторах происходит кодирование информации и её последующая передача по нервным путям. Представленная схема отражает многозвеньевую передачу информации и соподчиненность механизмов фармакопунктуры принципу структурно-функциональной регуляции (Василенко А.М., 1997). Таким образом, локальная

и акупунктурная трансплантация биоматериалов Аллоплант, выступая в качестве своеобразного межклеточного информационного экрана, мобилизует многочисленные биоактивные молекулы тканей и клеток, через которые реализуется терапевтический эффект фармакопунктуры. Известные на сегодня основные морфофункциональные взаимодействия при фармакопунктуре с использованием биоматериала Аллоплант, в целом, вписываются в современные теории функциональных систем (Зилов В.Г., Судаков К.В., 2000) и дизрегуляторной патологии (Крыжановский Г.Н., 2002).

Другим возможным механизмом действия ДБА при его акупунктурном введении является стимуляция подкорковых структур: гипоталамус, гипофиз и др. Известно, что воздействие на ТА приводит к активации гипофизарно-надпочечниковой, симпатoadреналовой, калликреин-кининовой систем (Johnson M., Martinson M., 2007; Linde K. et al., 2007). В этой связи уместно вспомнить концепцию А.А. Стадникова (1995–2008) об адаптогенной роли нейропептидов крупноклеточных ядер гипоталамуса в оптимизации процессов репаративной регенерации. Данный факт объясняет более выраженную реакцию сосудов краевой петливой сети при акупунктурном введении ДБА в сравнении с его перилимбальной инъекцией. Так, по данным Г.А. Иваничева (2004), одним из механизмов акупунктуры является активация длиннопетлевых рефлекторных комплексов, которые приводят, в том числе, к изменению вегетативного тонуса. Автор также отмечает, что эти рефлекторные ответы имеют большое латентное время (часы и сутки).

Полученные нами данные по оптимизации репаративной регенерации эпителия и стромы роговицы при локальном (перилимбальном) и акупунктурном введении диспергированного материала подтверждают роль как местных факторов репарации, так и системных механизмов в реализации морфогенеза.

Полученные в эксперименте результаты реализованы в клинической практике Всероссийского центра глазной и пластической хирургии и целого ряда клиник традиционной медицины и реабилитации. Таким образом, настоящее

исследование можно рассматривать как комплексную экспериментальную и клиническую работу, в основе которой – изучение патофизиологических механизмов при трансплантации диспергированных форм биоматериалов.

Проведенные нами клинические испытания представляемой технологии Аллоплант полностью подтвердили высокую эффективность локального введения ДБА и фармакопунктуры при лечении травматических поражений роговицы и склеры.

Метод фармакопунктуры с использованием биоматериалов Аллоплант также продемонстрировал положительные результаты при лечении последствий травм, врожденных соединительно-тканых дисплазий и других видах патологии органа зрения.

Исследование экспрессии TGF β -1 показало его резкое (в 15 раз) увеличение после ожога с пиком на 7-е сутки. Локальное введение ДБА вызвало статистически достоверное снижение с минимумом на 7-е сутки и достижением исходного уровня. При акупунктурном воздействии динамика экспрессии TGF β -1 оказалась несколько менее выраженной на 3-и сутки, и значимой – на 7-е сутки.

Коэффициент анизотропии коллагеновых волокон роговицы после ожога резко снизился с минимумом показателя на 3-и сутки. Локальное введение ДБА привело к тому, что на 7-е сутки показатель практически достиг исходного уровня. Акупунктурное воздействие вызвало наиболее выраженный рост показателя на 7-е сутки.

Суммарная площадь просвета капилляров лимба после ожога увеличилась двукратно на 3-и сутки с пиком на 7-е сутки. Как при локальном, так и акупунктурном воздействии во все сроки эксперимента обнаружено достоверное увеличение исследуемого показателя микроциркуляторного русла лимба относительно контроля.

Исследование процессов регенерации роговицы и поиск путей оптимизации этих процессов остается актуальной проблемой как патофизиологии, так и практической офтальмологии. Основные морфофункциональные особенно-

сти роговицы – оптическая прозрачность в сочетании с низкой васкуляризацией и обеспечение значительной части метаболизма за счет гидродинамики глаза определяют ее регенераторные способности. В то же время, как показал анализ литературы, оптимизация процессов регенерации роговицы с вовлечением местных метаболических и рефлексогенных механизмов, изучена недостаточно, что и определило направление наших дальнейших исследований.

В последние годы сформировалось самостоятельное направление в трансплантации тканей, которое предполагает введение биоматериалов с учетом принципов и опыта традиционной медицины (Гурьянов А.А., 1987; Василенко А.М., 1983, 1985, 1997; Путилина Н.Е., 2001; Мулдашев Э.Р. с соавт., 2004). Эффективность акупунктурной терапии и ее модификаций в виде фармакопунктуры с использованием различных биологически активных препаратов доказана при лечении различных видов патологии органа зрения (Южаков А.М., 1998; Анисимова С.Ю., Анварул А., 2006).

В настоящей работе проводится сравнительный анализ двух медицинских технологий: с одной стороны трансплантации тканей как современного направления европейской медицины, с другой стороны - фармакопунктуры как направления традиционной восточной медицины, с целью определения возможностей их использования для стимуляции репаративных процессов в роговице. В последние годы попытки интеграции двух указанных разделов медицины предпринимались многократно. Так, в серии публикаций Ю.В. Готовского, К.Н. Мхитаряна (1999), традиционная акупунктура обосновывается с позиций современной экспериментальной физиологии и патологии. Как правило, в подобных работах принципы традиционной медицины рассматриваются на основе концепции функциональных систем (Василенко А.М., 1997). При выполнении указанных исследований, с целью раскрытия механизмов иглорефлексотерапии и фармакопунктуры, используются функциональные, нейрофизиологические и биофизические методы исследования (Адаменко Ю.И., 1969; Агасаров Л.Г., 2002). В то же время ограничено число публикаций по указанным проблемам, выполненных

с использованием экспериментально-морфологических методов. Восполнить данный пробел – одна из задач данной работы.

На первом этапе нашего исследования были изучены реактивные процессы в коже при акупунктурном введении диспергированного биоматериала Аллоплант. В качестве контроля выбрана методика классической иглорефлексотерапии.

Известно, что фармакопунктура с использованием различных биоматериалов, является перспективным направлением традиционной медицины (Агасаров Л.Г., 2002) и рассматривается рядом исследователей как адекватный метод лечения патологии органа зрения (Болдин А.В., 2005; Nielsen A., 2006).

Термин «акупунктурная точка» является категорией многомерной и может рассматриваться с нескольких позиций: биофизической, клинической, а также морфофункциональной. В настоящее время изучены анатомо-физиологические особенности ТА в различных аспектах (Сыч Н.Н., 2002; Самосюк И.З., Лысенко В.П., 2004; Liertzner H., 2006; Robinson N., 2006; Lu Y., 2009). При этом остаются недостаточно раскрытыми реактивные процессы, протекающие в биологически активных точках при иглорефлексотерапии и фармакопунктуре с использованием различных биоматериалов. Именно экспериментально-морфологическое исследование, на наш взгляд, определит возможность применения фармакопунктуры с использованием ДБА при химических ожогах роговицы. При этом биофизические методы использованы нами для идентификации ТА.

Результаты контрольной серии исследований (классическая иглорефлексотерапия) позволили выявить зависимость между числом сеансов иглоукалывания и патоморфологическими изменениями в коже. Так, при минимальном числе сеансов акупунктуры, в области дефекта кожи наблюдается пролиферация неоформленной волокнистой соединительной ткани и отдельных звеньев микроциркуляторного русла. При подсчете СППК в контактной зоне сетчатого слоя дермы наблюдается увеличение выбранного показателя в сравнении с нормой.

Данные иммуногистохимического исследования в первой серии опытов по иглорефлексотерапии свидетельствуют о нормальном уровне TGF β -1 в контактной зоне сетчатого слоя дермы, что является благоприятным прогностическим признаком. В работах ряда авторов показано ангиогенное действие нормальных титров TGF β -1, и способность к индукции пролиферации грануляционной ткани при заживлении ран (Roberts A.B. et al., 1990; Halper J. et al., 2005).

Во второй серии опытов (4-7 сеансов классической иглорефлексотерапии) уровень TGF β -1 в два раза выше значений, полученных в сетчатом слое дермы в норме ($p < 0,05$), что согласуется с результатами исследований других авторов о морфогенетической роли TGF β -1. Так, известно, что данный цитокин является фиброгенным агентом, стимулирующим синтез основного вещества соединительной ткани (Sporn M.B., Roberts A.B., 1990). При этом высокие титры TGF β -1 задерживают новообразование сосудов (Klagsbrum M., 1989; Saunders K.B., D'Amore P.A., 1991). М.А. Пальцев и А.А. Иванов (1995) отмечают, что избыток TGF β -1 приводит к чрезмерной продукции волокнистого компонента соединительной ткани. Таким образом, высокий уровень трансформирующего фактора роста в очаге приводит к локальному фиброзу посредством двух механизмов: торможение роста сосудов, избыточный синтез волокон соединительной ткани.

По-видимому, вследствие хронической травматизации, наносимой акупунктурной иглой, наблюдается тенденция к образованию грубоволокнистой соединительной ткани с высокой плотностью упаковки коллагеновых волокон и низким уровнем васкуляризации. В пользу приведенного заключения говорят результаты подсчета СППК в контактной зоне сетчатого слоя дермы в данной группе опытов, значения которой в 1,4 раза ниже нормального ($p < 0,05$).

В третьей серии опытов по иглорефлексотерапии с максимальным числом сеансов (8-10 процедур) происходит формирование грубоволокнистой соединительной ткани в стенках раневого канала. Наряду с этим происходит

утолщение сосочкового слоя дермы в 1,5 раза ($p < 0,05$). Показатели СППК в контактной зоне свидетельствуют о низком уровне кровоснабжения дермы. Уровень TGF β -1, в выбранной группе опытов в 2,6 раза превышает нормальные значения ($p < 0,01$). Приведенный факт отражает рубцовый характер ткани, образующейся в месте хронической травматизации. Следует отметить, что стенка раневого канала имеет неоднородное строение. Так, к детриту прилежит участок шириной до 80 мкм, представленный рыхлой неоформленной соединительной тканью. Примечательно то, что в этой зоне обнаруживается относительно большее количество эозинофилов. Как известно, эозинофилы являются клетками, ограничивающими воспалительный процесс (Серов В.В., Пауков В.С., 1995). При этом, выбранная клеточная популяция рассматривается как антагонист лейкоцитов и базофилов крови, которые обуславливают системные воспалительные реакции и генерализацию воспалительного процесса (Серов В.В., Шехтер А.Б., 1981; Серов В.В., Пауков В.С., 1995). Также доказана важная роль эозинофилов в образовании плотной соединительнотканной капсулы при некоторых формах хронического воспаления (Черешнев В.А., 2004). Далее в периферическом направлении следует слой плотной неоформленной грубоволокнистой соединительной ткани (фиброз) толщиной до 120 мкм – результат хронической травматизации. Затем обнаруживается условно-интактная зона шириной до 300 мкм с незначительно большим содержанием клеточных элементов в сравнении с нормальным сетчатым слоем дермы.

В описываемой контрольной серии также наблюдаются изменения в области гиподермы. Наиболее реактивно на хроническую микротравматизацию реагируют структуры кожной мышцы. При этом в области дефекта мышцы образуется соединительнотканый регенерат, ширина и плотность которого также зависит от кратности процедур иглорефлексотерапии.

Таким образом, результаты выполненных исследований соответствуют данным Е.Б. Новикова с соавт. (2004), которые также указывают на формирование локального рубца в коже в области многократно проводимой акупунктуры.

В следующей опытной серии исследований изучались реактивные процессы в коже при введении ДБА в акупунктурную точку. При этом выявлены клеточные и сосудистые реакции в дерме и гиподерме, которые достигают своего максимума на 7-е сутки и постепенно снижаются в более поздние сроки. Выявленные нами топографо-анатомические закономерности распределения диспергированных биоматериалов при их инъекционном введении показали широкое распространение фрагментов ДБА в следующих соединительнотканых структурах: сосочковый слой дермы, сетчатый слой дермы, поверхностная фасция (гиподерма), кожная мышца, собственная фасция. При этом реактивность слоев кожи и подлежащей соединительной ткани распределяется в следующей последовательности: сетчатый слой дермы→сосочковый слой дермы→соединительнотканый футляр кожной мышцы→гиподерма.

Известно, что динамику морфогенетических процессов в значительной степени определяет состояние микроциркуляторного русла (Чернух А.М., 1975, 1979). Так, при акупунктурном введении ДБА в перифокальной зоне сосочкового слоя дермы в ранние сроки наблюдается четырехкратное увеличение СППК ($p < 0,01$). Начиная с седьмых суток, происходит постепенное уменьшение выбранного показателя.

В зоне введения биоматериала в ранние сроки эксперимента также происходит увеличение СППК, причем пик выбранного показателя приходится на 14-е сутки, когда приведенный показатель в 3,4 раза превышает нормальные значения ($p < 0,01$). В отдаленные сроки происходит сохранение высоких значений СППК: 133% от нормы ($p < 0,05$). Данный факт свидетельствует о перестройке микроциркуляторного русла и о процессах неоангиогенеза в области введения биоматериала. Таким образом, одним из аспектов биологического действия ДБА является стимуляция новообразования сосудов. Полученные нами результаты подтверждают данные В.В. Серова (1995) о важной роли адекватного кровоснабжения тканевого ложа в резорбции биоматериала макрофагами и в регенерации тканей.

В исследованные сроки сохраняется высокая плотность макрофагальной инфильтрации в трансплантате и тканевом ложе, что можно рассматривать как структурный эквивалент высокой биологической активности акупунктурной точки при введении ДБА. Считается доказанным, что клеточная реакция на биоматериал зависит от его химической природы (Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А., 1996). В частности, известно, что коллаген, гликозаминогликаны, протеоглики и гликопротеины являются короткодистантными регуляторами различных морфогенетических процессов и, в том числе, фибриллогенеза (Юдина Н.А., Радостина А.И., 1990, Шехтер А.Б., 1991). И в этой связи следует отметить, что ДБА содержит 75% коллагена и 3,5 % протеогликанов и гликозаминогликанов (Хасанов Р.А., 1999), что, по-видимому, и обеспечивает его высокую биологическую активность.

В эксперименте по акупунктурному введению ДБА макрофагальная реакция обеспечивает полную резорбцию исследуемого вида биоматериала на 30-е сутки, что подтверждается результатами поляризационно-оптического анализа. В финале репаративных процессов снижается плотность макрофагальной инфильтрации. Таким образом, макрофаги, выполнив свои функции (резорбция биоматериала, регуляция фибриллогенеза и др.), исчезают из очага воспаления (Серов В.В., 1995).

Гистохимические исследования сетчатого слоя дермы на фоне акупунктурного введения ДБА также отражают положительную динамику репаративных процессов. Так, в ранние сроки эксперимента, наблюдается незначительное увеличение содержания TGF β -1 в области введения ДБА. Приведенный цитокин обнаруживается в цитоплазме активированных макрофагов и фибробластов в зонах резорбции биоматериала. Показатель, отражающий содержание TGF β -1 в ткани, в 1,49 раза превышает нормальные значения на 3-и сутки эксперимента ($p < 0,01$). Начиная с 7-х суток, экспрессия TGF β -1 в области введения ДБА постепенно снижается и полностью нормализуется на 30-е сутки. Полученные нами данные согласуются с результатами исследований А.В.

Roberts, M.B. Sporn (1990) и J. Halper et al. (2005), которые показали ангиогенное действие нормальных титров TGF β -1 и способность к индукции образования грануляционной ткани при заживлении ран.

Сравнительный анализ результатов двух указанных серий экспериментов позволил сформулировать следующее заключение. Введение диспергированного биоматериала Аллоплант в биологически активные точки мобилизует целый комплекс сосудистых и клеточных реакций, которые проявляются в полиморфной инфильтрации с участием макрофагов и процессами ангиогенеза с последующей резорбцией волокнистого матрикса биоматериала. Причем, наиболее выражены явления клеточной пролиферации в глубоких слоях дермы, поверхностной фасции и кожной мышце. Следует также отметить, что подсадка аллогенных биоматериалов активирует различные клеточные популяции и, в том числе, миосателлиты, что согласуется с результатами работы А.А. Стадникова с соавт. (2009).

Вероятные патофизиологические механизмы оптимизации регенерации роговицы при экспериментальном химическом ожоге роговицы при локальном и рефлексогенном воздействии представлены на рис. 55. Согласно схеме, в оптимизации процессов регенерации роговицы участвуют два основных патофизиологических механизма – локальный и рефлексогенный. Более подробно обсуждение этих механизмов представлено в тексте.

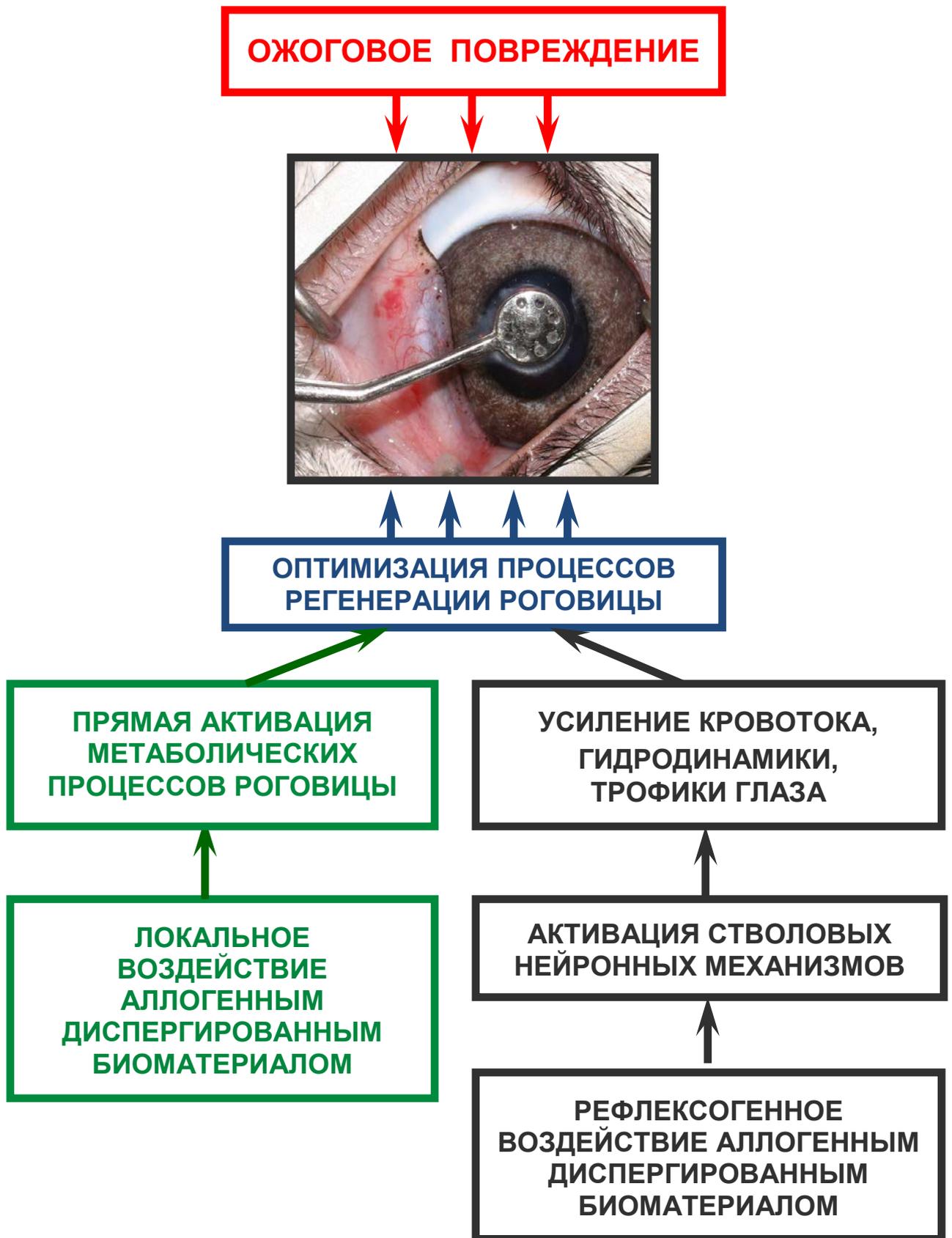


Рис. 55. Возможный механизм оптимизации регенерации роговицы при экспериментальном химическом ожоге методом локального и рефлексогенного воздействий ДБА

ВЫВОДЫ

1. Экспериментальное моделирование химического ожога роговицы приводит к некрозу тканей в контактной зоне с последующим развитием воспалительных процессов. Нарушение структуры собственного вещества роговицы проявляется достоверным снижением коэффициента анизотропии до 44% от исходного уровня на 7-е сутки. Нормализация переднего эпителия происходит на 14-е сутки эксперимента, а пролиферативная активность эпителиоцитов восстанавливается на 7-е сутки.

2. Локальное перилимбальное введение оптимизирует репаративные процессы, что проявляется нормализацией поляризационно-оптических свойств собственного вещества роговицы в ранние сроки, коэффициент анизотропии статистически значимо возрастает, достигая на 7-е сутки 94% от исходных значений. Восстановление прозрачности роговицы определяют ранняя нормализация экспрессии трансформирующего фактора роста в собственном веществе роговицы и мобилизация микрососудов в области лимба со статистически значимым увеличением суммарной площади просвета капилляров на 7-е сутки эксперимента.

3. Рефлексогенное воздействие диспергированным аллогенным биоматериалом оптимизирует механизмы репаративной регенерации роговицы, о чем свидетельствует нормализация митотического индекса на 7-е сутки эксперимента. В эти же сроки достигает нормы экспрессия трансформирующего фактора роста в собственном веществе роговицы, снижая вероятность развития фиброза в зоне химического ожога. Коэффициент анизотропии коллагеновых волокон на 7-е сутки достигает 63% от нормы, отражая динамику восстановления функционально адекватных структур.

4. Как локальное, так и акупунктурное введение аллогенного диспергированного биоматериала является эффективным методом стимуляции репара-

тивных процессов в соединительной и эпителиальной тканях, что показано на модели регенерации роговицы.

5. Курс классической иглорефлексотерапии (10 сеансов) в эксперименте приводит к выраженным локальным сосудистым и клеточным реакциям в дерме и гиподерме с формированием в области микротравмы грубоволокнистой соединительной ткани, что подтверждается повышением уровня TGF β -1 (в 2,64 раза выше нормы), а также низкой плотностью микроциркуляторного русла (двукратное уменьшение СППК).

6. Рефлексогенное воздействие с ДБА приводит к комплексу сосудистых и клеточных реакций, не сопровождающихся фиброзом в области инъекции. При этом СППК в зоне акупунктуры превышает нормальные значения на уровне сетчатого слоя дермы в 1,33 раза. Уровень TGF β -1, отражающий пролиферацию соединительной ткани, незначительно увеличивается при введении ДБА и к 30-м суткам эксперимента полностью нормализуется. Это подтверждает эффективность предпринятой попытки оптимизации процессов регенерации роговицы выбранным фармакопунктурным методом.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для стимуляции репаративной регенерации стромы и эпителия при повреждениях роговицы необходимо локальное перилимбальное введение аллогенного диспергированного биоматериала.

2. Для оптимизации и пролонгирования восстановительных процессов в структурах переднего отрезка глаза необходимо воздействие на локальные рефлексогенные зоны аллогенным диспергированным биоматериалом.

3. С целью достижения пролонгированного эффекта и для профилактики и рассасывания рубцов в области биологически активных зон кожи необходимо фармакопунктурное введение аллогенного диспергированного биоматериала.

4. Новизна разработанного метода подтверждена патентом РФ (№ 2238076 от 12.05.2003 г. «Способ лечения и профилактики заболеваний воздействием на биологически активные точки и зоны» Мулдашев Э.Р. с соавт.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов В. Г. Болезнь трансплантата роговицы.– Ярославль: Верх.-Волж. кн. изд-во,1972. – 215 с.
2. Абрамов В. Г. К вопросу об иннервации роговицы // Офтальмол. журн. – 1959. – № 6. – С. 358–362.
3. Агасаров, Л.Г. Фармакопунктура (фармакопунктурная рефлексотерапия) / Л.Г. Агасаров. – М.: Арнебия, 2002. – 208 с.
4. Адаменко, Ю.И. Об энергетическом потенциале организма в состоянии гипноза (измерение проводимости точек акупунктуры) / Ю.И. Адаменко // Вопросы биоэнергетики: материалы научно-методического семинара. – Алма-Ата: Каз. гос. ун-т, 1969. – 82 с.
5. Акимочкина, В.А. Применение иглоукалывания при глаукоме / В.А. Акимочкина // Вестник офтальмологии. – 1961. – № 5. – С. 50–55.
6. Анисимова, С.Ю. Иглорефлексотерапия в лечении глазных заболеваний / С.Ю. Анисимова, А. Анварул // Офтальмология. – 2006. – Т. 3, № 2. – С. 72–74.
7. Бабаева, А.Г. Иммунология восстановительных процессов / А.Г. Бабаева // Современные процессы регенерации. – Йошкар-Ола, 1982. – 298 с.
8. Бабушкин, А.Э. Способ моделирования сосудистого бельма на экспериментальных животных / А.Э. Бабушкин, Г.Г. Хафизов // Актуальные проблемы офтальмологии. – Уфа, 1996. – С. 378–380.
9. Белозерова, З.Н. Акупунктура в лечении атрофии зрительного нерва и «сухих» форм центральной дистрофии сетчатки / З.Н. Белозерова // Лазерные методы лечения и ангиографические исследования в офтальмологии. – М., 1983. – С. 241–245.
10. Беляев В. С. Склеропластика в лечении прогрессирующей миопии. – М.: Изд-во Ин-та дружбы народов, 1977. – 229 с.

11. Биомеханические и морфофункциональные изменения структур кожи в патогенезе раневого процесса / В.В. Малышев, И.А. Буланкина, В.Ю. Лебединский [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2008. – № 2. – С. 21–23.
12. Биомеханические принципы восстановления структур мягкого остова с использованием биоматериалов / Э.Р. Мулдашев, Р.Т. Нигматуллин, В.У. Галимова [и др.] // Морфология. – 2009. – Т. 136, № 4. – С. 102–103.
13. Болдин, А.В. Фармакопунктура в восстановительной коррекции функционального состояния при вертеброгенных нейрососудистых синдромах: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – 23 с.
14. Вальдман, А.В. Вегетативные механизмы ствола / А.В. Вальдман, В.А. Цырлин // Физиология вегетативной нервной системы. – Л.: Наука, 1981. – С. 341–372.
15. Валькова, И.В. Применение электропунктурной рефлексотерапии при близорукости / И.В. Валькова, О.Ю. Нюренберг // Вестник офтальмологии. – 1989. – № 1. – С. 33–35.
16. Вандан, А.Я. Морфологические особенности биологически активных точек / А.Я. Вандан, В.К. Зальцмане // Проблемы клинической биофизики. – Рига, 1977. – С. 5–57.
17. Василенко, А.М. Влияние рефлексотерапии на иммунную систему (обзор) / А.М. Василенко, Р.А. Дурияня // МРЖ. Разд. IX. – 1983. – № 1. – С. 12–19.
18. Василенко, А.М. Нейроиммунные механизмы акупунктуры и фармакопунктурная нейроиммуномодуляция / А.М. Василенко // Акупунктура. Научные и практические достижения: юбилейный сборник научных трудов Научно-исследовательского института традиционных методов лечения МЗРФ / науч. ред.: д.м.н. С.А. Радзиевский, к.б.н. Л.М. Чувильская. – Смоленск: Гомеопатическая медицина, 1997. – С. 48–58.

19. Василенко, А.М. Основные принципы адаптогенного действия рефлексотерапии / А.М. Василенко // Итоги науки и техники ВИНТИ. Физиология человека и животных. – 1985. – Т. 29. – С. 167–203.

20. Вельховер, Е.С. Экстерорецепторы кожи / Е.С. Вельховер, Г.В. Кушнир. – Кишинев: Штиинца, 1991. – 111 с.

21. Вержбицкая, Н.И. Морфофункциональные параметры точек акупунктуры и связанных с ним внутренних органов в разных условиях эксперимента / Н.И. Вержбицкая, Д.А. Кромин // Теория и практика рефлексотерапии. – Саратов: Изд-во Саратов. университета, 1981. – С. 56–60.

22. Вержбицкая, Н.И. О возможных механизмах действия на организм методами рефлексотерапии / Н.И. Вержбицкая, Л.А. Всеволожский // Диагностическая и терапевтическая аппаратура рефлексотерапии и биофизические методы диагностики. – Калинин, 1983. – С. 13–31.

23. Верификация трансплантированных стволовых клеток человека при ожогах роговицы в эксперименте / Е.В. Ченцова, Л.Р. Николаева, Р.А. Полтавцева [и др.] // Регенеративная медицина и трансплантация тканей в офтальмологии: материалы научно-практической конференции. – М., 2005. – С. 12–14.

24. Вит, В.В. Строение зрительной системы человека / В.В. Вит. – Одесса: Астропринт, 2003. – 664 с.

25. Вит В. В., Юмашева А. А., Бабанина Ю. Д. Послеоперационные осложнения циркуляжа различными материалами по данным экспериментальных исследований // Офтальм. журн. – 1979. – № 4. – С. 244–247.

26. Влияние динамической электронейростимуляции на воспалительные репаративные процессы в тканях / В.В. Базарный, И.Е. Валамина, Н.Б. Крохина, А.И. Исайкин // Динамическая электронейростимуляция – современная технология восстановительной медицины: материалы международного симпозиума. – Екатеринбург: Токмас-Пресс, 2008. – С. 30–32.

27. Влияние NO-содержащего газового потока на морфологические изменения в тканях глаза при экспериментальном ожоге роговицы / Н.Б. Чесно-

кова, А.Б. Шехтер, О.И. Кваша [и др.] // Регенеративная медицина и трансплантация тканей в офтальмологии: материалы научно-практической конференции. – М., 2005. – С. 110–112.

28. Вогралик, В.Г. Иглорефлексотерапия / В.Г. Вогралик, М.В. Вогралик. – Горький, 1978. – 295 с.

29. Вогралик, В.Г. Основы китайского лечебного метода чжень-цзю / В.Г. Вогралик. – Горький: Волго-Вят. кн. изд-во, 1961. – 320 с.

30. Вогралик, В.Г. Пунктурная рефлексотерапия: чжень-цзю / В.Г. Вогралик, М.В. Вогралик. – Горький: Волго-Вят. кн. изд-во, 1988. – 335 с.

31. Войно-Ясенецкий, В.В. Разрастание и изменчивость тканей глаза при его заболеваниях и травмах / В.В. Войно-Ясенецкий. – М.: Медицина, 1979. – 224 с.

32. Войно-Ясенецкий В. В. Процесс приживления роговичного трансплантата при внутричерепном повреждении тройничного нерва // Офтальм. журн. – 1959. – № 3. – С. 170–176.

33. Войно-Ясенецкий В. В. Метаплазия тканей глаза при осложненном раневом процессе // В кн.: Условия регенерации органов и тканей у животных. – М., 1965. – С. 45–49.

34. Волков, В.В. Циркуляция крови и тканевых жидкостей в глазу / В.В. Волков // Функциональные методы исследования в офтальмологии. – М.: Медицина, 1998. – С. 284–311.

35. Гаваа, Л. Очерки методов восточной рефлексотерапии / Л. Гаваа. – 2-е изд. – Киев: Здоров'я, 1986. – 232 с.

36. Гойденко, В.С. Практическое руководство по рефлексотерапии / В.С. Гойденко, В.М. Котенева. – М., 1982. – 190 с.

37. Готовский, Ю.В. Совместное использование методов БРТ, ВРТ и метода выделения мантических БАТ в диагностике и терапии / Ю.В. Готовский, К.Н. Мхитарян // Теоретические и клинические аспекты применения

биорезонансной и мультирезонансной терапии: материалы V международной конференции. – М.: Медис, 1999. – Ч. II. – С. 109–123.

38. Губарева, Р.А. Первые результаты применения способов воздействия рефлексотерапии при некоторых заболеваниях глаз у детей / Р.А. Губарева // Возрастные особенности органа зрения в норме и при патологии у детей. – М., 1990. – С. 138–140.

39. Гундорова, Р.А. Патология роговицы при травматической болезни глаз и методы хирургического и медикаментозного лечения / Р.А. Гундорова // Современные методы диагностики и лечения заболеваний роговицы и склеры: материалы научно-практической конференции. – М., 2007. – Т. 1. – С. 231–233.

40. Гундорова, Р.А. Патология роговицы при травматической болезни глаз и методы хирургического и медикаментозного лечения / Р.А. Гундорова // Глаз. – 2009. – № 2. – С. 37–40.

41. Гундорова, Р.А. Применение адгелона в лечении проникающих ранений роговицы в эксперименте / Р.А. Гундорова // Вестник офтальмологии. – 1997. – № 2. – С. 12–16.

42. Гундорова, Р.А. Стволовые клетки и их перспективы применения в офтальмологии / Р.А. Гундорова, Е.В. Ченцова, Н.В. Пак // Регенеративная медицина и трансплантация тканей в офтальмологии: материалы научно-практической конференции. – М., 2005. – С. 2–5.

43. Гуревич, Э.Е. Опыт фокусной ирритатерапии бронхиальной астмы безыгольным внутрикожным введением малых доз хлорида кальция / Э.Е. Гуревич // Теоретическое обоснование и клиническое применение метода иглоукалывания. – Л., 1972. – С. 23–24.

44. Гурьянов, А.А. Опыт применения аутогеморефлексотерапии / А.А. Гурьянов // Воен. мед. журнал. – 1987. – № 3. – С. 51–52.

45. Дизрегуляторная патология: руководство для врачей и биологов / под ред. Г.Н. Крыжановского. – М.: Медицина, 2002. – 632 с.

46. Дуринян, Р.А. Физиологические основы аурикулярной рефлексотерапии / Р.А. Дуринян. – Ереван, 1983. – 238 с.
47. Егоров, Е.А. Экспериментальное обоснование применения бетамецила в офтальмологии / Е.А. Егоров, Н.Б. Леонидов // Вестник офтальмологии. – 1996. – № 2. – С. 27–29.
48. Заварзин, А.А. Избранные труды / А.А. Заварзин. – М.; Л.: АнСССР, 1953. – Т. 4. – 716 с.
49. Зайкова, М.В. Методика аппликационной магнитопунктуры в офтальмологической практике / М.В. Зайкова, Э.С. Горкунов, А.И. Ульянов // Актуальные вопросы офтальмологии. – Ижевск, 1989. – С. 122.
50. Зилов, В.Г. Внеклеточный матрикс и рефлексотерапия / В.Г. Зилов // Рефлексотерапия. – 2009. – № 1. – С. 12–17.
51. Зилов, В.Г. Новое в изучении акупунктурных меридианов тела человека / В.Г. Зилов // Вестник новых медицинских технологий. – 1999. – Т. VI, № 3–4. – С. 148.
52. Зилов, В.Г. Современные представления о лечебных механизмах методов восстановительной медицины / В.Г. Зилов // Вестник восстановительной медицины. – 2009. – № 1 (29). – С. 12–16.
53. Зилов, В.Г. Элементы информационной биологии и медицины / В.Г. Зилов, К.В. Судаков, О.И. Эпштейн. – М.: МГУЛ, 2000. – 248 с.
54. Золотарев, А.В. Местное применение ретаболила при лечении патологии роговицы в эксперименте и клинике / А.В. Золотарев // Вестник офтальмологии. – 1994. – № 1. – С. 23–25.
55. Иваницкая, Е.В. Применение янтарно-кислого натрия при проникающих ранениях роговицы / Е.В. Иваницкая // Офтальмологический журнал. – 1986. – № 5. – С. 311–313.
56. Иваничев, Г.А. Механизмы акупунктуры / Г.А. Иваничев. – Казань, 2004. – 144 с.

57. Иванова, Е.М. Опыт применения иглоукалывания в офтальмологии / Е.М. Иванова // Вестник офтальмологии. – 1961. – № 5. – С. 46–47.
58. Иглорефлексотерапия при некоторых глазных заболеваниях в санатории «Солнечный берег» / В.М. Песин, И.В. Колесникова, В.С. Аверьянова [и др.] // Иглорефлексотерапия: материалы науч. конф. – Горький, 1984. – С. 144.
59. Иммунологические механизмы влияния физических факторов на репаративные процессы / В.В. Базарный, И.Е. Валамина, Е.А. Тихонова, Н.Б. Крохина, А.И. Исайкин // Российский Иммунологический Журнал. – 2008. – Т. 2, № 2–3. – С. 189.
60. Иммуномодуляция рибомунилом репаративных процессов в коже крыс / В.В. Базарный, И.Е. Валамина, О.Н. Селянина [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 143, № 6. – С. 660–662.
61. К вопросу о механизмах терапевтического эффекта при иглоукалывании / Г.Н. Кассиль, Е.М. Боева, А.М. Вейн [и др.] // Вестник АМН СССР. – 1961. – № 3. – С. 37–47.
62. Каган, М.С. Применение рефлексотерапии и ухоиглорефлексотерапии при некоторых глазных заболеваниях / М.С. Каган // Иглорефлексотерапия: материалы науч. конф. – Горький, 1984. – С. 142.
63. Кадырова, В.А. Первый опыт применения азидагера в стоматологической практике / В.А. Кадырова // Новые технологии в офтальмологии: сб. науч. тр. УфНИИГБ. – Уфа, 2000. – С. 328–329.
64. Каем, Р.И. Обоснование в эксперименте и клинике применения атравматичной активированной углеродной ткани для лечения ожогов / Р.И. Каем, Т.С. Устинова // Хирургия. – 1994. – № 1. – С. 33–36.
65. Карамян, А.А. Изучение влияния птеригиума на аберрации и оптической системы глаза. Сообщение 1 / А.А. Карамян, Е.В. Суханова, А.Г. Алиев // Вестник офтальмологии. – 2008. – Т. 124, № 6. – С. 3–6.
66. Карпеев, А.А. Традиционная медицина в России: состояние и перспективы / А.А. Карпеев // Традиционная медицина-2007: сборник научных

трудов конгресса, посвященного 30-летию со дня открытия Центрального научно-исследовательского института рефлексотерапии (1–3 марта 2007 г., Москва). – М., 2007. – С. 4–5.

67. Карымов, Н.Р. Иглоукалывание, как фактор восстановления информационного гомеостаза / Н.Р. Карымов, И.Ю. Касаткина // Традиционная медицина – 2007: сборник научных трудов конгресса, посвященного 30-летию со дня открытия Центрального научно-исследовательского института рефлексотерапии. – М., 2007. – С. 305–306.

68. Качан, Н.А. Иммунологическая реакция организма на иглорефлексотерапию при глазной патологии / Н.А. Качан, Э.Р. Мамедова // Здоровоохранение Туркменистана. – 1987. – № 10. – С. 30–31.

69. К вопросу об участии иммунной системы в восстановительных процессах / В.В. Базарный, П.И. Щеколдин, Е.А. Тихонова [и др.] // Иммунология Урала. – 2006. – № 1 (5): Материалы V конференции Иммунологов Урала. – С. 2.

70. Ковалевский, Е.И. Рефлексотерапия в комплексе мероприятий по профилактике возникновения и прогрессирования близорукости у детей / Е.И. Ковалевский, Н.В. Максимова // Тезисы докладов V конференции офтальмологов БССР. – Горки, 1986. – С. 138–140.

71. Коваленко, В.В. Влияние рефлексотерапии на функциональное состояние органа зрения у рабочих прецизионного труда / В.В. Коваленко, В.И. Дынник, Б.И. Скачков // Вестник офтальмологии. – 1989. – № 2. – С. 69–71.

72. Коваленко, П.П. Основы трансплантологии / П.П. Коваленко. – Ростов н/Д: Изд. Ростовского университета, 1975. – 180 с.

73. Ковальчук, Л.В. Аутолимфотерапия в стимуляции репаративных процессов тканей глаза / Л.В. Ковальчук // Вестник офтальмологии. – 1993. – № 3. – С. 8–9.

74. Ковальчук, П.В. Естественный комплекс цитокинов в лечении проникающих ранений роговицы глаза кролика в эксперименте / П.В. Ковальчук,

Л.В. Ганковская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1993. – № 3. – С. 284–287.

75. Костюкова, Н.Ю. Воздействие дерината в комплексе с лиофилизированной плазмой крови и микрохирургической коррекцией на процессы регенерации в пораженных роговицах: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ставрополь, 2008. – 23 с.

76. Крачмер, Д. Роговица: атлас / Д. Крачмер; пер. с англ. под ред. Н.И. Курышевой. – М.: Логосфера, 2007. – 384 с.

77. Крохина, Е.М. Опыт изучения вегетативной иннервации акупунктуры кожи человека / Е.М. Крохина, Л.М. Чувильская // Теория и практика рефлексотерапии. – Саратов, 1981. – С. 71–77.

78. Кукушкин, М.П. Физиологические основы иглоукалывания обзор литературы / М.П. Кукушкин // МРЖ. Разд. 9. – 1987. – № 10. – С. 37–44.

79. Кушнир, В.Н. Наш опыт иглорефлексотерапии при прогрессирующей миопии у детей / В.Н. Кушнир, С.Т. Ставинская, В.Т. Франчук // Тезисы докладов III Всесоюзной конференции по актуальным вопросам детской офтальмологии (23–24 января 1989 г., Суздаль). – М., 1989. – С. 236–237.

80. Лаврищева, Г.И. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей / Г.И. Лаврищева, Г.А. Оноприенко. – М.: Медицина, 1996. – 240 с.

81. Лазаренко, Ф.М. Закономерности роста и превращения тканей и органов в условиях культивирования (имплантации) их в организме / Ф.М. Лазаренко – М.: Медгиз, 1959. – 400 с.

82. Лекишвили, М.В. Технологии изготовления костного пластического материала в восстановительной хирургии (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – 47 с.

83. Лиманский, Ю.П. Интегративные механизмы ствола головного мозга / Ю.П. Лиманский // Частная физиология нервной системы. – Л.: Наука, 1983. – С. 61–112.

84. Лудянский, Э.А. К вопросу о лечении дрожательного паралича введением аминазина в «активные» точки кожи / Э.А. Лудянский // Материалы к 4-й научной конференции по рефлексотерапии методом чжень-цзю. – Горький, 1962. – С. 74–75.

85. Максимов, И.Б. Стимуляция заживления ран роговой оболочки и лечение их последствий (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Л., 1988. – 24 с.

86. Манукян, М.Е. Репаративная регенерация роговиц кролика в условиях применения этаноламина / М.Е. Манукян // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1979. – № 6. – С. 608–610.

87. Маслов, Л.Н. Использование цитокинов для стимуляции неоангиогенеза и регенерации сердца / Л.Н. Маслов, С.И. Сазонова // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2006. – Т. 69, № 5. – С. 70–75.

88. Мачерет, Е.Л. Руководство по рефлексотерапии / Е.Л. Мачерет, И.З. Самосюк. – Киев: Вища шк., 1984. – 302 с.

89. Мейзеров, Е.Е. Интеграция исследований в институте рефлексотерапии / Е.Е. Мейзеров // Традиционная медицина – 2007: сборник научных трудов конгресса. – М., 2007. – С. 315–318.

90. Миграция мезенхимальных стволовых клеток в биоматериалы Allorplant: предварительные данные / Н.Н. Курчатова, Р.А. Хасанов, Р.Ш. Юсупова [и др.] // Актуальные проблемы фундаментальной и клинической иммунологии и аллергологии: труды IV конференции иммунологов Урала. – Уфа, 2005. – С. 17–18.

91. Микроскопическая техника: руководство / Под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.

92. Милюдин, Е.С. Амниопластическая хирургия в комплексном лечении эпителиальной патологии переднего отдела глаза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Самара, 2007. – 50 с.

93. Мищенко, П.И. Опыт применения электроакупунктуры при болевом синдроме пояснично-крестцового отдела позвоночника / П.И. Мищенко // Материалы третьего международного тихоокеанского конгресса по традиционной медицине. – Владивосток; Сеул, 2006. – С. 71–73.

94. Морфологические основы применения биоматериалов Аллоплант в оперативной гинекологии / С.А. Муслимов, В.И. Сахаутдинова, С.Ю. Муслимова, Л.А. Мусина // Морфологические ведомости. – 2009. – № 3. – С. 105–106.

95. Морфологические особенности регенераторно-репаративных процессов в роговице при действии синтетических аналогов эндогенных пептидных фрагментов белка S100b в эксперименте / В.Б. Олиневич [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2009. – Т. 125, № 2. – С. 3–7.

96. Мулдашев, Э.Р. Теоретические и прикладные аспекты создания аллотрансплантатов серии Аллоплант для пластической хирургии лица: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 1994. – 40 с.

97. Муслимов, С.А. Морфологические аспекты регенеративной хирургии / С.А. Муслимов. – Уфа: Башкортостан, 2000. – 166 с.

98. Николаева, Л.Р. Трансплантация стволовых клеток эктодермального происхождения при ожогах роговицы в эксперименте: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2006. – 24 с.

99. Никулин, А.А. Сравнительная фармакологическая оценка действия масел облепихи, шиповника и подорожника при экспериментальном ожоге глаз / А.А. Никулин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1992. – № 4. – С. 64–66.

100. Новинский, Г.Д. О чжень-цзю терапии / Г.Д. Новинский // Врачебное дело. – 1959. – № 5. – С. 545.

101. Новые материалы об изменении функции аппарата кровообращения при иглокалывании / Г.М. Покалев, Е.П. Каличиева, З.М. Парохоняк, Л.И. Сорокина // Вопросы нейроэндокринной патологии и рефлекторной терапии. – Горький: Волго-Вятск. кн. изд-во, 1980. – С. 78–79.

102. Новый биопластический материал для регенерации покровных тканей (данные электронно-микроскопических исследований) / А.А. Стадников [и др.] // Российская оториноларингология. – 2009. – № 3. – С. 100–102.

103. Нузов, Б.Г. Стимуляция репаративной регенерации тканей / Б.Г. Нузов. – М.: Медицина, 2005. – 161 с.

104. О взаимосвязи острофазовых и репаративных реакций / В.В. Базарный, О.Н. Селянина, Е.А. Тихонина [и др.] // Вестник Уральской государственной медицинской академии. – 2006. – Вып. 15. – С. 17–18.

105. Остапина, Р.А. Аппликационная магнитопунктура при прободных ранениях глаз / Р.А. Остапина, Т.Н. Вахрушева, Е.В. Глухих // Актуальные вопросы офтальмологии: тез. докл. Респ. науч.-практич. конф. офтальмологов. – Ижевск, 1989. – С. 30.

106. Пак, С.Г. Радонотерапия и акупунктура в ранней послеоперационной коррекции нейрометаболических нарушений у женщин, оперированных по поводу фиброаденоматоза молочных желез: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Пятигорск, 2003. – 22 с.

107. Пальцев, М.А. Межклеточные взаимодействия / М.А. Пальцев, А.А. Иванов. – М.: Медицина, 1995.

108. Перевозчиков, П.А. Имплантация фетальной роговицы в лечении больных хронической буллезной кератопатией: экспериментально-клиническое исследование: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Самара, 2006. – 22 с.

109. Перевозчикова, А.П. Иглорефлексотерапия при прогрессирующей близорукости у школьников / А.П. Перевозчикова // Актуальные вопросы офтальмологии: тез. докл. Респ. науч.-практич. конф. офтальмологов. – Ижевск, 1989. – С. 130–131.

110. Подшибякин, А.К. Значение активных точек кожи для эксперимента и клиники: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Киев, 1960. – 23 с.

111. Полянская, Н.К. Клиническая эффективность бесшовного лечебного покрытия роговицы амнионом при заболеваниях и травмах роговицы /

Н.К. Полянская, С.Я. Щербаков // Вестник офтальмологии. – 2007. – Т. 123, № 5. – С. 21–22.

112. Полянская, Н.К. Тактика и методы лечения больных тяжелыми деструктивными заболеваниями и травмами роговицы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Самара, 2007. – 43 с.

113. Полянская, Н.К. Трансплантация амниотической мембраны в офтальмологии / Н.К. Полянская // Вестник офтальмологии. – 2008. – № 2. – С. 60–62.

114. Портнов, Ф.Г. Электропунктурная рефлексотерапия / Ф.Г. Портнов. – Рига: Зинанте, 1987. – 352 с.

115. Применение корпоральной рефлексотерапии в сочетании с фармакопунктурой при герпетической невралгии с выраженным болевым синдромом / Е.С. Мачтаева, Ю.В. Пономарев, О.Р. Мачтаева, И.П. Клепцова // Материалы третьего международного тихоокеанского конгресса по традиционной медицине. – Владивосток; Сеул, 2006. – С. 47–49.

116. Прокофьева, Г.Л. Применение глазных пленок с апилаком в лечении ожогов роговицы (лечебной глазной пленки ЛГП) / Г.Л. Прокофьева, В.П. Можеренков // Офтальмологический журнал. – 1990. – № 6. – С. 334–335.

117. Путилина, Н.Е. Фармакопунктура как метод оптимального применения комплексного гомеопатического препарата дискус композитум в восстановительной коррекции нейровертеброгенных синдромов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2001. – 20 с.

118. Пучковская, Н.А. Ожоги глаз / Н.А. Пучковская, С.А. Якименко, В.М. Непомящая. – М.: Медицина, 2001. – 272 с.

119. Пучковская Н. А., Войно-Ясенецкий В. В. Вторичные дистрофические и структурные изменения в переднем отделе глаза. – М.: Медицина, 1985. – С. 192.

120. Пчеляков, В.Ф. Репаративная посттравматическая регенерация роговицы кроликов при использовании кватерина / В.Ф. Пчеляков // Офтальмологический журнал. – 1987. – № 6. – С. 369–373.

121. Радзиевский, С.А. Применение пунктурной магнитотерапии для профилактики осложнений после экстракции и имплантации зубов / С.А. Радзиевский, Д.И. Иванов, В. Фролков // Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. – 2008. – № 1. – С. 48.

122. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

123. Рева, Г.В. Развивающийся глаз / Г.В. Рева. – Владивосток: Приморский полиграфический комбинат, 1998. – 252 с.

124. Роговица / К.Дж. Рапуано, В.Дж. Хенг; пер. с англ. Е.А.Каспаровой, Е.А. Каспаровой; под ред. А.А. Каспарова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 320 с.

125. Романова, Л.К. Регуляция восстановительных процессов / Л.К. Романова.- М.: Изд-во МГУ, 1984. – 209 с.

126. Руководство по гистологии: в 2 т. / под ред. Р.К. Данилова, В.Л. Быкова. – СПб.: СпецЛит, 2001. – Т. I. – 495 с.

127. Русецкий, И.И. Краткое руководство по китайскому иглоукалыванию / И.И. Русецкий, А.Х. Терегулов. – Казань, 1962. – 132 с.

128. Регенерация нервных волокон и других структур роговицы после фоторефракционной кератомии (экспериментальное исследование) / О.А. Румянцева, Е.А. Егоров, И.А. Спивак [и др.] // Сборник научных статей IV Российского симпозиума по рефракционной и пластической хирургии глаза. – М., 2002. – С. 107–109.

129. Рыбакова, Е.Г. Корнерегель – новый стимулятор репаративной регенерации / Е.Г. Рыбакова, Г.Б. Егорова, Н.И. Калинич // Медицинская панорама. – 2009. – № 3. – С. 85–87.

130. Саломатин, В.В. Влияние &- кислого гликопротеина на обмен оксипролина при экспериментальной термической травме / В.В. Саломатин // Вопросы медицинской химии. – 1992. – № 1. – С. 58–60.

131. Самосюк, И.З. Акупунктура / И.З. Самосюк, В.П. Лысенок. – М.: Аст-пресс книга, 2004. – 345 с.

132. Саркисов, Д.С. Приспособительные и компенсаторные процессы: руководство для врачей / Д.С. Саркисов, В.П. Туманов. – М.: Медицина, 1990. – 322 с.

133. Северин, М.В. Регенерация тканей при экстремальных воздействиях на организм / М.В. Северин, Б.Г. Юшков, А.П. Ястребов. – Екатеринбург: УрГМА, 1993. – 185 с.

134. Серов, В.В. Воспаление / В.В. Серов, В.С. Пауков. – М.: Медицина, 1995. – 639 с.

135. Серов, В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В.В. Серов, А.Б. Шехтер. – М.: Медицина, 1981. – 312 с.

136. Система повреждения костей и суставов с учетом роли биологически активных зон кожи / Е.Б. Новикова, И.С. Пальцева, О.В. Оганесян, С.В. Иванников. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. – 120 с.

137. Сомов, Е.Е. Клиническая анатомия органа зрения человека / Е.Е.Сомов – М.: МЕДпресс-информ, 2005. – 136 с.

138. Социальные и медико-биологические аспекты трансплантации тканей / Э.Р. Мулдашев, Р.Т. Нигматуллин, О.Р. Шангина [и др.]. – Уфа: ООО «Компания Эволюция», 2007. – 214 с.

139. Способ лечения и профилактики заболеваний воздействием на биологически активные точки и зоны: пат. 2238076 / Мулдашев Э.Р., Мирхайдаров Р.Ш., Уразбахтин Р.К., Хасанов Р.А., Яковлева В.Г. – Оpubл. 20.10.2004; Бюл. 29. – 12 с.

140. Способ лечения перинатальной энцефалопатии: а. с. 1286206 от 30.01.87г. / А 61 К 31\00 / В.А. Берсенев, Д.У. Курбанова.

141. Способ рефлекторного воздействия на организм: а. с. 588676 от 25.08.1978. А61 Н 39/00 / Ю.П. Мироненко, Г.Е. Меерконов.

142. Стадников, А.А. Нейробиологические аспекты регуляции репаративных гистогенезов / А.А. Стадников // Морфология. – 1995. – Т. 108, вып. 2. – С. 16–19.

143. Стадников, Б.А. Роль гипоталамических нонапептидов в регуляции репаративных процессов в поджелудочной железе / Б.А. Стадников // Морфология. – 2002. – Т. 121, вып. 2–3. – С. 149–150.

144. Стасьшин, О.Р. Применение акупунктуры в лечении спазма аккомодации у детей / О.Р. Стасьшин, Л.П. Крот, Л. Битар // Тезисы докладов III Всесоюзной конференции по актуальным вопросам детской офтальмологии (23–24 января 1989 г., Суздаль). – М., 1989. – С. 258–259.

145. Стволовые клетки в лечении ожоговых дефектов роговицы (экспериментальные исследования) / Е.В. Ченцова, Л.Р. Николаева, Р.А. Полтавцева, Г.Т. Сухих // Регенеративная медицина и трансплантация тканей в офтальмологии: материалы научно-практической конференции. – М., 2005. – С. 69–70.

146. Стишковская, Н.Н. Изменение динамической рефракции при близорукости под воздействием электропунктурной рефлексотерапии / Н.Н. Стишковская, О.Ю. Нюренберг // Возрастные особенности органа зрения у детей (рефракция, косоглазие): респ. сб. науч. тр. / под ред. Е.И. Ковалевского. – М., 1988. – С. 73–75.

147. Стишковская, Н.Н. Методы рефлексотерапии в лечении декомпенсированной миопии / Н.Н. Стишковская // Близорукость: патогенез, профилактика прогрессирования и осложнений: тез. докл. Междунар. симпозиума. – М., 1988. – С. 16.

148. Струков, Г.С. Результаты применения электропунктуры при пигментной дистрофии / Г.С. Струков // Тезисы докладов V Всесоюзного съезда офтальмологов. – Киев, 1979. – Т. 3. – С. 143–144.

149. Судаков, К.В. Итоги и перспективы развития теории функциональных систем / К.В. Судаков // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2009. – № 8. – С. 3–11.

150. Судаков, К.В. Теория функциональных систем: постулаты и принципы построения организма человека в норме и при патологии / К.В. Судаков // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 4. – С. 2–11.

151. Судаков, К.В. Функциональные системы организма: руководство / К.В. Судаков. – М.: Медицина, 1987. – 432 с.

152. Сулеева, Б.О. Лечение тяжелых ожогов глаз путем трансплантации стволовых клеток лимба / Б.О. Сулеева, Г.К. Мухамеджанова // Регенеративная медицина и трансплантация тканей в офтальмологии: материалы научно-практической конференции. – М., 2005. – С. 73–76.

153. Сулеева, Б.О. Механизм репаративной регенерации роговицы и возможности его стимуляции ауто трансплантацией лимба / Б.О. Сулеева, Г.К. Мухамеджанова // Новые технологии в офтальмологии: сб. науч. тр. УфНИИГБ. – Уфа, 2000. – С. 74–81.

154. Суркова, В.К. Экспериментально-клиническое исследование эффективности керакола при лечении ожогов и механических травм роговой оболочки / В.К. Суркова // Вестник офтальмологии. – 1994. – № 3. – С. 5–7.

155. Сыч, Н.Н. Акупунктура – Знание бывших цивилизаций / Н.Н. Сыч. – Сочи: СПП, 2002. – 198 с.

156. Табеева, Д.М. Руководство по иглорефлексотерапии / Д.М. Табеева. – М.: Медицина, 1980. – 560 с.

157. Табеева, Д.М. Руководство по иглорефлексотерапии: учеб. пособие / Д.М. Табеева. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 440 с.

158. Татарина, Л.В. Фармакопунктура в восстановительной коррекции функционального состояния у больных с избыточной массой тела и ожирением: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2008. – 24 с.

159. Терегулов, А.Х. Лечение сосудистых заболеваний головного мозга применением медикаментозных веществ в китайские точки / А.Х. Терегулов // Материалы к 4-й научной конференции по рефлексотерапии методом чжень-цзю. – Горький, 1962. – С. 70–71.

160. Тиминская, Г.И. Электрорефлексотерапия в комплексном лечении больных глаукомой / Г.И. Тиминская, Т.Л. Поскребко // Тезисы докладов V конференции офтальмологов БССР. – Горки, 1986. – С. 51–53.

161. Труфанова, В.Ф. Практическое руководство по аурикулярной и корпоральной иглорефлексотерапии / В.Ф. Труфанова, Э.П. Яроцкая, О.М. Биневская. – Харьков: Вища шк. 1985. – 263 с.

162. Тыкочинская, Э.Д. Влияние иглоукалывания на картину белой крови / Э.Д. Тыкочинская, А.И. Шапиро // Чжень-цзю – терапия / Под ред. В.Г. Вогралика. – Горький: Волго-Вятское кн. изд-во, 1959. – С. 107–108.

163. Тыкочинская, Э.Д. Основы иглорефлексотерапии / Э.Д. Тыкочинская. – М.: Медицина, 1979. – 344 с.

164. Ультроструктура кожи при электроакупунктуре / Р.Е. Киселева, В.Н. Пишков, Т.Ю. Широкова [и др.] // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 1986. – Т. 86, № 4. – С. 521–526.

165. Филатов, В.П. Гомопластическая пересадка роговицы у человека / В.П. Филатов // Экспериментальная медицина. – 1936. – № 7. – С. 19–27.

166. Филатов, В.П. Избранные труды / В.П. Филатов. – Киев: Издательство академии наук Украинской ССР, 1961. – Т. 2. – 451 с.

167. Хасанов, Р.А. Инъекционная форма аллотрансплантатов серии Аллоплант. Получение, анализ и биологическая активность: автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Пермь, 1999. – 24 с.

168. Хоанг Бао Тяу Иглоукалывание / Хоанг Бао Тяу, Ла Куанг Ниен. – М.: Медицина, 1989. – 671 с.

169. Хорошилова-Маслова, И.П. Механизм регуляции заживления проникающих ранений роговицы с помощью естественного комплекса цитокинов / И.П. Хорошилова-Маслова // Вестник офтальмологии. – 1995. – № 4. – С. 14–19.

170. Хорошилова-Маслова, И.П. Репаративные процессы в роговице при радиальной кератотомии / И.П. Хорошилова-Маслова // Современные методы

диагностики и лечения заболеваний роговицы и склеры: материалы научно-практической офтальмологии. – М., 2007. – Т. 1. – С. 160–162.

171. Хрящ / В.Н. Павлова, Т.Н. Копьева, Л.И. Слуцкий, Г.Г. Павлов. – М.: Медицина, 1998. – 320 с.

172. Чекина, А.Ю. Реабилитация больных с последствиями химических ожогов глаз: кератопластика и лимбальные стволовые клетки / А.Ю. Чекина, Т.А. Бирич // Регенеративная медицина и трансплантация тканей в офтальмологии: материалы научно-практической конференции. – М., 2005. – С. 79–82.

173. Черешнев, В.А. Иммуитет человека и общества / В.А. Черешнев. – Екатеринбург: УрО РАН, 2004.

174. Черниговский, В.Н. Нейрофизиологический анализ кортико-висцеральной рефлекторной дуги / В.Н. Черниговский. – Л.: Наука, 1967. – 110 с.

175. Чернух, А.М. Воспаление / А.М. Чернух. – М.: Медицина, 1979. – 448 с.

176. Чернух, А.М. Микроциркуляция / А.М. Чернух, П.Н. Александров, О.В. Алексеев. – М.: Медицина, 1975. – 429 с.

177. Черныш, И.М. Клинико-физиологическое обоснование биореперного метода электропунктурной диагностики в практике восстановительной медицины: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2004. – 24 с.

178. Шаляпина, В.Г. Адренергическая иннервация матки. / В.Г. Шаляпина, В.В. Ракицкая, В.В. Абрамченко. – Л.: Наука. Ленингр. отд-ие, 1988. – 144 с.

179. Шафиков, И.З. Применение ксимедона в лечении обожженных / И.З. Шафиков // Хирургия. – 1993. – № 4. – С. 62–66.

180. Шевчук, И.Ю. Рефлексотерапия при пигментной дистрофии сетчатки / И.Ю. Шевчук // Материалы IV съезда офтальмологов СССР в Киеве. – М., 1973. – Т. I. – С. 287–288.

181. Шехтер, А.Б. Воспаление, адаптивная регенерация и дисрегенерация (анализ межклеточных взаимодействий) / А.Б. Шехтер, В.В. Серов // Архив патологии. – 1991. – Вып. 3. – С. 7–14.

182. Щелкунов, С.И. Регенерация роговицы / С.И. Щелкунов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1938. – Т. 18. – С. 20–38.

183. Электропунктурная диагностика как метод мониторинга пациентов с головной болью, направленный на повышение эффективности рефлексотерапии / А.М. Василенко, Б.И. Брук, Б.Ш. Усупбекова, А.Л. Розанов // Традиционная медицина – 2007: сборник научных трудов конгресса, посвященного 30-летию со дня открытия Центрального научно-исследовательского института рефлексотерапии. – М., 2007. – С. 279–280.

184. Эффективность использования глазных капель гиалуроновой кислоты при травмах роговицы / М.Т. Азнабаев, С.А. Башкатов, А.Ф. Габдрахманов, А.Р. Имаева // Новые технологии микрохирургии глаза. – Оренбург, 2000. – С. 145–146.

185. Эффекты применения комплекса аутоцитокинов в лечении различных заболеваний переднего отрезка глаза / Е.А. Каспарова, А.А. Каспаров, А.С. Павлюк, К.М. Скрипкин // Регенеративная медицина и трансплантация тканей в офтальмологии: материалы научно-практической конференции. – М., 2005. – С. 93–95.

186. Южаков, А.М. Рефлексотерапия при центральной серозной хориоретинопатии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1998. – 24 с.

187. Юрина, Н.А. Морфофункциональная гетерогенность и взаимодействие клеток соединительной ткани: монография / Н.А. Юрина, А.И. Радостина. – М.: Изд-во УДН, 1990. – 322 с.

188. Ярыгин, К.Н. Регенерация органов и тканей: иерархическая и стохастическая модели / К.Н. Ярыгин // Стволовые клетки перспектива их использования в здравоохранении: Ежегодная Всероссийская и международная научная конференция (30–31 мая 2007 г., Москва). – М., 2007. – С. 9–11.

189. Ярыгин, К.Н. Роль резидентных и циркулирующих стволовых клеток в физиологической и репаративной регенерации / К.Н. Ярыгин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2008. – № 1. – С. 2–7.

190. Ястребов, А.П. Некоторые итоги и перспективы изучения механизмов регенерации тканей при воздействии на организм экстремальных факторов / А.П. Ястребов // Очерки экспериментальной патофизиологии: сб. научн. тр. / отв. ред. А.П. Ястребов. – Екатеринбург, 1999. – С. 116–121.

191. Ястребов, А.П. Роль тучных клеток в регуляции процессов физиологической клеточной регенерации / А.П. Ястребов, С.В. Сазонов // Вестник Уральской государственной медицинской академии. – Екатеринбург, 1995. – Вып.1. – С. 42–48.

192. Ястребов, А.П. Система крови и регенерация костной ткани / А.П. Ястребов, А.В. Осипенко. – Свердловск: Изд-во Урал. Ун-та, 1990. – 135 с.

193. Acupoint-specific fMRI patterns in human brain / B. Yan, K. Li, J. Xu [et al.] // *Neuroscience Letters*. – 2005. – Vol. 383, N 3. – P. 236–240.

194. Acupuncture for chronic pain within the research program of 10 German Health Insurance Funds-Basic results from an observational study / W. Weidenhammer, A. Streng, K. Linde [et al.] // *Complement. Ther. Med.* – 2007. – Vol. 15, N 4. – P. 238–246.

195. Acupuncture for Chronic Shoulder Pain in Persons With Spinal Cord Injury: A Small-Scale Clinical Trial / T.A. Dyson-Hudson, P. Kadar, M. LaFontaine [et al.] // *Arch. Physic. Med. Rehabil.* – 2007. – Vol. 88, N 10. – P. 1276–1283.

196. Acupuncture inhibits microglial activation and inflammatory events in the MPTP-induced mouse model / J.M. Kang, H.J. Park, Y.G. Choi [et al.] // *Brain Res.* – 2007. – Vol. 1131. – P. 211–219.

197. Acupuncture Treatment in Geriatric Rehabilitation: A Retrospective Study / A. Barada, Y. Maimona, E. Millera [et al.] // *J. Acupunct. Meridian Studies*. – 2008. – Vol. 1, N 1. – P. 54–57.

198. Almeida, R.T. Nitric oxide/cGMP pathway mediates orofacial antinociception induced by electroacupuncture at the St36 acupoint / R.T. Almeida, I.D. Gama Duarte // *Brain Res.* – 2008. – Vol. 1188, N 10. – P. 54–60.

199. Anatomical evidence of regional specific effects of acupuncture on gastric motor function in rats / M. Iwa, M. Tateiwa, M. Sakita [et al.] // *Autonomic Neuroscience*. – 2007. – Vol. 137, N 1–2. – P. 67–76.

200. Bachman, G. Leitfaden der Akupunktur, die Akupunktur, eine altchinesische Heilweise und ihre klinisch-experimentelle Bestätigung / G. Bachman. – Ulm-Donau: Haug Verlag, 1961. – 203 s.

201. Bischko, J. Einführung in die Akupunktur / J. Bischko. – 9.Aufl. – Heidelberg: Hang Ferlag, 1977. – 128 s.

202. Bossy, J. Bases neurobiologiques des reflexotherapies / J. Bossy. – Paris, Masson, 1975. – 110 p.

203. Boulton, M.E. Stem cells in the eye / M.E. Boulton, J. Albon, M.B. Grant // *Principles of Tissue Engineering*. – Third Edition. – 2007. – P. 1011–1023.

204. Brain areas involved in acupuncture treatment on functional dyspepsia patients: A PET-CT study / F. Zeng, W.-Z. Song, X.-G. Liu [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2009. – Vol. 456, N 1. – P. 6–10.

205. Bron, A. Anatomy of the eye and orbit / A. Bron, R. Tripathi, B. Tripathi. – London: Arnold, 2001. – P. 246–251.

206. Clinical application of acupuncture in ophthalmologie / St. Dabov, G. Gontoranov, R. Ivanova, N. Petrova // *Acupunct. Electrother.* – 1985. – Vol. 10, N 1–2. – P. 79–93.

207. Comparison of visual cortical activations induced by electro-acupuncture at vision and nonvision-related acupoints / Y. Zhang, J. Liang, W. Qin [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2009. – Vol. 458, N 1. – P. 6–10.

208. Complementary / Alternative Medicine use among chronic pain clinic patients / J.J. Konvichka, T.A. Meyer, A.J. McDavid, C.R. Roberson // *J. Peranesth. Nurs.* – 2008. – Vol. 23. – P. 17–23.

209. Connor, T. Correlation of fibrosis and transforming growth factor-beta type 2 levels in the eye / T. Connor, A. Roberts, M. Sporn // *J. Clin. Invest.* – 1989. – Vol. 83. – P. 1661–1666.

210. Corneal anatomy and wound healing / P.S. Binder, M.G. Wickham, E. Zavala, P. Akers // *The corneal sei. foundations a clin. practice.* – Boston: Toronto, 1983. – P. 43–60.

211. Critchlow, M. The effect of exogenous transforming growth factor-beta 2 on healing fractures in the rabbit / M. Critchlow, Y. Bland, D. Ashhurst // *Bone.* – 1995. – Vol. 16. – P. 521–527.

212. Cunin-Roy, C. Les traitements non medicamenteux dans la prise en charge de la douleur de l'enfant et de l'adolescent / C. Cunin-Roy, M. Bienvenu, C. Wood // *Arch. Pediatr.* – 2007. – Vol. 14, N 12. – P. 1477–1480.

213. David, S.S. Detergent-induced corneal burn – A case of concern / S.S. David // *Injury Extra.* – 2008. – Vol. 39, N 2. – P. 53–55.

214. Different frequencies of acupuncture treatment for chronic low back pain: An assessor-blinded pilot randomised controlled trial / J. Yuan, N. Purepong, R.F. Hunter [et al.] // *Complement. Ther. Med.* – 2009. – Vol. 17, N 3. – P. 131–140.

215. Dua, H.S. Corneal epithelium wound healing / H.S. Dua, J.A.P Gomes, A. Singh // *Br. J. Ophthalmol.* – 1994. – Vol. 78. – P. 401–408.

216. Dua H. S., Saini J. S., Azuara-Blanco A., Gupta P. Limbal stem cell deficiency: concept, aetiology, clinical presentation, diagnosis and management // *Indian J Ophthalmol.* – 2000. – Vol. 48. – P. 83–92.

217. Duclos, A.M. ATS 13 Presentation des resultats preliminaires de la conference d' experts 2007 / A.M. Duclos, G.G. Malzaltarine, T.T. Albert // *Douleurs: Evaluation – Diagnostic – Traitement.* – 2007. – Vol. 8, supp. 1. – P. 57.

218. Effects of electro-acupuncture on CNTF expression in spared dorsal root ganglion and the associated spinal lamina II and nucleus dorsalis following adjacent dorsal root ganglionectomies in cats / H.-L. Zhou, L.-S. Zhang, Y. Kang [et al.] // *Neuropeptides.* – 2008. – Vol. 42. – P. 95–106.

219. Effect of electric acupuncture stimulation on acute inflammation / Y.M. Sin, D. Sedyewick, A.R. Mackay [et al.] // *Amer. J. Acupunct.* – 1983. – Vol. 11, N 4. – P. 359–362.

220. Electro-acupuncture induced NGF, BDNF and NT-3 expression in spared L6 dorsal root ganglion in cats subjected to removal of adjacent ganglia / J. Chen, J.-G. Qi, W. Zhang [et al.] // *Neurosci. Res.* – 2007. – Vol. 59, N 4. – P. 399–405.

221. EP16 Algologie et medicine physique et de readaptation: Evidences et perspectives d'une collaborion pluridisciplinaire: exemple du CH de Belfort-Montbeliard / J.P. Chosson, C. Dovico, C. Marcassoli [et al.] // *Douleurs: Evaluation – Diagnostic – Traitement.* – 2007. – Vol. 8, supp. 1. – P. 103.

222. Evidence of enhanced non-enzymatic generation of nitric oxide on the skin surface of acupuncture points: an innovative approach in humans / S.X. Ma, X.Y. Li, T. Sakurai, M. Pandjaitan // *Nitric Oxide.* – 2007. – Vol. 17, N 2. – P. 60–68.

223. Evidence-informed management of chronic low back pain with needle acupuncture / C. Ammendolia, A.D. Furlan, M. Imamura [et al.] // *Spine J.* – 2008. – Vol. 8, N 1. – P. 160–172.

224. Expertise Modulates the Perception of Pain in Others / Y. Cheng, C.-P. Lin, H.-L. Liu, Y.-Y. Hsu // *Curr. Biol.* – 2007. – Vol. 17, N 19. – P. 1708–1713.

225. Fang, Y. Влияние экзогенного коллагена на функции клеток при создании *in vitro* биоискусственных сухожилий / Y. Fang, Z. Yang, J. Chin // *Reparat. Reconstr. Surg.* – 2004. – Vol. 18, N 4. – P. 323–326.

226. Fischbarg J., Montoreano R. Osmotic permeabilities across corneal endothelium and antidiuretic hormone-stimulated toad urinary bladder structures // *Biochim Biophys Acta.* – 1982. – Vol. 690. –P. 204–207.

227. Freire, A.O. Acupuncture may be an alternative to treat moderate obstructive sleep apnea / A.O. Freire, L.E. Mello // *Sleep Med.* – 2008. – Vol. 9, N 2. – P. 212–213.

228. Gooneratne, N.S. Complementary and Alternative Medicine for Sleep Disturbances in Older Adults / N.S. Gooneratne // *Clin. Geriatr. Med.* – 2008. – Vol. 24, N 1. – P. 121–138.

229. Grueterlich M., Espana E. M., Touhami A., Ti-Seng-Ei. Phenotypic study of a case with successful transplantation of *ex vivo* expanded human limbal

epithelium for unilateral total limbal stem cell deficiency // *Ophthalmology*. – 2002. – Vol. 109. – P. 1547–1552.

230. Heimann, H. Psychopathologie und Neurosenlehre aus heutiger Sicht / H. Heimann // *Erfahrungheilkunde*. – 1979. – Bd. 28, N 13. – P. 1089–1092.

231. Holland M. C, Von Sallmann L., Collins E. M. A study of the innervations of the chamber angle. II. The origin of trabecular axons revealed by degeneration experiments // *Am J Ophthalmol*. – 1957. – Vol. 44. – P. 206–216.

232. Improved temporal clustering analysis method applied to whole-brain data in acupuncture fMRI study / N. Lu, B.-C. Shan, J.-Y. Xu [et al.] // *Magnet. Reson. Imag.* – 2007. – Vol. 25, N 8. – P. 1190–1195.

233. In vitro culture decreases the expression of TGF(beta), Hsp47 and type I procollagen and increases the expression of CTGF in avian tendon explants / J. Halper, A. Griffin, W. Hu [et al.] // *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.* – 2005. – Vol. 5, N 1. – P. 53–63.

234. Investigation of specificity of auricular acupuncture points in regulation of autonomic function in anesthetized rats / X.-Y. Gao, S.-P. Zhang, B. Zhu, H.Q. Zhang // *Auton. Neurosci.* – 2008. – Vol. 138, N 1–2. – P. 50–56.

235. Johnson, M. Efficacy of electrical nerve stimulation for chronic musculoskeletal pain: A meta-analysis of randomized controlled trials / M. Johnson, M. Martinson // *Pain*. – 2007. – Vol. 130, N 1–2. – P. 157–165.

236. Julliard, K.N. Towards a Model for Planning Clinical Research in Oriental Medicine / K.N. Julliard, C. Citkovitz, D. McDaniel // *J. Sci. Healing*. – 2007. – Vol. 3, N 2. – P. 118–128.

237. Kellner, G. Bau und Funktion der Haut / G. Kellner // *Dtsch. Ztschr. Akupunktur*. – 1966. – Bd. 15. – S. 1–31.

238. Kendall, D.E.A. Scientific Model for Acupuncture / D.E.A. Kendall // *Am. J. Acupuncture*. – 1989. – Vol. 17. – P. 251–268; 343–360.

239. Kenyon, K.P. Morphology and pathologic responses of the cornea to disease / K.P. Kenyon // *The cornea: Sci foundations a clin. practice.* – Boston: Toronto, 1983. – P. 43–60.

240. Khan, M.A. Aussichten fir die Anwendung der dynamischen Elektroneurostimulierung / M.A. Khan, V.I. Korishev // *Euromedica-Hannover 2008. InternationalermedizinischerKongress «Euromedica» [Abstracts].* – Hannover, 2008. – P. 35–36.

241. Khodadhoust A. A., Silverstein A. M., Kenyon K. R. Adhesions of regenerating corneal epithelium. The role of basement membrane // *Am J Ophthalmol* – 1968. – Vol. 65. –P. 339–347.

242. Kim, J.S. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity on wound healing following acute corneal alkali burn / J.S. Kim // *Exp. Eye Res.* – 2000. – Vol. 70, N 3. – P. 329–37.

243. Klagsbrum, M. The fibroblasts growth factor family: structural and biological properties / M. Klagsbrum // *Progr. Growth Factor. Res.* – 1989. – Vol. 1. – P. 207–226.

244. Kotze, A. Stimulation-produced analgesia: acupuncture, TENS and related techniques / A.Kotze, K.H. Simpson // *Anaesth. Intens. Care Med.* – 2008. – Vol. 9. – P. 29–32.

245. La Fuye de, R. *Traite d'acupuncture* / R. La Fuye de. – Paris, 1956. – Vol. 1–2.

246. Lambiase, A. Nerve growth factor promotes corneal healing: structural, biochemical, and molecular analyses of rat and human corneal / A. Lambiase // *Invest. Ophtalmol. Vis. Sci.* – 2000. – Vol. 41, N 5. – P. 1063–9.

247. Liertzer, H. Anatomic structure analysis of trigger and acupuncture points / H. Liertzer // *Eur. J. Pain.* – 2006. – Vol. 10, suppl. 1. – P. 71.

248. Local suppression of IL-1 by receptor antagonist in the rat model of corneal alkali injury / J. Yamada, M.R. Dana, C. Sotozono, S. Kinoshita // *Experim. Eye Res.* – 2003. – Vol. 76, N 2. – P. 161–167.

249. Long-term high-frequency electro-acupuncture stimulation prevents neuronal degeneration and up-regulates BDNF mRNA in the substantia nigra and ventral tegmental area following medial forebrain bundle axotomy / X.-B. Liang, X.-Y. Liu, F.-Q. Li [et al.] // *Molec. Brain Res.* – 2002. – Vol. 108, N 1-2. – P. 51–59.

250. Lu, Y. An Inquiry into the Action of Acupuncture on the Human Body by Means of Pharmacology / Y. Lu, J. Wang // *J. Tradit. Chinese Med.* – 2009. – Vol. 29, N 2. – P. 146–149.

251. Lu, Y. Comparison of the Digital Point Pressure and Massage on Meridians with Acupuncture / Y. Lu // *J. Tradit. Chinese Med.* – 2009. – Vol. 29, N 2. – P. 111–114.

252. Malecaze F., Chollet P., Muraine M., Leseuer L., Arne J. L. Cicatrisation corneenne. *Encicl Med Chir (Paris, France)* // *Ophtalmologie.* – 1994, 21-020-C-20. –P. 14

253. Masuda, A. Acupuncture in the anesthetic management of eye surgery / A. Masuda, H. Miyazaki, M. Jamazaki // *Acupunct. Electrother.* – 1986. – Vol. 11, N 3–4. – P. 259–267.

254. Maurice D. M. The location of the fluid pump in the cornea // *J Physiol (Lond).* –1972. –Vol. 221. – P. 43–54.

255. Min, S.Y. Effect of electric acupuncture and moxibustion on pharocytic activity of the reticulo-endothelial system of mice / S.Y. Min // *Am. J. Acupunct.* – 1983. – Vol. 11, N 3. – P. 237–241.

256. Moffet, H.H. Acupuncture study hypotheses should rely on scientific, not imaginary, models / H.H. Mofect // *Arch. Phys. Med. Rehab.* – 2008. – Vol. 89. – P. 194.

257. Molassiotis, A. The management of cancer-related fatigue after chemotherapy with acupuncture and acupressure: A randomised controlled trial / A. Molassiotis, P. Sylt, H. Diggins // *Complement. Ther. Med.* – 2007. – Vol. 15, N 4. – P. 228–237.

258. Muller L.J., Pels £., Vrensen G.F.J.M. Novel aspects of the ultrastructural organization of human corneal keratocytes // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1995. – Vol. 36. – P. 2557–2567.

259. Muller L, Pels L, Vrensen G. Ultrastructural organization of human corneal nerves // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1995. – Vol. 37. – P. 476–488.

260. Nakatani, Y. Evidence-informed management of chronic low back pain with needle acupuncture / Y. Nakatani // *Autonomic Nerve.* – 1956. – Vol. 6. – P. 52.

261. Nerve growth factor :a chemotactic factor for polymorphonuclear leucocytes in vivo / Boyle, M.D., Lawman M.J., Gee A.P. [et al.] // *I. Immunology.* – 1985. – Vol. 134, N 1. – P 564–568.

262. Neural activities in human somatosensory cortical areas evoked by acupuncture stimulation / S.-S. Yoo, C.E. Kerr, M. Park [et al.] // *Complement. Ther. Med.* – 2007. – Vol. 15, N 4. – P. 247–254.

263. Niboyet, J. Histologia dei puncti cines in microcop lettronica implicario- ni neurofisiologiche / J. Niboyet // *Riv. Ital. Agopunkt.* – 1982. – Vol. 15, N 44. – P. 15–24.

264. Nielsen, A. Acupuncture book review / A. Nielsen // *J. Science Healing.* – 2006. – Vol. 2, N 4. – P. 290.

265. Non-Pharmacological Techniques for Pain Management in Neonates / B. Colianu, E. Krane, J. Seybold [et al.] // *Semin. Perinatol.* – 2007. – Vol. 31, N 5. – P. 318–322.

266. Omura, V. Acupuncture in the anesthetic management of eye surgery / V. Omura // *VI-th World Congress of Acupuncture: Abstr.* – Paris, 1979. – P. 39.

267. Plummer, J.P. Anatomical findings at acupuncture loci / J.P. Plummer // *Amer. J. Chin. Med.* – 1980. – Vol. 8, N 1-2. – P. 170–180.

268. Pohodenko-Chudakova, I. P.011 Laser acupuncture influence on allogenic transplant during rhinoplasty operation (experimental case) / I. Pohodenko-Chudakova, I. Lenkova, A. Ashin // *J. Cranio-Maxillofac. Surg.* – 2006. – Vol. 34, supp. 1. – P. 135.

269. Porcine small intestine submucosa (SIS) is not an acellular collagenous matrix and contains porcine DNA: possible implications in human implantation / M.H. Zheng, J. Chen, Y. Kirilak [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* – 2005. – Vol. 73, N 1. – P. 61–7.

270. Pre-emptive anti-hyperalgesic effect of electroacupuncture in carrageenan-induced inflammation: Role of nitric oxide / B.B. Garrido-Suarez, G. Garrido, L. Mirquez [et al.] // *Brain Res. Bull.* – 2009. – Vol. 79, N 6. – P. 339–344.

271. Proliferation and apoptosis in the epithelium of the developing human cornea and conjunctiva / D.T. Yew, O. Sha, W.W.Y. Li [et al.] // *Life Sci.* – 2001. – Vol. 68, N 26. – P. 2987–3003.

272. Puangsricharern V., Tseng S. C. G. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency // *Ophthalmology.* – 1995. – Vol. 102. – P. 1476–1485.

273. Randomized trial vs. observational study of acupuncture for migraine found that patient characteristics differed but outcomes were similar / K. Linde, A. Streng, A. Hoppe [et al.] // *J. Clin. Epidemiol.* – 2007. – Vol. 60, N 3. – P. 280–287.

274. Raynaud C, Bonicel P., Rigal D., Kantelip B. Anatomie de la cornee // In: *Encycl. Ved. Chir Elsevier, Paris, Ophtalmologie*, 21– 003-A-10, 1996. – 7 p.

275. Remote Influences of Acupuncture on the Pain Intensity and the Amplitude Changes of Endplate Noise in the Myofascial Trigger Point of the Upper Trapezius Muscle / L.-W. Chou, Y.-L. Hsieh, M.-J. Kao, C.-Z. Hong // *Arch. Phys. Med. Rehabil.* – 2009. – Vol. 90, N 6. – P. 905–912.

276. Reukov, A.S. 40 magnetic-laser therapy and acupuncture in the treatment and rehabilitation of motor function disorders (stroke, humeroscapularis periartrosis, coxarthrosis) / A.S. Reukov // *Photodiagnos. Photodyn. Ther.* – 2008. – Vol. 5, supp. 1. – P. S14–S15.

277. Roberts, A.B. The transforming growth factors – ? / A.B. Roberts, M.B. Sporn // *Handbook of Experimental Pharmacology, Peptide Growth Factors and Their Receptors.* – Heidelberg, Springer-Verlag, 1990. – Vol. 95, N 1. – P. 419–472.

278. Robinson, N. Integrated traditional Chinese medicine / N. Robinson // *Complement. Ther. Clin. Pract.* – 2006. – Vol. 12, N 2. – P. 132–140.

279. Rozsa A.J., Beuerman R. W. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit // *Pain.* 1982. – Vol. 14. – P. 105–113.

280. Ruberti, J.W. Corneal-tissue replacement / J.W. Ruberti, J.D. Zieske, V. Trinkaus-Randall // *Principles of Tissue Engineering (Third Edition).* – 2007. – P. 1025–1047.

281. Rubin, M. Manuel d'acupuncture fondamentale, d'après les publications de l'Institut national de médecine traditionnelle de Pékin / M. Rubin. – Paris: Mercure de France, 1974. – 364 p.

282. Saunders, K.B. FGF and TGF- β : actions and interactions in biological systems / K.B. Saunders, P.A. D' Amore // *Crit. Rev. Eukar, Gene Experes.* – 1991. Vol. 3. – P. 165–183.

283. Scheer, S. Effect of sodium hyaluronate administered at the end of penetrating keratoplasty on reepithelialization of the graft / S. Scheer // *J. Er. Ophtalmol.* – 1999. – Vol. 22, N 8. – P. 859–63.

284. Stocum, D.L. Developmental Mechanisms of Regeneration / D.L. Stocum // *Principles of Regenerative Medicine.* – 2008. – P. 100-125.

285. Tatham, A. Ocular injuries from exploding microwave-cooked eggs / A. Tatham, A. Castillo // *Injury Extra.* – 2008. – Vol. 39, N 11. – P. 366–367.

286. Terral, C. Douleur et acupuncture / C. Terral. – These. Montpellier, 1975. – 176 p.

287. The effect of electroacupuncture on spontaneous recurrent seizure and expression of GAD67 mRNA in dentate gyrus in a rat model of epilepsy / J. Guo, J. Liu, W. Fu [et al.] // *Brain Res.* – 2008. – Vol. 1188, N 10. – P. 165–172.

288. The effect of interleukin-1 on cytokine gene expression by human corneal epithelial cells / S. Narayanan, A. Glasser, Y. –S. Hu, A.M. McDermott // *Experim. Eye Res.* – 2005. – Vol. 80, N 2. – P. 175–183.

289. The effects of acupuncture stimulation at PC6 (Neiguan) on chronic mild stress-induced biochemical and behavioral responses / H. Kim, H.-J. Park, S.-M. Han [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2009. – Vol. 460, N 1. – P. 56–60.

290. Thymosin Beta 4 Promotes Corneal Wound Healing and Decreases Inflammation in Vivo Following Alkali Injury / G. Sosne, E.A. Szliter, R. Barrett [et al.] // *Experim. Eye Res.* – 2002. – Vol. 74, N 2. – P. 293–299.

291. Time-variant fMRI activity in the brainstem and higher structures in response to acupuncture / V. Napadow, R. Dhond, K. Park [et al.] // *NeuroImage.* – 2009. – Vol. 47, N 1. – P. 289–301.

292. Transforming growth factor- α expression in rat eyes with mechanical debridement of corneal epithelium or epithelial flap / M.K. Kim, K.S. Shin, M.S. Shin [et al.] // *J. Cataract & Refract. Surg.* – 2008. – Vol. 34, N 4. – P. 662–669.

293. Treylene, L.R. Conjunctivitis alergica cronica y acupuntura: comunicacion preliminar / L.R. Treylene, R.A. Coba, F.P. Cerballas // *Rev. Cub. Med.* – 1986. – Vol. 25, N 2. – P. 112–117.

294. Tseng, S.C.G. Concept and application of limbal stem cells / S.C.G. Tseng // *Mol. Biol. Rep.* – 1996. – Vol. 23. – P. 47–58.

295. Tseng S. C. G. Regulation and clinical implications of corneal epithelial stem cells // *Mol Biol Rep.* – 1996. – Vol. 23. – P. 47–58.

296. Voll, R. Topographische Lage der Messpunkte der Elektroakupunktur / R. Voll. – ML Verlag Uelzen, 1973. – 155 s.

297. Von Versen, R.J.G. Osteoneogenese und Knochenersatz / R.J.G. Von Versen // 3rd International Meeting of Tissue Bank Specialists. – Rostock, 1990. – Abstr. 15.

298. Wang, Y.J. Effect of electroacupuncture on brain enkephalins content at different times in rats / Y.J. Wang, S.K. Wang // *J. Trad. Chin. Med.* – 1989. – Vol. 9. – P. 53–56.

299. Watson, P.J. Soft tissue pain and physical therapy / P.J. Watson // *Anaest. Intens. Care Med.* – 2008. – Vol. 9, N 1. – P. 27–28.

300. Wilson, S.E. Role of apoptosis in wound healing in the cornea / S.E. Wilson // *Cornea*. – 2000. – Vol. 19, N 3. – P. 7–12.

301. Yanoff M., Fine B. S. *Ocular Pathology: A Text and Atlas*. 3rd edition. – Philadelphia: Lippincott, 1989. –320 p.

302. Zander £., Weddell G. Observations on the innervation of the cornea // *J Anat.* – 1951. – Vol. 85. – P. 68– 81.

303. Zieske, J.D. Activation of epidermal growth factor receptor during corneal epithelial migration / J.D. Zieske // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2000. – Vol. 41, N 6. – P. 1346–55.