

## Иммуногистохимическое исследование пространственной взаимосвязи компонентов идиопатической эпиретинальной мембраны

С.А. Борзенко<sup>1,2</sup>, С.В. Колесник<sup>1</sup>, Д.С. Островский<sup>1</sup>, А.С. Журавлев<sup>1</sup>,  
М.Х. Хубецова<sup>1</sup>, Т.З. Керимов<sup>1,2</sup>, А.А. Чурилов<sup>1</sup>, А.И. Колесник<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс

«Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Российский университет медицины Минздрава России, Москва, Россия

**Резюме. Введение.** Идиопатический эпиретинальный фиброз (идиопатическая эпиретинальная мембрана) – патология органа зрения, которая сопровождается образованием фиброзно-клеточной пленки в макулярной области. В настоящее время не представлено информации о характере взаимодействия структур эпиретинальной мембраны между собой, а также о взаимосвязи этих структур с внутренней пограничной мембраной сетчатки. Морфология внутренней пограничной мембраны при описанном заболевании изучена наименее детально, что связано с отсутствием специфических иммуногистохимических маркеров данной структуры. Цель исследования – изучить пространственное расположение и взаимоотношение компонентов эпиретинальных мембран, а также определить иммуногистохимические маркеры, позволяющие выявить эпиретинальную и внутреннюю пограничную мембраны в исследуемых образцах. **Материалы и методы.** В исследовании участвовали 29 пациентов (29 препаратов глаза) с диагнозом «идиопатический эпиретинальный фиброз». Мембраны фиксировались по предложенной авторской методике. Выполняли иммуногистохимическое исследование с целью выявления и визуализации следующих маркеров: коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$ , ламинин  $\gamma 3$ . Анализ проводили с использованием конфокального лазерного сканирующего биологического микроскопа.

**Результаты.** Исследуемые маркеры коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  и ламинин  $\gamma 3$  подтвердили свою специфичность при окрашивании внутренней пограничной мембраны. Выявлены три тенденции формирования взаимоотношений между эпиретинальной и внутренней пограничной мембраной (три морфологических типа идиопатического эпиретинального фиброза).

**Заключение.** Ламинин  $\gamma 3$  и коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  являются достоверными маркерами внутренней пограничной мембраны, которые позволяют исследовать пространственные взаимоотношения эпиретинальной и внутренней пограничной мембран в составе изучаемых образцов. Предварительные результаты указывают на три тенденции формирования взаимоотношений между эпиретинальной и внутренней пограничной мембраной (три морфологических типа идиопатического эпиретинального фиброза), требующие дальнейшего изучения с использованием клинических данных и методов статистического анализа.

**Ключевые слова:** эпиретинальная мембрана, внутренняя пограничная мембрана, иммуногистохимия  
**Для корреспонденции:** Дмитрий Сергеевич Островский. E-mail: ostrovskiyds@mntk.ru

**Для цитирования:** Борзенко С.А., Колесник С.В., Островский Д.С., Журавлев А.С., Хубецова М.Х., Керимов Т.З., Чурилов А.А., Колесник А.И. Иммуногистохимическое исследование пространственной взаимосвязи компонентов идиопатической эпиретинальной мембраны. Клини. эксп. морфология. 2025;14(2):52–59. DOI: 10.31088/CEM2025.14.2.52–59.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-75-01090.

Статья поступила 03.10.2024. Получена после рецензирования 21.10.2024. Принята в печать 02.12.2024.

## Immunohistochemical study of spatial relationships in idiopathic epiretinal membrane components

S.A. Borzenok<sup>1,2</sup>, S.V. Kolesnik<sup>1</sup>, D.S. Ostrovskiy<sup>1</sup>, A.S. Zhuravlev<sup>1</sup>,  
M.Kh. Khubetsova<sup>1</sup>, T.Z. Kerimov<sup>1,2</sup>, A.A. Churilov<sup>1</sup>, A.I. Kolesnik<sup>1</sup>

<sup>1</sup> S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Russian University of Medicine, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** Idiopathic epiretinal membrane is a formation of a fibrous cellular tissue in the macula. To our understanding there is no data on the interaction of epiretinal membrane structures with

each other, as well as on the relationship of them with the inner limiting membrane. The morphology of the latter during idiopathic epiretinal membrane formation has been scarcely studied due to the absence of specific immunohistochemical markers. We focused on localizing and exploring the relationship of epiretinal membrane components as well as determining immunohistochemical markers that allow the identification of epiretinal and inner limiting membranes in the studied samples.

*Materials and methods.* We analyzed 29 removed eyes from 29 patients diagnosed with idiopathic epiretinal membrane. Immunohistochemical study was performed to detect the following markers:  $\alpha 1\alpha 2$  type IV collagen and laminin  $\gamma 3$ . The analysis was carried out using a confocal laser scanning microscope.

*Results.* The markers confirmed their specificity on staining of the inner limiting membrane. We revealed 3 tendencies of how the relationship between idiopathic epiretinal membrane and inner limiting membrane (3 morphological types of idiopathic epiretinal membrane) form.

*Conclusion.* Laminin  $\gamma 3$  and  $\alpha 1\alpha 2$  type IV collagen are reliable markers of inner limiting membrane staining, which allow to study spatial relationships of idiopathic epiretinal membrane and inner limiting membrane within the studied samples. The 3 tendencies detected require further study using clinical data and statistical analysis techniques.

**Keywords:** epiretinal membrane, inner limiting membrane, immunohistochemistry

**Corresponding author:** Dmitriy S. Ostrovskiy. E-mail: ostrovskiyds@mntk.ru

**For citation:** Borzenok S.A., Kolesnik S.V., Ostrovskiy D.S., Zhuravlev A.S., Khubetsova M.Kh., Kerimov T.Z., Churilov A.A., Kolesnik A.I. Immunohistochemical study of spatial relationships in idiopathic epiretinal membrane components. Clin. exp. morphology. 2025;14(2):52–59 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.2.52-59.

**Funding.** The study was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 23-75-01090.

**Received** 03.10.2024. **Received in revised form** 21.10.2024. **Accepted** 02.12.2024.

## Введение

Идиопатическая эпиретинальная мембрана (иЭРМ) – заболевание, обусловленное развитием фиброглиальной пролиферации на поверхности сетчатки в области центральной ямки. Распространенность иЭРМ в популяции составляет 9,1% [1]. иЭРМ представляет собой многослойную структуру. Наружный слой расположен непосредственно на внутренней пограничной мембране (ВПМ) сетчатки и состоит из белков внеклеточного матрикса (ВКМ). Над ним расположен внутренний слой, представленный одним или несколькими слоями клеток [2]. По мере развития иЭРМ происходит накопление миофибробластоподобных клеток, что повышает сократительные свойства мембраны. Сокращение иЭРМ приводит к повреждению внутренних слоев сетчатки, обуславливая снижение остроты зрения и развитие искажений (метаморфопсий) у пациентов с данной патологией [2].

Микроинвазивная трехпортовая витрэктомия с удалением иЭРМ и ВПМ является основным методом лечения данного заболевания. Удаление ВПМ выполняется следующим этапом после удаления иЭРМ. Тем не менее в ряде случаев выраженная адгезия компонентов иЭРМ к ВПМ позволяет удалить такие мембраны только единым блоком [3].

Изучение морфологического строения иЭРМ необходимо для углубления понимания патогенетических механизмов и оптимизации лечебной тактики в отношении пациентов с данным заболеванием. Ранее в работе группы авторов было дано патоморфологическое обоснование целесообразности хирургии по поводу иЭРМ на ранних сроках заболевания, так как по мере

его прогрессирования нарастает трансформация клеточного состава иЭРМ в миофибробластоподобные клетки с последующим сокращением мембраны и снижением у пациентов зрительных функций [3].

Морфологические характеристики иЭРМ широко представлены в литературе, однако основное число публикаций посвящено различным типам клеточных образований, выявленных в удаленных образцах мембран [4–6]. ВКМ мембран, напротив, изучен гораздо менее детально. Небольшое число исследований, представленных в литературе на данную тему, несет лишь описательный характер, указывает на наличие в составе ВКМ коллагенов, протеогликанов [7, 8]. В литературе на сегодняшний день не представлено сведений о характере взаимодействия структур ВКМ между собой, а также о взаимосвязи данных структур с ВПМ сетчатки при формировании иЭРМ.

Необходимо отметить, что стандартный метод забора и фиксации образцов мембран, удаленных с поверхности сетчатки, позволяет выявить наличие искомым антигенов, но не дает возможности визуализировать пространственные взаимоотношения между компонентами удаленных мембран. При этом морфология ВПМ при формировании иЭРМ изучена наименее детально, что объясняется рядом причин. Во-первых, при стандартном методе фиксации мембран для иммуногистохимического исследования поиск и идентификация ВПМ в составе иЭРМ затруднительны из-за малых размеров ВПМ. Во-вторых, отсутствие специфических маркеров к структурным компонентам ВПМ осложняет процесс их иммуногистохимического выявления в иЭРМ. Наиболее часто применяемым маркером для

окрашивания ВПМ является ламинин [9–11]. Однако использование антитела ко всем изоформам ламинина при изучении комплекса иЭРМ + ВПМ не позволяет достоверно выявить ВПМ в составе образца, так как установлена иммунореактивность ламинина 1 + 2, ламинина  $\alpha 5$ , ламинина  $\beta 1$  и ламинина  $\gamma 1$  с ВКМ эпиретинальных мембран. Были предложены более специфичные маркеры ВПМ, такие как ламинин 111 [12], ламинин 521 [13] и ламинин  $\beta 2$  [11], а также изоформа коллагена IV  $\alpha 3\alpha 4\alpha 5$  [14], однако результаты применения данных маркеров представлены в единичных работах, что не позволяет сделать однозначные выводы об их чувствительности и специфичности.

В связи со сказанным выше актуальным остается вопрос более детального морфологического изучения иЭРМ, в частности исследования пространственной взаимосвязи иЭРМ с ВПМ, а также определения иммуногистохимических маркеров, позволяющих достоверно выявить ВПМ в составе изучаемых образцов, что и определило цель настоящего исследования.

Нами представлен оригинальный способ препарирования эпиретинальных мембран, отличительной особенностью которого является формирование тонких срезов исследуемого препарата, что позволяет послойно исследовать строение удаленных мембран.

Цель исследования – изучить пространственное расположение и взаимоотношение компонентов эпиретинальных мембран, удаленных в ходе хирургического

вмешательства, а также определить иммуногистохимические маркеры, позволяющие достоверно выявить эпиретинальную и внутреннюю пограничную мембраны в исследуемых образцах.

### Материалы и методы

В исследовании участвовали 29 пациентов (29 препаратов глаза) с диагнозом «идиопатический эпиретинальный фиброз». Критериями включения пациентов были жалобы на ухудшение зрения, искажения линий, букв, контуров предметов, острота зрения выше 0,3, возраст старше 40 лет. Критерии исключения – серьезные сопутствующие глазные или соматические заболевания, миопия более 6 диоптрий, астигматизм свыше 3,0 диоптрий.

Пациентам выполнено хирургическое вмешательство – трехпортовая 25–27 Gauge хромовитректомия с контрастированием иЭРМ и ВПМ витальными красителями. С помощью эндовитреального пинцета проводили удаление иЭРМ и ВПМ (рис. 1, 2). Удаленные образцы помещали в пробирки с 2,0 мл 4% параформальдегида с последующим иммуногистохимическим анализом их компонентов. Все этапы исследования одобрены локальным этическим комитетом МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова (протокол № 11 от 10.04.2024). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на оперативное вмешательство.

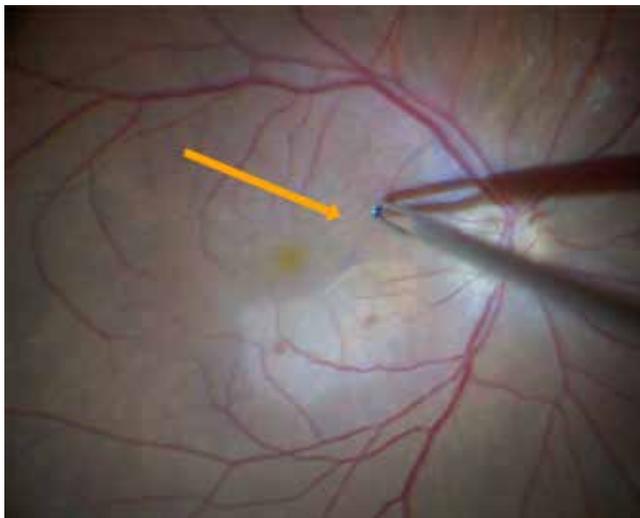


Рис. 1. Удаление эпиретинальной и внутренней пограничной мембраны в ходе оперативного вмешательства (интраоперационная фотография). Край мембраны захватывают с помощью эндовитреального пинцета и удаляют с поверхности сетчатки круговыми движениями

Fig. 1. Epiretinal and inner limiting membrane removal during surgery (intraoperative photo). The edge of the membrane is grasped with endovitreous forceps and removed from the retinal surface with circular movements

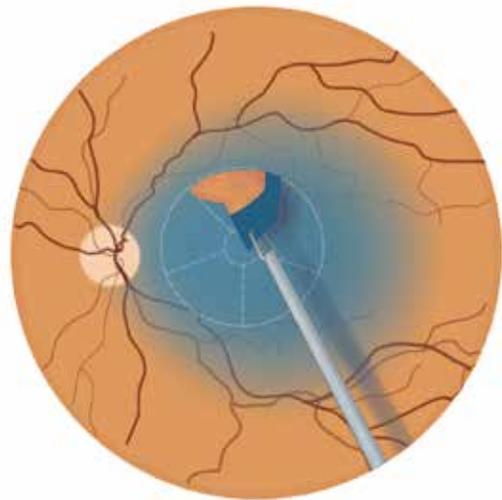


Рис. 2. Удаление эпиретинальной и внутренней пограничной мембраны в ходе оперативного вмешательства (схема). Край мембраны захватывают с помощью эндовитреального пинцета и удаляют с поверхности сетчатки круговыми движениями

Fig. 2. Epiretinal and inner border membrane removal during surgery (schematic representation). The edge of the membrane is grasped with endovitreous forceps and removed from the retinal surface with circular movements

### Подготовка образцов

Мембраны фиксировались по предложенной авторской методике (патент на изобретение № 2825847).

Препарат извлекали из раствора параформальдегида и размещали на пленке (Parafilm, Pechiney Plastic Packaging Company, США). С помощью шпателя и пинцета препарат мембраны сетчатки глаза ориентировали на поверхности пленки так, чтобы сохранялись исходная форма и топографические взаимоотношения частей препарата. Затем мембраны прикрепляли к пленке, фиксируя их края четырьмя шприцевыми иглами калибра 27 по шкале Гейдж (27G, 0,417 мм). Приготовленный таким образом препарат заливали криогелем Cryomatrix (6769006, EpreDia™, Германия), после застывания иглы удаляли и выполняли нарезку срезов на криомикротоме (HM 525 NX UV, Thermo Fisher Scientific, Китай). Толщина среза составила 5 мкм, два среза помещали на одно предметное полилизинное стекло (J2800AMNZ, Thermo Fisher Scientific, Германия).

### Иммуногистохимический анализ

Иммуногистохимическое исследование выполняли с целью выявления и визуализации следующих маркеров: коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  (ab6311, mouse, Abcam, Великобритания), ламинин  $\gamma 3$  (ab11575, rabbit, Abcam, Великобритания). Для этого подготовленные стекла с фрагментами мембран промывали стерильным раствором PBS (B-60201, «ПанЭко», Россия). Протокол иммуногистохимического исследования включал в себя следующие основные этапы: пермобилизация, раствор 0,1% Triton X100 (142314.1611, Panreac, Испания) в течение 10 минут, блокировка неспецифического связывания раствором 0,3% Tween 20 (A4974, Panreac, Испания) и 1% альбумина (68100, «ПанЭко», Россия) – 30 минут, инкубирование с первичными и вторичными антителами (Goat Anti-Mouse IgG (AF 594) (ab150080, Abcam, Великобритания) и Goat Anti-Rabbit (AF 488) (ab150077, Abcam, Великобритания) в течение 60 ми-

нут при комнатной температуре, ядра контрастировали красителем Hoechst #33258 (ab228551, Abcam, Великобритания), срезы монтировали под покровное стекло с использованием среды ImmunoHistoMount Medium (ab104137, Abcam, Великобритания). Анализ проводили на конфокальном лазерном сканирующем биологическом микроскопе FluoView FV10i (Olympus Corporation, Япония).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакетов прикладных программ Excel (Microsoft Inc., США) и Jamovi (Jamovi project, Австралия). Для оценки нормальности распределения использовали критерий Шапиро–Уилка. Данные с нормальным распределением представлены в формате  $M \pm \sigma$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $\sigma$  – среднеквадратическое отклонение. Данные с отсутствием нормального распределения приведены в формате  $Me [Q1; Q3]$ , где  $Me$  – медиана,  $Q1$  и  $Q3$  – первый и третий квартили.

### Результаты

Клинико-демографические данные пациентов представлены в таблице.

Для выявления специфичности маркеров выполняли окрашивание удаленных образцов на антитела к ламинину  $\gamma 3$  и коллагену IV  $\alpha 1\alpha 2$ , которые предположительно должны окрашивать внутреннюю пограничную мембрану в составе образца. Известно, что иЭРМ содержит клеточный слой, в то время как ВПМ, как и все базальные мембраны, лишена клеток. Таким образом, для выявления эпиретинальных мембран в образцах выполняли окрашивание ядерным красителем Hoechst #33258. В первом образце присутствует только внутренняя пограничная мембрана, эпиретинальная мембрана не выявлена (рис. 3). В составе второго образца визуализируется избирательное окрашивание ВПМ коллагеном IV  $\alpha 1\alpha 2$ , наличие иЭРМ подтверждается окрашиванием ядер клеток в составе мембраны (рис. 4).

Таблица | Table

Клинико-демографические данные пациентов в группах,  $M \pm \sigma$  (мин.-макс.) |  
Clinical and demographic data of patients,  $M \pm \sigma$  (min.-max.)

Показатель   Indicator	Результаты   Results
Общее число пациентов (глаз)   Total number of patients (eyes)	29
Возраст, лет   Age, years	69,7±7,1 (57–86)
Пол (ж/м)   Sex (f/m)	18/11
Максимальная корригированная острота зрения, букв по таблице ETDRS   Best corrected visual acuity, ETDRS letter score	68,8±9,8 (35–85)
Длина переднезадней оси глаза, мм   Axial length, mm	23,6±1,0 (21,5–25,6)
Средняя толщина сетчатки в фовеальной зоне, мкм; $Me [Q1; Q3]$   Average retinal thickness in the foveal zone, $\mu m$ ; $Me [Q1; Q3]$	320 [310; 350]
Длительность заболевания, месяцев   Duration of the disease, months	6,9±1,2 (4–9)

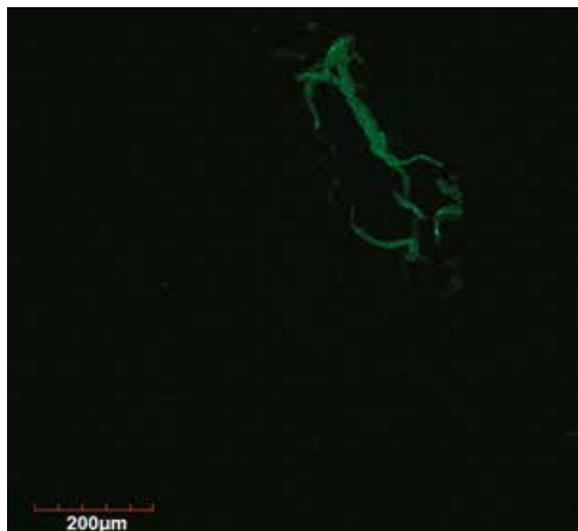


Рис. 3. Срез фрагмента удаленной внутренней пограничной мембраны. Иммунофлуоресцентное окрашивание: ламинин  $\gamma 3$ , контрастирование ядер Hoechst #33258. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия,  $\times 100$

Fig. 3. Cross-section of a fragment of the removed internal limiting membrane. Immunofluorescent staining: laminin  $\gamma 3$ , nuclear counterstaining Hoechst #33258. Confocal laser scanning microscopy,  $\times 100$

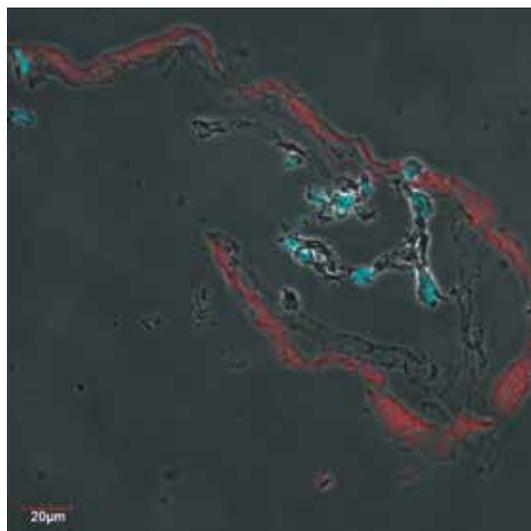


Рис. 4. Срез фрагмента комплекса эпиретинальной мембраны и внутренней пограничной мембраны. Иммунофлуоресцентное окрашивание: коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$ , контрастирование ядер Hoechst #33258. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия с наложением изображения фазово-контрастной микроскопии,  $\times 600$

Fig. 4. Cross-section of a fragment of the epiretinal membrane and internal limiting membrane complex. Immunofluorescence staining:  $\alpha 1\alpha 2$  type IV collagen, nuclear counterstaining Hoechst #33258. Confocal laser scanning microscopy with superposition of phase-contrast microscopy image,  $\times 600$

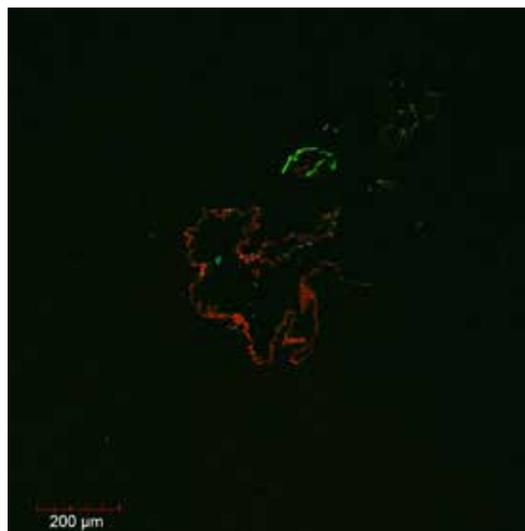


Рис. 5. Фрагмент удаленного комплекса эпиретинальной мембраны и внутренней пограничной мембраны, I морфологический тип. Иммунофлуоресцентное окрашивание: ламинин  $\gamma 3$  (зеленое свечение), коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  (красное свечение), контрастирование ядер Hoechst #33258. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия,  $\times 100$

Fig. 5. Fragment of a removed complex of the epiretinal membrane and internal limiting membrane, morphological type I. Immunofluorescent staining: laminin  $\gamma 3$  (green glow),  $\alpha 1\alpha 2$  type IV collagen (red glow), nuclear contrast Hoechst #33258. Confocal laser scanning microscopy,  $\times 100$

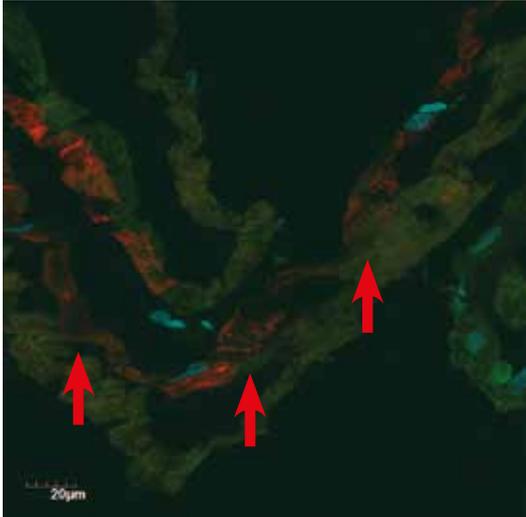
В результате исследуемые маркеры коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  и ламинин  $\gamma 3$  подтвердили свою специфичность при окрашивании ВПМ в составе изучаемых образцов.

Для подтверждения гипотезы о специфичности выбранных маркеров сформирована группа из 29 образцов иЭРМ + ВПМ, удаленных с поверхности сетчатки. При анализе данных иммуногистохимического исследования удаленных образцов были выявлены три тенденции формирования взаимоотношений между иЭРМ и ВПМ, которые нами названы морфологическими типами иЭРМ.

1. Раздельное расположение иЭРМ и ВПМ (восемь образцов).
2. иЭРМ с участками фиксации к ВПМ (11 образцов).
3. иЭРМ и ВПМ представляют собой единый комплекс с измененной структурой (10 образцов).

Для I морфологического типа иЭРМ было характерно раздельное расположение иЭРМ и ВПМ без наличия участков фиксации (рис. 5)

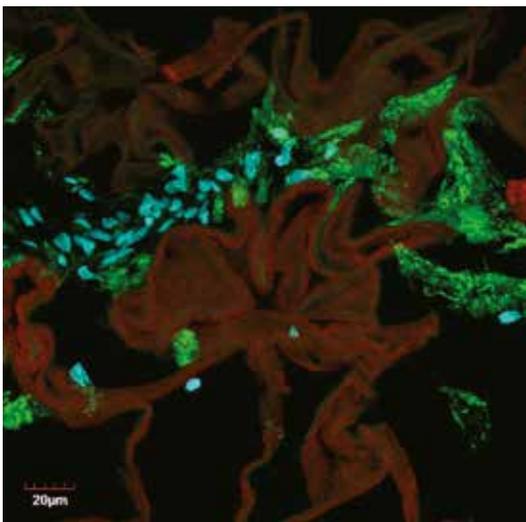
При II морфологическом типе иЭРМ отмечалось наличие как участков адгезии иЭРМ к ВПМ, так и участков свободного расположения мембран без фиксации. Визуализируется наличие участков адгезии иЭРМ с ВПМ (указаны красными стрелками на рис. 6), также помимо наличия участков адгезии в данном образце



*Рис. 6.* Фрагмент удаленного комплекса эпиретинальной мембраны и внутренней пограничной мембраны, II морфологический тип. Иммунофлуоресцентное окрашивание: ламинин  $\gamma 3$  (зеленое свечение), коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  (красное свечение), контрастирование ядер Hoechst #33258.

*Красными стрелками* указаны участки адгезии мембран. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия,  $\times 600$

*Fig. 6.* A fragment of the removed complex of the epiretinal membrane and internal limiting membrane, morphological type II. Immunofluorescent staining: laminin  $\gamma 3$  (green glow),  $\alpha 1\alpha 2$  type IV collagen (red glow), nuclear contrast Hoechst #33258. *Red arrows* indicate membrane adhesion sites. Confocal laser scanning microscopy,  $\times 600$



*Рис. 7.* Фрагмент удаленного комплекса эпиретинальной мембраны и внутренней пограничной мембраны, II морфологический тип. Иммунофлуоресцентное окрашивание: ламинин  $\gamma 3$  (красное свечение), коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  (зеленое свечение), контрастирование ядер Hoechst #33258. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия,  $\times 600$

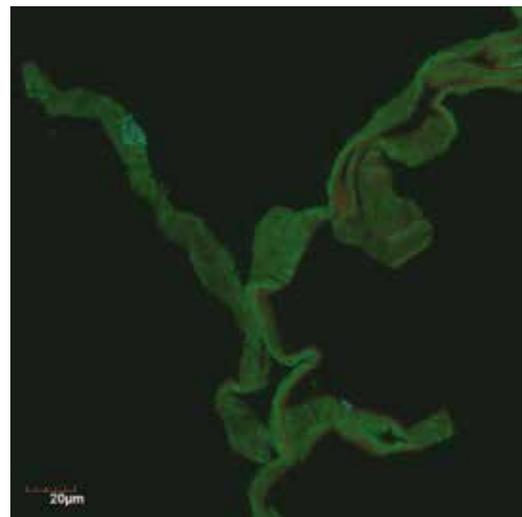
*Fig. 7.* A fragment of the removed complex of the epiretinal membrane and internal limiting membrane, morphological type II. Immunofluorescent staining: laminin  $\gamma 3$  (red glow), collagen IV  $\alpha 1\alpha 2$  (green glow), nuclear contrast Hoechst #33258. Confocal laser scanning microscopy,  $\times 600$

наблюдается обширная «складчатость» ВПМ, обусловленная предположительно выраженными контрактильными свойствами иЭРМ, которая показана на рисунке 7.

Ключевой особенностью III морфологического типа иЭРМ являлось наличие единой измененной структуры, окрашиваемой как на ламинин  $\gamma 3$ , так и на коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  (рис. 8). При этом в данных мембранах невозможно различить отдельные компоненты, образцы представляют собой конгломерат измененных клеток и внеклеточного матрикса.

### Обсуждение

Актуальным на сегодняшний день является исследование не только качественного клеточного состава иЭРМ, но и различных комбинаций взаимоотношения структурных компонентов эпиретинальной и внутренней пограничной мембран в их составе. Известно, что модификация клеточного фенотипа и функций клеток в процессе прогрессирования иЭРМ приводит к интенсификации синтеза компонентов ВКМ [3]. Чрезмерное накопление коллагена с изменением свойств ВКМ, в свою очередь, влияет на пролиферативный потенциал и способность к сокращению мембран, что клинически проявляется прогрессированием и выраженностью признаков заболевания. Тем не



*Рис. 8.* Фрагмент удаленного комплекса эпиретинальной мембраны и внутренней пограничной мембраны, III морфологический тип. Иммунофлуоресцентное окрашивание: ламинин gamma 3 (зеленое свечение), коллаген IV  $\alpha 1\alpha 2$  (красное свечение), контрастирование ядер Hoechst #33258. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия,  $\times 600$

*Fig. 8.* A fragment of the removed epiretinal membrane and internal limiting membrane complex, morphological type III. Immunofluorescent staining: laminin  $\beta 2$  (green glow),  $\alpha 1\alpha 2$  type IV collagen (red glow), nuclear contrast Hoechst #33258. Confocal laser scanning microscopy,  $\times 600$

менее характер взаимодействия структур ВКМ между собой и с ВПМ сетчатки и иЭРМ изучен недостаточно.

Фиксация образцов иЭРМ с использованием тонких срезов позволила не только определить наличие искомым антигенов в составе изучаемого образца, но и визуализировать пространственное взаимоотношение компонентов ВКМ изучаемых мембран. Выявленные в рамках данной работы морфологические типы иЭРМ могут, с одной стороны, подтверждать результаты предыдущих работ [3], наглядно демонстрируя стадию прогрессирования иЭРМ, а с другой – указывать на наличие отдельных различных форм заболевания, выявление которых при использовании клинических и инструментальных видов диагностики не представляется возможным. В пользу наличия отдельных форм патологии указывает тот факт, что длительность заболевания у исследуемых пациентов была статически однородна и составляла  $6,9 \pm 1,2$  месяца. Дальнейшее качественное и количественное изучение клеточного состава, соотношения компонентов ВКМ, изменений клеточной адгезии и пространственных взаимоотношений в составе иЭРМ, а также корреляция их с клиническими показателями пациентов с данным диагнозом позволит дать более детальную оценку выявленным морфологическим типам иЭРМ и определить стратегии по профилактике и лечению заболевания.

## Заключение

Ламинин  $\gamma 3$  и коллаген IV  $\alpha 1 \alpha 2$  являются достоверными маркерами внутренней пограничной мембраны, которые позволяют исследовать пространственные взаимоотношения идиопатической эпиретинальной мембраны и внутренней пограничной мембраны в составе изучаемых образцов идиопатической эпиретинальной мембраны при использовании предложенного метода фиксации с формированием тонких срезов. Предварительные результаты указывают на три тенденции формирования взаимоотношений между идиопатической эпиретинальной мембраной и внутренней пограничной мембраной (три морфологических типа идиопатической эпиретинальной мембраны), требующие дальнейшего изучения с использованием клинических данных и методов статистического анализа.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – С.А. Борзенко, С.В. Колесник, Д.С. Островский, А.С. Журавлев.  
Сбор и обработка материала – А.И. Колесник, М.Х. Хубецова, Т.З. Керимов, А.А. Чурилов.  
Анализ данных – С.В. Колесник, Д.С. Островский, А.С. Журавлев.  
Написание текста – Д.С. Островский, А.С. Журавлев, С.В. Колесник.  
Редактирование – С.А. Борзенко, С.В. Колесник, М.Х. Хубецова.

## Author contribution

Conceived the study and designed the experiment – S.A. Borzenok, S.V. Kolesnik, D.S. Ostrovskiy, A.S. Zhuravlev.  
Data collection – A.I. Kolesnik, M.Kh. Khubetsova, T.Z. Kerimov, A.A. Churilov.  
Data analysis – S.V. Kolesnik, D.S. Ostrovsky, A.S. Zhuravlev.  
Wrote the paper – D.S. Ostrovskiy, A.S. Zhuravlev, S.V. Kolesnik.  
Edited the manuscript – S.A. Borzenok, S.V. Kolesnik, M.Kh. Khubetsova.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## Литература/References

1. Xiao W, Chen X, Yan W, Zhu Z, He M. Prevalence and risk factors of epiretinal membranes: a systematic review and meta-analysis of population-based studies. *BMJ Open*. 2017;7(9):e014644. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-014644.
2. Fung AT, Galvin J, Tran T. Epiretinal membrane: a review. *Clin Exp Ophthalmol*. 2021;49(3):289–308. DOI: 10.1111/ceo.13914.
3. Борзенко С.А., Захаров В.Д., Миридонова А.В., Куприянова А.Г., Колесник С.В., Островский Д.С. и др. Патологические механизмы эпителиально-мезенхимальной трансформации при идиопатическом эпиретинальном фиброзе. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2020;64(1):15–22. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.01.15-22. Borzenok SA, Zakharov VD, Miridonova AV, Kupriyanova AG, Kolesnik SV, Ostrovsky DS et al. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal*. 2020;64(1):15–22 (In Russ.). DOI: 10.25557/0031-2991.2020.01.15-22.
4. Viores SA, Campochiaro PA, Conway BP. Ultrastructural and electron-immunocytochemical characterization of cells in epiretinal membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990;31(1):14–28. PMID: 1688833.
5. Morino I, Hiscott P, McKechnie N, Grierson I. Variation in epiretinal membrane components with clinical duration of the proliferative tissue. *Br J Ophthalmol*. 1990;74(7):393–9. DOI: 10.1136/bjo.74.7.393.
6. Guérin CJ, Wolfshagen RW, Eifrig DE, Anderson DH. Immunocytochemical identification of Müller's glia as a component of human epiretinal membranes. *Invest Ophthalmol Visual Sci*. 1990;31(8):1483–91. PMID: 2387681.
7. Bu SC, Kuijjer R, van der Worp RJ, Postma G, Renardel de Lavalette VW, Li XR et al. Immunohistochemical evaluation of idiopathic epiretinal membranes and in vitro studies on the effect of TGF- $\beta$  on Müller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(11):6506–14. DOI:10.1167/iovs.14-15971.
8. Kritzenberger M, Junglas B, Framme C, Helbig H, Gabel VP, Fuchshofer R et al. Different collagen types define two types of idiopathic epiretinal membranes. *Histopathology*. 2011;58(6):953–65. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.03820.x.
9. Gandorfer A, Scheler R, Haritoglou C, Schumann R, Nentwich M, Kampik A. Pathology of the macular hole rim in flat-mounted internal limiting membrane specimens. *Retina*. 2009;29(8):1097–105. DOI: 10.1097/IAE.0b013e3181aa8fb1.
10. Schumann RG, Banyai D, Hagenau F, Mautone L, Hammer T, Wolf A et al. Pores of the internal limiting membrane: a common finding in vitreomaculopathies. *Retina*. 2023;43(10):1773–9. DOI: 10.1097/IAE.0000000000003859.
11. Altera A, Tosi GM, Regoli M, De Benedetto E, Bertelli E. The extracellular matrix complexity of idiopathic epiretinal membranes and the bilaminar arrangement of the associated internal limiting membrane in the posterior retina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2021;259(9):2559–71. DOI: 10.1007/s00417-021-05156-6.

12. *Timpl R, Rohde H, Robey PG, Rennard SI, Foidart JM, Martin GR.* Laminin-a glycoprotein from basement membranes. *J Biol Chem.* 1979;254(19):9933–7. PMID: 114518.
13. *Halfier W, Sebag J, Cunningham ET Jr.* II.E. Vitreoretinal interface and inner limiting membrane. In: J. Sebag (ed.). *Vitreous: in health and disease.* New York: Springer, 2014. P. 165–91. DOI: 10.1007/978-1-4939-1086-1\_11.
14. *Regoli M, Tosi GM, Neri G, Altera A, Orazioli D, Bertelli E.* The peculiar pattern of type IV collagen deposition in epiretinal membranes. *J Histochem Cytochem.* 2020;68(2):149–62. DOI: 10.1369/0022155419897258.

### Информация об авторах

Сергей Анатольевич Борзенко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова», профессор кафедры офтальмологии Российского университета медицины.

Светлана Валерьевна Колесник – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела витреоретинальной хирургии и диабета глаза НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Дмитрий Сергеевич Островский – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Алексей Сергеевич Журавлев – аспирант отдела витреоретинальной хирургии и диабета глаза НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Мадина Хетагровна Хубецова – кандидат медицинских наук, заведующая глазным тканевым банком НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Тимур Захарович Керимов – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова», ассистент кафедры офтальмологии Российского университета медицины.

Алексей Александрович Чурилов – младший научный сотрудник лаборатории трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Антон Игоревич Колесник – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела витреоретинальной хирургии и диабета глаза НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

### Author information

Sergey A. Borzenok – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”; Professor, Ophthalmology Department, Russian University of Medicine.

<https://orcid.org/0000-0001-9160-6240>

Svetlana V. Kolesnik – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Department of Vitreoretinal Surgery and Eye Diabetes, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-0939-024X>

Dmitriy S. Ostrovskiy – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Transplantology and Cell Biology, Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-2817-7102>

Alexey S. Zhuravlev – Postgraduate Student, Department of Vitreoretinal Surgery and Eye Diabetes, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-6306-0428>

Madina Kh. Khubetsova – Cand. Sci. (Med.), Head of the Eye Tissue Bank, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-6378-8750>

Timur Z. Kerimov – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Transplantology and Cell Biology, Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”; Teaching Assistant, Ophthalmology Department, Russian University of Medicine.

<https://orcid.org/0000-0001-8967-6370>

Alexey A. Churilov – Junior Researcher, Laboratory of Transplantology and Cell Biology, Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-1018-8257>

Anton I. Kolesnik – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Department of Vitreoretinal Surgery and Eye Diabetes, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-6835-7204>