

Разработка и экспериментальное обоснование эффективности методики локального субретинального введения ксеногенных стволовых клеток меченых магнитными частицами



Ю. А. Белый¹



А. В. Терещенко¹



С. А. Миргородская³



А. А. Темнов²

А. В. Семенов³, А. В. Ревущин⁴, Г. В. Павлова⁴, Н. Н. Куст⁴

¹ Калужский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. им. Святослава Фёдорова, д. 5, г. Калуга, 248007, Российская Федерация

² Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского, Большая Сухаревская площадь д. 3; Москва, 129010, Россия

³ ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Бескудниковский бульвар д. 59а, Москва, 127486, Россия

⁴ Институт Биологии гена Российской Академии Наук, ул. Вавилова, д. 34/5, г. Москва, 119334, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. — 2014. — Т. 11, № 3. — С. 45–51

Цель — разработать методику локального субретинального введения ксеногенных стволовых клеток меченых магнитными частицами, и экспериментально обосновать ее эффективность. **Материал и методы.** В работе использована линия стволовых клеток HEK-293 GFP меченых магнитными частицами. Исследование проведено на 84 глазах 42 кроликов породы шиншилла в возрасте 6 месяцев весом от 2,5 до 3,5 кг. Все правые глаза были опытными (42 глаза), левые (42 глаза) — контрольными. В опытной группе к склере подшивали комплекс полимерного эластичного магнитного имплантата (ПЭМИ) с лазерным зондом, проводили срединную витрэктомию и с помощью специально разработанного дозатора вводили HEK-293 GFP под сетчатку. В группе контроля ПЭМИ с лазерным зондом не фиксировали. В сроки 1, 3, 5, 7, 14 суток и 1 месяц проводили биомикроскопию, офтальмоскопию глазного дна с фотографированием, ультразвуковое офтальмосканирование, оптическую когерентную томографию (ОКТ), компьютерную томографию (КТ), морфологическое исследование (крио-гистологические срезы). **Результаты.** По данным биомикроскопии в сроки наблюдения до 3 суток имела место инъекция сосудов в зоне операции. По данным офтальмоскопии, ультразвукового исследования в 1-е сутки визуализировалась локальная отслойка сетчатки в зоне введения клеток, которая не наблюдалась в дальнейшие сроки наблюдениями. По данным КТ подтверждено место расположения ПЭМИ. По данным морфологического исследования доказано, что в опытной группе клетки располагаются в субретинальном пространстве в сроки до 14 суток, а в группе контроля — только до 3 суток. **Выводы.** Разработанный хирургический способ дает возможность контролировать введение клеток в субретинальное пространство, снижает риск повреждения тканей и выхода клеток в полость стекловидного тела. Предложенная методика позволяет осуществить фиксацию клеточного материала в месте его локального введения и дает возможность прогнозирования движения клеток.

Ключевые слова: стволовые клетки, магнитные частицы, субретинальное введение.

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Конфликт интересов отсутствует.

ВВЕДЕНИЕ.

Проблема восстановления функции необратимо поврежденных органов и тканей путем трансплантации органов и клеток разрабатывалась на протяжении все-

го XX века. В результате многочисленных исследований и наблюдений стало очевидным, что с помощью методов клеточной трансплантации появляется возможность возмещения отсутствующих клонов специализи-

Development and experimental basis of local subretinal technique of xenogenic's injection stem cells labelled by magnetic perticles

Yu. A. Belyy¹, A. V. Tereshchenko¹, S. A. Mirgorodskaya³, A. A. Temnov², A. D. Semenov³, A. V. Revishchin⁴, G. V. Pavlova⁴, N. N. Hust⁴

¹ Haluga branch of FSBI «IRTC «Eye microsurgery» named after Academician S. N. Fedorov» of the Russian Public Health Ministry, 1 Haluga Branch of the Federal State Budget Establishment «the Interbranch Scientific-Technical Complex «Eye microsurgery» named after academician Fedorov», St. named Svjatoslav Fjodorov, 5, Haluga, 248007, Russia; ² Research Institute of Emergency Care named after N. V. Sklifosofsky, 3 Bolshaya Sukharevskaya Square; Moscow, 129010, Russia; ³ FSBI «IRTC «Eye microsurgery» named after Academician S. N. Fedorov» of the Russian Public Health Ministry, Beskudnikovskiy Boul. 59a, Moscow, 127486, Russia; ⁴ Institute of gene biology of Russian Academy of Sciences, 34/5, Vavilova St., Moscow, 119334, Russian Federation

SUMMARY

Purpose: is to develop a technique for local subretinal injection of xenogeneic stem cells labeled with magnetic particles and to prove experimentally its effectiveness. **Material and methods:** We used a line of stem cells HEK-293 GFP, labeled with magnetic particles. The study was made on 84 eyes of 42 chinchilla rabbits 6 months of age, the weight were from 2.5 to 3.5 kg. All right eyes were experimental (42 eyes) and all left eyes (42 eyes) were the control group. In the experimental group we used original complex of polymer elastic magnetic implant (PEMI) with laser probe and fixed it to the sclera, then we made a median vitrectomy and injected HEK-293 GFP under the retina using a specially designed dispenser. In the control group PEMI was not fixed. We examined animals using biomicroscopy, ophthalmoscopy, ultrasound scanning, optical coherence tomography (OCT), computer tomography (CT), morphological study (cryo-histological sections) in 1, 3, 5, 7, 14 day and 1 month after surgery. **Results:** According the results of biomicroscopy in observation periods up to 3 days the vascular injection was visualized in the area operation. According the results of ophthalmoscopy and ultrasound scanning in 1 day the local retinal detachment was visualized in the area of local injection of the stem cells, which was not visualized in terms of further observations. CT helped us to confirm the local place of PEMI fixation. The morphological study results showed that cells were located in the subretinal space up to 14 days in the experimental group, and only up 3 days in the control group. **Conclusion:** The suggested surgical technique enables to control the injection of cells into the subretinal space, reduces the risk of tissue damage and exit cells in the vitreous space. The suggested methodology allows the fixing of the cellular material in the local place of the injection and enables to predict cells's movement.

Keywords: stem cells, magnetic particles, subretinal injection.

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned. There is no conflict of interests

Ophthalmology in Russia. — 2014. — Vol. 11, No 3. — P. 45–51

рованных клеток в поврежденных органах и увеличения пула функционирующих клеток. Стволовые клетки также способствуют активизации в сохранившихся клетках поврежденного органа собственного резерва регенерации и пролиферации [1,2].

В офтальмологии еще в 1959 году трансплантированы части сетчатки. Эти части, помещаемые в глазные среды, не погибали сразу, но и не интегрировались в сетчатку реципиента [3]. Затем были проведены эксперименты по исследованию возможности встраивания стволовых клеток в слои сетчатки и дифференцировки их в фоторецепторы [4,5,6]. В 1998 г. было доказано, что трансплантированные в стекловидное тело экспериментальных животных стволовые клетки мигрируют, встраиваются в слои сетчатки, дифференцируются по нейрональному типу, формируют многочисленные отростки, идентичные нормальным аксонам, а в отдельных случаях аксоны введенных клеток про-

растают в зрительный нерв [7]. Помимо этого, стволовые клетки применяли при травматических повреждениях и органических заболеваниях сетчатки экспериментальных животных. Исследовано влияние стволовых клеток на функциональное состояние и степень выраженности дегенеративных изменений в сетчатке крыс линии Campbell [8], при токсическом поражении зрительного нерва [9], при лечении частичной атрофии зрительного нерва [10]. Авторы показали, что стволовые клетки оказывают выраженное стабилизирующее влияние на процессы дегенерации, на органические изменения и краткосрочно улучшают функции сетчатки, что подтверждено методами ЭРГ. Однако все авторы описывают сложность визуализации клеток в экспериментах *in vivo* после трансплантации, а также на кратковременность эффекта, что связано с затруднением фиксации клеток в месте введения и их миграцией в другие отделы глаза.

Предложены различные способы введения стволовых клеток при патологии сетчатки и зрительного нерва: внутривенное, субконъюнктивальное, субтеноновое, парабулбарное, интравитреальное, супрахориоидальное, введение в канал, образованный после радиальной оптической нейротомии. Преимущество отдается методу субретинального введения в связи с возможностью максимального приближения к месту повреждения. Однако, к сожалению, субретинальный способ введения клеток является достаточно травматичным и также не исключает миграции клеток.

В настоящее время популярным направлением становится использование магнитных технологий с целью фиксации стволовых клеток в месте их введения. Впервые с этой целью стволовые клетки, с введенными в них магнитными наночастицами, использованы для движения стволовых клеток при внутривенном введении по направлению к области печени. Для этого у крыс в проекции печени размещали внешний магнит, который «притягивал» введенные внутривенно клетки, где они в итоге и депонировались [11, 12]. Кроме того, стволовые клетки, с введенными в них магнитными наночастицами, использовали для подведения к месту повреждения сосудов и сердца [13, 14].

В офтальмологии магнитные технологии с целью фиксации клеточного материала до настоящего времени не использовались.

Цель настоящего исследования состояла в разработке методики локального субретинального введения ксеногенных стволовых клеток меченых магнитными частицами и экспериментальном обосновании ее эффективности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.

В работе использована линия стволовых клеток НЕК-293 GFP (human embryonic kidneys), полученная из клеток почки эмбриона человека, выращенная в культуре ткани и трансфицированная GFP плазмидой и сокультивированная с магнитными частицами Dynobeads ($d = 2,8$ мкм).

Исследование *in vivo* проведено на 84 глазах 42 кроликов породы шиншилла в возрасте 6 месяцев весом от 2,5 до 3,5 кг. Все правые глаза были опытными (42 глаза), а левые (42 глаза) — контрольными. Кроликам в оба глаза за 30 минут до операции в конъюнктивальную полость инстиллировали 1-2 капли 1% раствора атропина и 10% раствора мезатона для достижения медикаментозного мидриаза. Наркоз осуществляли с помощью внутримышечного введения 1% раствора гексенала из расчета 0,5 мл на 1 кг веса животного. Общее обезболивание дополняли трехкратной инстилляцией в конъюнктивальную полость 0,4% раствора инокаина. Перед операцией всем кроликам проводили промывание конъюнктивальной полости раствором фурацилина 1:5000. Имобилизацию животных осуществляли путем тугого бинтования.

В опытной группе (42 глаза) после установки блефаростата, отступя 3 мм от лимба, с помощью конъюнктив-

альных ножниц в нижнем сегменте проводили разрез конъюнктивы и теноновой оболочки протяженностью 10 мм. Далее выделяли нижнюю прямую мышцу, брали ее на шов-держалку, затем в 7-ми мм от лимба подшивали комплекс полимерного эластичного магнитного имплантата (ПЭМИ) толщиной 0,35 мм, диаметром 4 мм, напряженностью магнитного поля 5,0 мТл с лазерным зондом. В 3-х мм от лимба в верхнем и верхненаружном сегменте устанавливали три порта 25G в проекции плоской части цилиарного тела, фиксировали инфузионную систему, световод, витреотом, проводили срединную витректомию. Суспензию объемом 0,02 мл, содержащую стволовые клетки ($n \sim 6000$), меченые магнитными частицами, вводили субретинально при помощи специально разработанного устройства для дозирования с иглой 25G, на конце которой расположена изогнутая канюля 41G с заточенным нижним краем. Для предотвращения выхода клеток через ретинотомическое отверстие, сразу после их введения в витреальную полость вводили газозавоздушную смесь в количестве 0,3-0,4 мл. По завершении эксперимента лазерный зонд обрезали на уровне полимерного эластичного магнитного имплантата. На склеротомические отверстия и конъюнктиву накладывали шов Coated Vicryl 8-0 (Ethicon).

В группе контроля (42 глаза) хирургическое введение стволовых клеток субретинально проводили без фиксации полимерного эластичного магнитного имплантата с лазерным зондом.

Всем экспериментальным животным в послеоперационном периоде через 3 часа, 1, 3, 5, 7, 10, 14 суток, 1 месяц выполняли биомикроскопию, офтальмоскопию глазного дна с фотографированием, ультразвуковое офтальмосканирование, оптическую когерентную томографию (ОКТ), компьютерную томографию (КТ), морфологическое исследование (крио-гистологические срезы).

РЕЗУЛЬТАТЫ.

По результатам биомикроскопии в сроки наблюдения 1-3 суток в обеих группах отмечена инъекция глазного яблока в зоне проведения хирургического вмешательства, которая проходила к 5-м суткам, на всех сроках наблюдения швы конъюнктивы и склеротомических отверстий были адаптированы, оптические среды прозрачны, воспалительных явлений не отмечено.

По результатам офтальмоскопии на 1-е сутки во всех глазах опытной и контрольной групп визуализировалась локальная отслойка сетчатки в зоне введения клеток, дефект сетчатки и сосудистой оболочки. К 3-м суткам отслойка сетчатки не визуализировалась, но дефект сетчатки и сосудистой оболочки сохранялся. В дальнейшие сроки наблюдения было сложно визуализировать место локального введения клеток.

По данным ультразвукового исследования во всех глазах опытной и контрольной групп на 1 сутки визуализировалась локальная отслойка сетчатки высо-

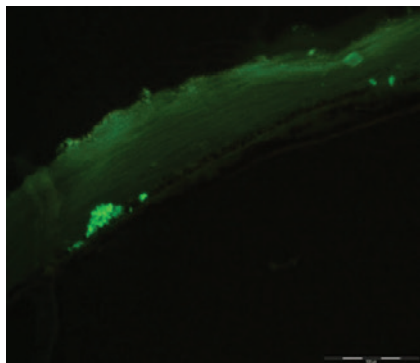


Рис. 1. Микроскопия в режиме флуоресценции, оптимальном для зеленого флуоресцентного белка. Увеличение $\times 4$. Опыт. 1 сутки. Клетки HEK-293 GFP под сетчаткой

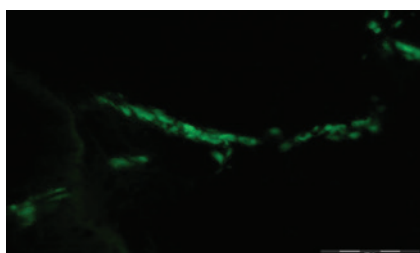


Рис. 2. Микроскопия в режиме флуоресценции, оптимальном для зеленого флуоресцентного белка. Увеличение $\times 10$. Контроль. 1 сутки. Клетки HEK-293 GFP в полости стекловидного тела

той 1,0-1,4 мм, которая к 3-м суткам уменьшилась до 0,4-0,7 мм, а к 5-м сутками — не визуализировалась. Во все сроки наблюдения в обеих группах визуализировалась мелкодисперсная взвесь в стекловидном теле, а в опытной группе — эхо-тень от магнита.

Результаты ОКТ были непоказательными из-за затруднительной визуализации зоны локального субретинального введения суспензии стволовых клеток. Возможно, это было связано с частичным помутнением оптических сред и особенностями анатомического строения глаза кролика. Было принято решение данными ОКТ пренебречь.

По данным КТ во всех случаях выявлено расположение ПЭМИ в правом ретробульбарном пространстве в нижнелатеральном квадранте, левые орбиты были интактны, патологических очагов не выявлено.

По данным флуоресцентной микроскопии криосрезов энуклеиро-

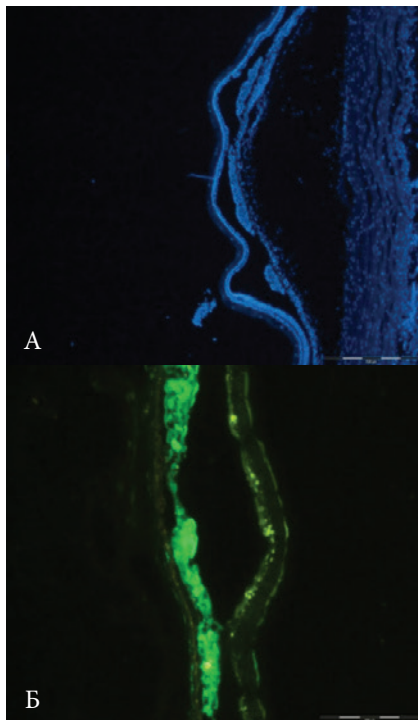


Рис. 3. Микроскопия в режиме флуоресценции, оптимальном для зеленого флуоресцентного белка. Увеличение $\times 4$ (А), $\times 10$ (Б). Опыт. 3 сутки. Окраска среза бисбензими́дом для визуализации ядер живых клеток (А). Группы клеток HEK-293 GFP, расположенных субретинально

ванных глазных яблок в первые сутки во всех 6-ти глазах опытной группы клетки HEK-293 GFP располагались в месте их введения под сетчаткой. В стекловидном теле и других структурах глаза они не были обнаружены (рис. 1). Во всех глазах группы контроля были найдены единичные клетки или группы клеток HEK-293 GFP в полости стекловидного тела, не связанные с другими структурами глаза (рис. 2).

На 3-и сутки во всех глазах опытной группы клетки HEK-293 GFP располагались также в месте введения под сетчаткой. При добавлении на срезы красителя бисбензими́да, окрашивающего ядра живых клеток, доказано, что клетки, находящиеся под сетчаткой, являются живыми (рис. 3 А-В). В группе контроля в 3-х глазах из 6-ти в полости стекловидного тела обнаружены скопления клеток HEK-293 GFP, не связанные с другими структурами глаза, в остальных

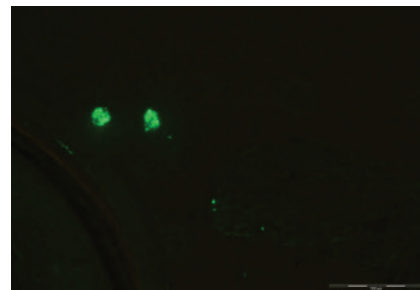


Рис. 4. Микроскопия в режиме флуоресценции, оптимальном для зеленого флуоресцентного белка. Увеличение $\times 4$. Контроль. 3 сутки. Клетки HEK-293 GFP в полости стекловидного тела

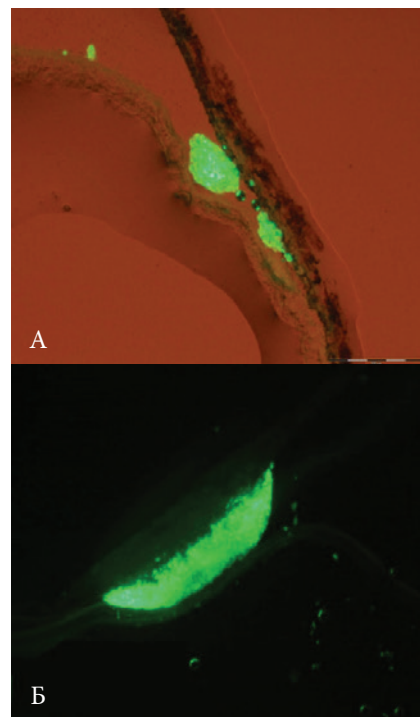


Рис. 5. Микроскопия в режиме флуоресценции, оптимальном для зеленого флуоресцентного белка (Б), в проходящем свете (А). Увеличение $\times 4$. Опыт. 7 сутки (А), 14 сутки (Б). Клетки HEK-293 GFP расположены субретинально

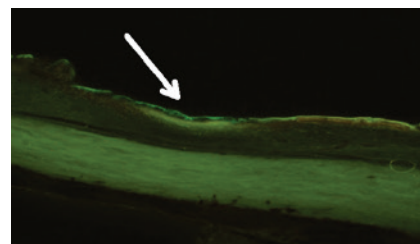


Рис. 6. Микроскопия в режиме флуоресценции, оптимальном для зеленого флуоресцентного белка. Увеличение $\times 10$. Опыт. 1 месяц. Флуоресценция в месте фиксации ПЭМИ (указано стрелкой)

3-х глазах клетки НЕК-293 GFP обнаружены не были (рис. 4).

В сроки наблюдения 5, 7, 10, 14 суток в опытной группе клетки НЕК-293 GFP также располагались в месте их введения, но количество клеток снижалось на каждом последующем сроке наблюдения (рис. 5 А-В). К 1 месяцу клетки обнаружить не удалось ни в одном случае, но во всех 6-ти глазах имела место присклеральная флюоресценция в зоне подшивания ПЭМИ (рис. 6). В группе контроля в сроки наблюдения 5, 7, 10, 14 суток и 1 месяц клетки не визуализировались.

ОБСУЖДЕНИЕ.

В настоящее время для восстановления поврежденных органов и тканей наиболее перспективным направлением являются клеточные технологии [1, 8, 11,13]. В офтальмологических экспериментальных работах трансплантация стволовых клеток также доказала свою эффективность при травматических и дегенеративных заболеваниях сетчатки и зрительного нерва [3, 6, 7, 12]. Однако исследователи столкнулись с проблемой кратковременности эффекта в связи с выраженной миграцией трансплантированного материала в другие отделы глаза и травматизацией окружающих тканей при проведении хирургических вмешательств. Поэтому актуальным вопросом является разработка технологии фиксации клеточного материала в зоне его локальной трансплантации с наименьшей травматизацией тканей во время операции.

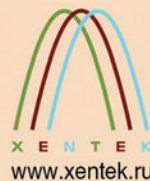
В нашей работе мы использовали клеточную линию НЕК-293 в связи с легкостью ее получения, культивирования и со-культивирования с магнитными частицами и возможностью провести трансфекцию GFP-плазмидой. Это давало неоспоримое преимущество при проведении флюоресцентной микроскопии криогистологических срезов.

Для введения клеточной суспензии в субретинальное пространство нами было разработано специальное устройство, которое обеспечивало деликатное введение клеток с минимальной травматизацией окружающих тканей и с возможностью точного дозирования вводимой суспензии.

Для интраоперационной диафаноскопии с целью точного определения места и последующего контролируемого локального введения стволовых клеток мы использовали ПЭМИ с лазерным зондом оригинальной конструкции. Мы также модифицировали хирургический способ введения стволовых клеток субретинально, проводя срединную витрэктомию и заполняя витреальную полость после введения клеток газо-воздушной смесью, это позволило нам избежать выхода клеток из субретинального пространства в полость стекловидного тела.

В результате проведенных клинических исследований доказано, что предложенная методика является микроинвазивной: в сроки от 3-х до 5-ти суток послеопе-

Ю. А. Белый и др.
Разработка и экспериментальное...



ООО «Трансконтакт»
и группа компаний
КСЕНТЕК

ООО «Трансконтакт» (495) 605-39-38
ООО «Дубна-Биофарм» (495) 909-03-53

ACRYSTYLE

Мягкие
интраокулярные
линзы



КСЕНОПЛАСТ

Коллагеновый
антиглаукома-
тозный дренаж
и материалы для
склеропластики



ОКВИС

Протектор
тканей глаза –
глазные капли



ЛОКОЛИНК

Аппарат для
фототерапии
роговицы
методом
локального
кросслинкинга



❁ **БИОСОВМЕСТИМОСТЬ**
❁ **БЕЗОПАСНОСТЬ**
❁ **ЭФФЕКТИВНОСТЬ**

рационного периода локальной отслойки сетчатки в месте введения клеток уже не отмечено, воспалительных явлений и интраоперационных осложнений ни в одном случае выявлено не было. Данные морфологического исследования демонстрируют, что предложенная методика позволяет осуществить фиксацию клеточного материала в месте его локального введения сроком до 14 дней и дает возможность прогнозировать движение клеток. Отсутствие клеток в зоне введения через 1 месяц мы связываем с иммунным ответом на ксенотипные стволовые клетки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Предложенная оригинальная методика локального субретинального введения стволовых клеток меченых магнитными частицами является эффективным способом фиксации материала в зоне введения. Данная технология может стать основой для изучения механизмов воздействия стволовых клеток на очаг повреждения, разработки новых перспективных стратегий в офтальмологии, а также открыть новые возможности стволовых клеток в качестве средств нейропротекции или альтернативных терапевтических приемов при лечении различной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ehnert S., Glanemann M., Schmitt A., Vogt S., Shanny N., Nussler N.C., Stockle U., Nussler A. The possible use of stem cells in regenerative medicine: dream or reality? *Langenbecks Arch Surg.* 2009; 394: 985-997.
2. Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е. Клеточная трансплантация – перспективное направление регенерационной медицины. Биологические резервы клеток костного мозга и коррекция органных дисфункций. М.: 2009.
3. Royo P., Quay W. Retinal transplantation from fetal to maternal mammalian eye. *Growth.* 1959; 23: 313-336.
4. Chacko D.M., Das A.V., Zhao X., James J., Bhattacharya S., Ahmad I. Transplantation of ocular stem cells: the role of injury in incorporation and differentiation of grafted cells in the retina. *Vision Res.* 2003; 43 (8): 937-946.
5. Mears A., Kondo M., Swain P. et al. Nrl is required for rod photoreceptor development. *Nature Genet.* 2001; 29: 447-452.
6. Silvermann M.S., Hughes S.E. Photoreceptor transplantation in inherited and environmentally induced retinal degeneration: anatomy, immunohistochemistry and function. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989; 314: 687-704.
7. Takahashi M., Palmer T.D., Takahashi J., Gage F.H. Widespread integration and survival of adult-derived neural progenitor cells in the developing optic retina. *Mol. Cell Neurosci.* 1998; 12 (6): 340-348.
8. Тахчиди Х.П., Гаврилова Н.А., Комова О.Ю. и др. Влияние стволовых/прогениторных клеток на функциональное состояние и степень выраженности дегенеративных изменений сетчатки у крыс линии Campbell. *Офтальмохирургия.* 2010; 3: 33-38.

9. Беляковский П.В., Позняк Н.И., Лобанок Е.С. Применение эмбриональных стволовых клеток и факторов роста стволовых клеток (stem cell factor, lif) при токсическом поражении зрительного нерва у кроликов. *Рецепт.* 2009; 12: 156-161.
10. Ромашенко А.Д., Ковалев А.В. Способ лечения атрофии зрительного нерва посредством трансплантации аутологичных стволовых клеток. Официальный бюллетень Российского агентства по патентам и товарным знакам – Патент 2428956. 2009; 26: 8.
11. Arbab A.S., Jordan E.K., Wilson L.B., Yocum G.T., Lewis B.K., Frank J.A. In vivo trafficking and targeted delivery of magnetically labeled stem cells. *Hum Gene Ther.* 2004; 15 (4): 351-360.
12. Song M., Kim Y., Kim J., Roh J., Kim S., Yoon B. Using a neodymium magnet to target delivery of ferumoxide-labeled human neural stem cells in a rat model of focal cerebral ischemia. *Hum. Gene Ther.* 2010; 21 (5): 603-610.
13. Kyratatos P., Lehtolainen P., Junemann-Ramirez M., Garcia-Prieto A., Price A., Martin J., Gadian D., Pankhurst Q., Lythgoe M. Magnetic tagging increases delivery of circulating progenitors in vascular injury. *JACC Cardiovasc Interv.* 2009; 2 (8): 794-802.
14. Leong W., Tay C., Yu H., Li A., Wu S., Duc D., Lim C., Tan L. Thickness sensing of hMSCs on collagen gel directs stem cell fate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010; 401 (2): 287-292.

REFERENCES

1. Ehnert S., Glanemann M., Schmitt A., Vogt S., Shanny N., Nussler N.C., Stockle U., Nussler A. The possible use of stem cells in regenerative medicine: dream or reality? *Langenbecks Arch Surg.* 2009; 394: 985-997.
2. Onishchenko N.A., Krashennikov M.E. [Cell transplantation – a promising direction of regenerative medicine]. *Kletchnaja transplantacija – perspektivnoe napravlenie regeneracionnoj mediciny.* Moscow, 2009. (in Russ.).
3. Royo P., Quay W. Retinal transplantation from fetal to maternal mammalian eye. *Growth.* 1959; 23: 313-336.
4. Chacko D.M., Das A.V., Zhao X., James J., Bhattacharya S., Ahmad I. Transplantation of ocular stem cells: the role of injury in incorporation and differentiation of grafted cells in the retina. *Vision Res.* 2003; 43 (8): 937-946.
5. Mears A., Kondo M., Swain P. et al. Nrl is required for rod photoreceptor development. *Nature Genet.* 2001; 29: 447-452.
6. Silvermann M.S., Hughes S.E. Photoreceptor transplantation in inherited and environmentally induced retinal degeneration: anatomy, immunohistochemistry and function. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989; 314: 687-704.
7. Takahashi M., Palmer T.D., Takahashi J., Gage F.H. Widespread integration and survival of adult-derived neural progenitor cells in the developing optic retina. *Mol. Cell Neurosci.* 1998; 12 (6): 340-348.
8. Takhchidi Kh.P., Gavrilova N.A., Komova O.Yu. et al. [Influence of stem/progenitor cells on functional status and level of degenerative changes of the retina in Campbell rats]. *Vlijanie stvolovyh/progenitornyh kletok na funkcionálnoe sostojanie i stepen' vyrazhennosti degenerativnyh izmenenij setchatki u krys linii Campbell.* [Oph-

- thalmosurgery]. *Oftalmohirurgija* 2010;3:33-38. (in Russ.).
9. Beljakovskij P.V., Poznjak N.I., Lobanok E.S. [Application of embryonic stem cells and stem cell growth factors (stem cell factor, lif) in toxic damage of the optic nerve in rabbits]. *Primenenie jembrional'nyh stvolovyh kletok i faktorov rosta stvolovyh kletok (stem cell factor, lif) pri toksicheskom porazhenii zritel'nogo nerva u krolikov.* [Magazine Prescription], *Recept* 2009; 12: 156-161. (in Russ.).
10. Romashchenko A.D., Kovalev A.V. [A method for treating optic atrophy by autologous stem cell transplantation]. *Sposob lechenija atrofii zritel'nogo nerva posredstvom transplantacii autologichnyh stvolovyh kletok. Oficial'nyj bjulleten' Rossijskogo agentstva po patentam i tovarnym znakam Patent 242895.* [Official bulletin of the Russian Agency for Patents and Trademarks], 2009; 26: 8. (in Russ.).
11. Arbab A.S., Jordan E.K., Wilson L.B., Yocum G.T., Lewis B.K., Frank J.A. In vivo trafficking and targeted delivery of magnetically labeled stem cells. *Hum Gene Ther.* 2004; 15 (4): 351-360.
12. Song M., Kim Y., Kim J., Roh J., Kim S., Yoon B. Using a neodymium magnet to target delivery of ferumoxide-labeled human neural stem cells in a rat model of focal cerebral ischemia. *Hum. Gene Ther.* 2010; 21 (5): 603-610.
13. Kyratatos P., Lehtolainen P., Junemann-Ramirez M., Garcia-Prieto A., Price A., Martin J., Gadian D., Pankhurst Q., Lythgoe M. Magnetic tagging increases delivery of circulating progenitors in vascular injury. *JACC Cardiovasc Interv.* 2009; 2 (8): 794-802.
14. Leong W., Tay C., Yu H., Li A., Wu S., Duc D., Lim C., Tan L. Thickness sensing of hMSCs on collagen gel directs stem cell fate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010; 401 (2): 287-292.

ДИСФУНКЦИЯ МЕЙБОМИЕВЫХ ЖЕЛЕЗ и СИНДРОМ «СУХОГО ГЛАЗА»

Современные подходы к лечению^{1, 2, 3}

1. Гигиена век: теплые компрессы и массаж



СИСТЕЙН® Салфетки для век
Гипоаллергенные и успокаивающие
для чувствительных глаз

2. Искусственные слезы



СИСТЕЙН® БАЛАНС
Восстанавливает и стабилизирует
липидный слой слезной пленки⁴

3. Антибиотики, противовоспалительные препараты

4. Биологически активные добавки с Омега-3 ПНЖК*



СИСТЕЙН ВИТАМИН
Омега-3 ПНЖК* нормализует функцию мейбомиевых желез
и улучшает свойства липидного слоя^{2, 5}

* ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты (эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты)

НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ

Систейн®

Alcon®



№ ФСЗ 2009/03787
от 18 марта 2009

№ ФСЗ 2009/05172
от 24 сентября 2009

№ ФСЗ 2012/13526
от 27 декабря 2012

№ ФСЗ 2011/10489
от 8 сентября 2011

№ ФСЗ 2012/11762
от 20 марта 2012

ТС № RU Д-US. A946.B.59756
от 6 июня 2013

№ RU.77.99.57.003.E.009771.12.13
от 9 декабря 2013

Больше, чем просто защита

Информация предназначена для медицинских и фармацевтических работников
Июнь 2014 RUS14SYSF015. Одобрение действительно до июня 2015 г.

1. Американская Академия Офтальмологии. Роговицы/Болезни Глазной Поверхности. Руководства предпочтительной практики. Блефариты. Сан-Франциско, КА: Американская Академия Офтальмологии; 2013. Доступно на: <http://www.aaao.org/prp>. 2. Р. Нараян. Случаи из практики лечения «сухого глаза». Современная оптометрия №6 2014. 3. К.К.Николс, Г.Н.Фулкс, А.Д. Брон и соавт. Международная Рабочая группа по исследованию дисфункции мейбомиевых желез: краткий обзор. Инвеститивный Офтальмологии & ВизуалСайнс, Спец. издание 2011, Изд. 52, № 4. 4. Корб Д., Блэки С., Медоу Д., Кристенсен М., Тодор М. Оценка повышения стабильности слезной пленки благодаря искусственной слезе на основе двухфазной эмульсии. Представлен на собрании Общества по Слезной пленке и глазной поверхности. Сентябрь 2010; Флоренция, Италия. 5. Баргава Р. и соавт. Рандомизированное контролируемое исследование омега-3 жирных кислот при синдроме «сухого глаза» Инт Д Офтальмол 2013; 6 (6): 811-816.