

Белый Ю.А., Терещенко А.В.,
Володин П.Л., Семенов А.Д., Каплан М.А.,
Пономарев Г.В., Баум Р.Ф.

ПЕРВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «ФОТОДИТАЗИН»

В эксперименте проведена оценка возможности применения отечественного фотосенсибилизатора «Фотодитазин» – для фотодинамической терапии в офтальмологии. Получены предварительные результаты, свидетельствующие о потенциальной возможности применения препарата «Фотодитазин» для фотодинамической терапии хориоидальной неоваскуляризации, степень же клинической эффективности при различных режимах проведения ФДТ ещё предстоит оценить.

Одним из перспективных направлений в лечении офтальмологических заболеваний, сопровождающихся развитием хориоидальной неоваскуляризации, в настоящее время является использование фотодинамической терапии (ФДТ) [1,3,8,9,11,12]. Достоинством данного метода является возможность достижения избирательной окклюзии новообразованных сосудов при минимальном повреждении окружающих тканей (хориокапилляров, пигментного эпителия и фоторецепторных клеток сетчатки). Это достигается за счет селективного накопления фотосенсибилизирующего агента (фотосенсибилизатора, ФС) в неоваскулярной ткани, который при последующей его активации лазерным излучением с длиной волны, соответствующей максимуму полосы поглощения вводимого ФС, приводит к фототоксическому повреждению эндотелия новообразованных сосудов [2, 3, 5, 8].

На сегодняшний день, потенциальную перспективность для использования в офтальмологии показали несколько фотосенсибилизаторов: бензопорфирин-дериват (BPD-MA, вертепорфин, «Visudyne»); тин-этил-этиопурпурин (SnET2), тексафирин лютеция (Lu-Tex) и моно-L-аспартил хлорин еб (Npeб), находящиеся на различных стадиях экспериментальных и клинических исследований [5,7-9, 11-12]. Среди вышеперечисленных только вертепорфин («Visudyne») получил разрешение на широкие клинические испытания в лечении хориоидальной неоваскуляризации при возрастной макулярной дегенерации и патологической миопии [11, 12].

Однако анализ клинико-функциональных результатов ФДТ с препаратом «Visudyne» выявил ряд неблагоприятных эффектов. Одним из основных недостатков является непродолжительный характер окклюзии новообразованных сосудов, а также высокий риск фототоксического повреждения фоторецепторов и клеток пигментного эпителия сетчатки при проведении повторных сеансов ФДТ [6,8,9].

В этой связи не теряет своей актуальности поиск, разработка и изучение новых фотосенсибилизаторов применительно к офтальмологии.

Целью данного экспериментального исследования явилась оценка возможности применения отечественного фотосенсибилизатора – препарата «Фотодитазин» – для фотодинамической терапии в офтальмологии.

Материалы и методы исследований

Фотосенсибилизатор и система доставки лазерного излучения.

В работе использовался новый отечественный фотосенсибилизатор второго поколения на основе производных хлорина еб – водорастворимый препарат «Фотодитазин» (бис-N-метилглюкамоновая соль хлорина еб) (ООО «Вета-Гранд»). «Фотодитазин» обладает рядом спектральных, физико-химических и энергетических характеристик, выгодно отличающих его от других ФС. Это наличие мощной полосы поглощения в длинноволновой области видимого спектра (с максимумом – 655 нм в воде и 662 нм в биологических средах, что соответствует области наибольшей оптической прозрачности для биологических тканей); высокая степень чистоты; низкая токсичность, хорошая водорастворимость. Преимуществами данного ФС также являются: высокий контраст накопления в тканях-«мишенях» в сравнении с интактными тканями и высокая фотодинамическая активность при использовании малых доз; низкая темновая и световая токсичность и быстрая элиминация из организма (в течение 24-36 часов) [2, 10].

Офтальмологическая установка для проведения ФДТ включала модифицированную отечественную щелевую лампу (ЩЛ-2Б), оснащенную оптическим адаптером (формирователем пятен), позволяющим фокусировать излучение в пределах от 0,5 до 5 мм и соединенным посредством световода с источником лазерного излучения. Для проведения ФДТ использовал-

ся диодный лазер «Ламеда» (ООО «ЭММИ», Москва) с длиной волны лазерного излучения 662 нм, соответствующей длинноволновой полосе поглощения фотодитазина.

Фоторегистрация изображений глазного дна экспериментальных животных осуществлялась с использованием диагностической системы «RetCam-130» (США) и фундус-камеры «Canon CF-60UD».

Флюоресцентную ангиографию глазного дна (ФАГ) проводили стандартным методом на фундус-камере «Canon CF-60UD», оснащенной цифровой видеокамерой и системой архивации полученных изображений «САРИ» («ЭКОМ», Санкт-Петербург, Россия). В качестве контрастного вещества использовался 10% раствор флюоресцина натрия «Флюоресцид» (Alcon, США).

Экспериментальные исследования включали три этапа.

Первым этапом исследований являлось изучение возможности *фотоповреждающего (фотодинамического) воздействия лазерного излучения* на область интактной сетчатки и ретинальных сосудов экспериментальных животных (с предварительным введением фотосенсибилизатора).

Исследование проводилось на 16 кроликах (16 глаз) породы шиншилла. ФС вводился внутривенно болюсно в стандартных дозировках: 0,8-1,0 мг/кг веса животного. Лазерное воздействие осуществлялось транспупиллярно (8 глаз) и транссклерально (8 глаз) через 5 минут после введения ФС.

Параметры ФДТ: плотность энергии лазерного излучения – 25, 50, 75, 100, 150 и 200 Дж/см²; экспозиция – 80-180 с; диаметр пятна на глазном дне – 3 мм. Для транссклерального лазерного облучения использовался световод с наконечником «side-focus» диаметром 1,6 мм (ООО «Полироник», Москва). Через 1 неделю после фотодинамического воздействия проводилась фоторегистрация и ФАГ глазного дна подопытных животных.

Вторым этапом исследований явилось создание *экспериментальной модели хориоидальной неоваскуляризации* путем лазер-индуцированного воздействия на сетчатку кроликов.

Для этого 12 кроликам (24 глаза) проводилась лазеркоагуляция (ЛК) сетчатки в центральной области с использованием аргонового лазера «Coherent radiation» (Novus-2000) (длина волны лазерного излучения – 514 нм).

Для формирования хориоидальной неоваскулярной мембраны использовалась модифицированная методика, заключающаяся в последовательном нанесении лазеркоагулятов в центральной области глазного дна (в зоне диаметром 2-3 PD), концентрично от центра к периферии с постепенным уменьшением мощности воздействия [4]. Параметры лазеркоагуляции: мощность лазерного излучения – от 150 до 300 мВт, экспозиция – 0,1-0,2 с, диаметр пятна – от 50 до 100 мк, количество коагулятов – 40-60; расстояние между ними – 2-3 диаметра коагулята.

Третий этап экспериментальных исследований заключался в проведении *фотодинамической терапии индуцированной хориоидальной неоваскуляризации*.

ФДТ проводилась на 12 глазах (12 кроликов), парные глаза являлись контрольными. Фотодинамическое воздействие на новообразованные сосуды хориоидеи осуществлялось следующим образом. Сначала внутривенно болюсно вводился фотосенсибилизатор (в дозе 0,8-1,0 мг/кг веса), затем, начиная с 5-й минуты от начала введения, проводилось транспупиллярное лазерное облучение области хориоидальной неоваскуляризации, локализованной по данным ФАГ. Параметры лазерного излучения: длина волны – 662 нм, плотность энергии – 25, 50, 75 Дж/см², экспозиция – 60-120 сек., диаметр пятна на глазном дне – 3 мм.

Результаты

Фотоповреждающее (фотодинамическое) воздействие лазерного излучения на область интактной сетчатки и ретинальных сосудов

После проведения транспупиллярной ФДТ офтальмоскопические изменения были выявлены только при использовании высоких параметров плотности энергии лазерного излучения (200 Дж/см²), при меньшей плотности энергии эффекта не наблюдалось. Характер изменений заключался в появлении, соответственно, области лазерного воздействия (перипапиллярно), хориоретинальных фокусов серовато-желтоватого цвета с нечеткими границами диаметром от 1,5 до 2 PD, с распространением на область сосудистой аркады. Над очагами наблюдалась характерная «фрагментация» ретинальных сосудов, свидетельствующая о нарушении кровотока в них.

На флюоресцентной ангиограмме, соответственно хориоретинальному фокусу, определя-

лась обширная флюоресцентная зона, отчетливо просматривался дефект заполнения контрастом ретинальных сосудов над очагом, перифокально отмечалась неоднородная флюоресценция. Полученные офтальмоскопические и ангиографические данные, свидетельствовали о наличии индуцированного фототромбоза ретинальных и хориоидальных сосудов в области фотодинамического воздействия.

При *трансклеральном* фотодинамическом воздействии офтальмоскопически видимые изменения наблюдались при использовании плотностей энергии свыше 100 Дж/см² (в диапазоне от 100 до 200 Дж/см²) и проявлялись в виде хориоретинальных фокусов, внешне напоминающих лазеркоагуляты. С увеличением плотности энергии отмечалось повышение степени интенсивности лазеркоагулята на глазном дне. Через 1 неделю в зоне облучения отмечалась неравномерная пигментация, признаков хориоидальной неоваскуляризации выявлено не было.

Экспериментальная модель хориоидальной неоваскуляризации на животных. Через 1 неделю после проведенной лазеркоагуляции сетчатки при осмотре глазного дна экспериментальных животных в центральной области определялся плоский хориоретинальный очаг (диаметром 2-3 PD) с неравномерной пигментацией, отек сетчатки и кровоизлияния в указанной зоне отсутствовали.

В те же сроки на флюоресцентной ангиограмме наблюдались характерные ангиографические признаки хориоидальной неоваскуляризации с ранним контрастированием новообразованных хориоидальных сосудов и длительной флюоресценцией очага в поздних фазах исследования. Указанные изменения были зарегистрированы в части очага, в которой наносились лазеркоагуляты повышенной мощности.

Фотодинамическая терапия экспериментально индуцированной хориоидальной неоваскуляризации. Непосредственно после проведения сеанса ФДТ на область хориоидальной неоваскуляризации офтальмоскопически видимых изменений ни в одном случае выявлено не было. На следующий день в области воздействия, соответственно локализации хориоретинального очага отмечалось появление незначительного (локального) отека сетчатки, с последующей его резорбцией в течение 1-2-х недель. Указанные изменения наблюдались при использовании плотности энергии 50 и 75 Дж/см².

Анализ данных ФАГ, проведенной через 1 неделю после ФДТ, позволил предположить наличие частичной окклюзии новообразованных хориоретинальных сосудов, основываясь на значительном снижении экстравазальной флюоресценции, как в ранние, так и в поздние фазы исследования в части очага, подвергшейся фотодинамическому воздействию.

Заключение

В проведенных нами экспериментальных исследованиях получены предварительные результаты, свидетельствующие о потенциальной возможности применения препарата «Фотодитазин» для фотодинамической терапии хориоидальной неоваскуляризации.

Степень клинической эффективности при различных режимах проведения ФДТ с применением указанного ФС еще предстоит оценить. Тем не менее, уже на этом этапе экспериментальных исследований можно утверждать о перспективности применения отечественных водорастворимых ФС хлоринового ряда и необходимости проведения дальнейших исследований по оптимизации параметров фотодинамического воздействия.

Библиография:

1. Измайлов А.С., Балашевич Л.И. Хориоидальная неоваскуляризация (диагностика и лечение) // СПб.: СПбМАПО, 2001. – 24 с.
2. Каплан М.А., Капинус В.Н., Романко Ю.С. и др. Фотодитазин – эффективный фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии // РБЖ. – 2004. – Т.3. – №2. – С. 51.
3. Родин А.С., Большунов А. В. Результаты ФДТ при субретинальных неоваскулярных мембранах по данным флюоресцентной ангиографии и оптической когерентной томографии // Вестник офтальмолог. – 2003. – №2. – С. 11-13.
4. Семенов А.Д., Качалина Г.Ф., Ильичева Е.В. Экспериментальная модель субретинальной неоваскулярной мембраны // Актуальные проблемы офтальмологии: Тез. докл. юбилейного симп. – М., 2003. – С. 411-412.
5. Mori K., Yoneya S., Ohta M. et al. Angiographic and histologic effects of fundus photodynamic therapy with a hydrophilic photosensitizer: mono-L-aspartyl chlorin e6 // Ophthalmology. – 1999. – Vol. 106. – P. 1384-1391.
6. Moshfeghi D., Kaiser P.K., Grossniklaus H. et al. Clinicopathologic study after submacular removal of choroidal neovascular membranes treated with verteporfin ocular photodynamic therapy // Am.J.Ophthalmol. – 2003. – Vol. 135. – No. 3. – P. 343-350.
7. Peyman G.A., Moshfeghi D.M., Moshfeghi A. et al. Photodynamic therapy for choriocapillaris using tin-ethyl-etiopurpurin (SnET2) // Ophthalmic. Surg. Lasers. – 1997. – Vol. 28. – P.409-417.
8. Puliafito C.A., Rogers A.H., Martidis A., Greenberg P.B. Ocular photodynamic therapy // Slack Inc., NJ. – 2002. – 144 p.
9. Schmidt-Erfurth U., Miller J.W., Sickenberg M. et al. Photodynamic therapy with verteporfin for choroidal neovascularization caused by age-related macular degeneration: results of retreatments in a phase 1 and 2 -study // Arch.Ophthalmol. – 1999. – Vol. 117. – P.1177-1187.
10. Stranadko E.Ph., Ponomarev G.V., Meshkov V.M. et al. The first experience of Photodithazine clinical application for