

**Белый Ю.А.¹, Терещенко А.В.¹, Новиков С.В.², Шацких А.В.³,
Колесник С.В., Колесник А.И.**

МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова», г. Москва

¹Калужский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова

²ООО «Научно-экспериментальное производство «Микрохирургия глаза», г. Москва

³Лаборатория патологической анатомии и гистологии глаза МНТК «Микрохирургия глаза»

им. акад. С.Н. Федорова, г. Москва

E-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БЕЗОПАСНОСТИ ИНТРАОКУЛЯРНОГО ВВЕДЕНИЯ ИМПЛАНТАТА

С целью клинико-морфологического обоснования безопасности применения ненасыщенного и насыщенного дексаметазоном имплантатов при интраокулярном введении, проведено исследование на 60 кроликах (120 глаз) породы шиншилла. Для оценки состояния внутриглазных структур перед имплантацией и в динамике проводили офтальмологическое обследование: биомикроскопию, фоторегистрацию изображений глазного дна, электроретинографию. Результаты исследования свидетельствуют о безопасности интраокулярного введения ненасыщенного и насыщенного дексаметазоном имплантатов.

Ключевые слова: имплантат, доставка, лекарственное вещество, биodeградируемый полимер, дексаметазон.

Актуальность

По мнению ряда отечественных и зарубежных исследователей, более предпочтительной при лечении заболеваний сетчатки, сосудистой оболочки и зрительного нерва является «адресная» доставка лекарственных препаратов [1], [11], [16]. Суть ее состоит в том, что само лекарственное вещество (ЛВ) или средство его доставки модифицируются молекулами, которые способны распознавать рецепторы на клетках-мишенях. Направленная доставка ЛВ позволяет снизить дозу вводимого препарата и минимизировать его воздействие на другие ткани.

Единственным способом, при котором создается высокая интравитреальная и интратетинальная концентрация препарата, является интраокулярное введение ЛВ. Введение веществ в полость стекловидного тела (СТ) позволяет поддерживать концентрацию препарата в течение более длительного времени по сравнению с другими путями доставки. Кроме того, интравитреальное введение снижает возможные побочные системные эффекты, ввиду меньшей дозы и количества вещества, которое выводится из глаза и попадает в системный кровоток.

Интравитреальные инъекции позволяют незамедлительно достигнуть необходимой терапевтической концентрации в заднем сегменте

глазного яблока. Lee S.S. с соавторами в своих исследованиях показали, что сразу после инъекции вещество концентрируется непосредственно в месте введения – в ретроцилиарных цистернах СТ. При сохранной структуре СТ оно достигает структуры витреоретинального интерфейса в течение 1–2 суток, при нарушении структуры СТ или при возрастных его изменениях концентрация лекарственного вещества быстро снижается ввиду выведения его током жидкости во влагу передней камеры [9]. Следует отметить, что после проведенной инъекции препарат быстро выводится из витреальной полости, в результате чего происходит снижение концентрации лекарственного вещества до нетерапевтического уровня [25]. Следовательно, для поддержания терапевтической концентрации препарата в заднем сегменте глазного яблока требуются периодические повторные инъекции, что повышает риск развития осложнений [8], [10], [12], [17].

Препараты не могут эффективно доставляться к тканям-мишеням традиционными методами. Поэтому сейчас большое внимание обращено на совершенствование способов увеличения продолжительности действия препаратов. На сегодняшний день, одним из наиболее актуальных направлений в офтальмологии является разработка микроинвазивных систем доставки ЛВ, которые будут способны доставлять

препараты к патологическому очагу, преодолевая анатомо-физиологические барьеры. Все существующие системы для интравитреальной доставки ЛВ можно объединить в 2 группы: недеградируемые имплантаты и биодеградируемые имплантаты. Среди недеградируемых интравитреальных имплантатов выделяют два типа: матриксные и по типу резервуаров [2, 3]. В матриксных системах ЛВ равномерно распределено в основном материале носителя. В качестве материала чаще используют неразрушаемые (силикон, этиленвинилацетат) и биодеградируемые полимеры. Имплантаты по типу резервуаров содержат центральное ядро препарата, которое окружено слоем проницаемого или полупроницаемого полимера, или силикона. Высвобождается ЛВ из данной системы путем диффузии по градиенту концентрации и сопровождается непрерывным выделением действующего вещества, что может приводить к превышению допустимых терапевтических значений препарата в витреальной полости. Общим недостатком всех недеградируемых систем является необходимость их последующего удаления, что повышает риск развития послеоперационных осложнений [5], [13]–[15], [21].

Практически все биодеградируемые интравитреальные системы доставки лекарственных веществ представляют собой конструкции на основе полимеров и сополимеров молочной и гликолиевой кислот. Скорость высвобождения лекарственного вещества из данных систем зависит от молекулярного веса полимера и укладки самого лекарственного препарата. При этом вещества с низким молекулярным весом могут легко проникать в ткани глаза при интраокулярном введении. Биодеградируемые имплантаты, в отличие от недеградируемых, с течением времени подвергаются полной абсорбции в витреальной полости и не требуют их последующего удаления, что значительно снижает риск развития послеоперационных осложнений [6], [18]–[20], [22].

По данным литературы при введении систем дозированной подачи препаратов могут возникать ряд осложнений, таких как: развитие катаракты, стойкая некомпенсируемая гипертензия, отслойка сетчатки, отслойка сосудистой оболочки, временное понижение остроты зрения, кровоизлияние в витреальную полость

и другие [7], [22], [24]. На сегодняшний день развитие интравитреальных имплантатов идет в направлении снижения их побочного действия на окружающие структуры глазного яблока, уменьшения размеров, облегчения проникновения и биотрансформации лекарственных веществ в тканях глаза, увеличения длительности терапевтического эффекта лекарственного вещества и безопасности его введения [23].

Следует отметить, что в настоящее время не существует оптимальных систем доставки ЛВ, обеспечивающих активный направленный транспорт лекарственного агента в пораженный участок, удовлетворяющих всем необходимым требованиям. Кроме того, узкие показания для использования современных интравитреальных имплантатов ограничивают их применение в офтальмологии.

Таким образом, остается актуальным вопрос разработки отечественного импланта для лечения заболеваний заднего сегмента глаза, позволяющего достичь дозированной терапевтической концентрации в витреальной полости и снизить риск развития осложнений.

ООО «НЭП» МГ был разработан интравитреальный биодеградируемый имплантат для доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глазного яблока на основе молочной кислоты, поливинилпирролидона и гликозаминогликанов, трубчатой формы, длиной 4,0 мм, диаметром 0,3 мм для имплантации в витреальную полость с помощью инструментов 27 gauge.

Стандарты качества требуют многостороннего тестирования каждого нового материала или изделия перед его использованием в биомедицине.

После завершения и получения результатов серии лабораторных исследований и экспериментов *in vitro* было выполнено исследование безопасности интраокулярного введения биодеградируемого имплантата для доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глазного яблока на глазах экспериментальных животных.

Цель

Клинико-морфологическое обоснование безопасности применения ненасыщенного и

насыщенного дексаметазоном имплантатов при интраокулярном введении.

Материал и методы

Проведено исследование на 60 кроликах (120 глаз) породы шиншилла. Исследование включало 2 серии опытов. В первой серии кроликам первой группы 15 кроликов (15 глаз) производили введение ненасыщенного имплантата в переднюю камеру глаза, кроликам второй группы 15 кроликов (15 глаз) – введение ненасыщенного имплантата в витреальную полость. Контролем служили интактные парные глаза кроликов, а также парные глаза, которым в витреальную полость вводили 0,1 мл физиологического сбалансированного раствора соответственно. Во второй серии выделили третью и четвертую группу кроликов. Кроликам третьей группы 15 кроликов (15 глаз) вводили насыщенный дексаметазоном имплантат в переднюю камеру глаза; кроликам четвертой группы 15 кроликов (15 глаз) – насыщенный дексаметазоном имплантат в витреальную полость. Контролем в третьей группе служили интактные глаза кроликов. В качестве контроля в четвертой группе были использованы глаза кроликов из 2-ой группы первой серии эксперимента, которым в витреальную полость вводили ненасыщенный имплантат.

Всем кроликам в оба глаза за 30 мин до операции для поддержания максимального медикаментозного мидриаза производили инстилляцию в конъюнктивальную полость 1–2 капель 1 % раствора тропикамида. В качестве местной анестезии всем кроликам инстиллировали в конъюнктивальную полость 1 % раствор алкаина и ретробульбарно вводили 1,0 мл 2 % новокаина. Операцию проводили под внутривенным наркозом (10 % гексенал из расчета 10–15 мг/кг веса животного). Перед операцией проводили промывание конъюнктивальной полости антисептическим раствором.

Веки фиксировали блефаростатом, глазное яблоко – фиксационным пинцетом, захватывающим лимбальную конъюнктиву. Инъекцию в переднюю камеру выполняли на 3 часах. Производили парацентез роговицы копьевидным ножом 2,0 мм и с помощью канюли 27 gauge вводили имплантат.

При введении имплантата в полость стекловидного тела производили прокол оболочек глазного яблока портом 27 gauge на расстоянии 2

мм от лимба в направлении к экватору в верхне-наружном квадранте. Прямую канюлю 27 gauge проводили вглубь стекловидного тела параллельно хрусталику, вводили имплантат в верхней трети полости стекловидного тела. Извлекали порт 27 gauge. После проведения хирургического вмешательства склеротомическое отверстие герметизировали без наложения шва.

Для оценки состояния внутриглазных структур перед имплантацией и в динамике на 1, 7, 14, 28, 35 сутки наблюдения проводили офтальмологическое обследование включающее биомикроскопию переднего отрезка глаза на щелевой лампе фирмы «Orton» (Германия), офтальмоскопию с помощью бинокулярного офтальмоскопа фирмы «Heine» (Германия), фоторегистрацию изображений глазного дна с использованием диагностической ретинальной системы «Ret Cam-120» (США) и электроретинографию (ЭРГ) на электродиагностической системе «Tomeu» (Япония). ЭРГи проводились животным, которым было произведено интравитреальное введение ненасыщенных и насыщенных лекарственным веществом имплантатов.

После проведения вышеуказанных исследований в те же сроки животных выводили из эксперимента путем воздушной эмболии, глаза энуклеировали и выполняли морфологические исследования.

Результаты

После введения имплантатов в переднюю камеру глаза кроликам 1-ой и 3-ей группы они оседали на поверхности радужной оболочки. Образцы занимали положение в нижней части передней камеры, при движении глазных яблок свободно перемещались. Резорбция имплантатов в передней камере происходила в течение 31–33 дней. При офтальмоскопическом исследовании глазных яблок 1-ой и 3-ей опытной групп на всем протяжении эксперимента имплантаты занимали положение в нижнем отделе передней камеры глаза, видимых изменений поверхности имплантатов обнаружено не было. В течение всего срока наблюдения отмечали постепенное уменьшение длины имплантатов, сглаженность их краев. На 28-е сутки имплантаты имели овальную форму, значительно уменьшены в размере – более, чем на 2/3 от исходной

длины. К 33 суткам имплантатов в передней камере глаза не было обнаружено.

В одном из 15 глаз 1-ой группы на 7-е сутки отмечали фиксацию края имплантата к поверхности радужной оболочки у зрачкового края. Имплантат находился в нижней части передней камеры, при движении глазного яблока не смещался (рис. 1, цветная вкладка). Каких-либо воспалительных изменений внутриглазных структур, отложения фибрина, изменения структуры, цвета имплантата выявлено не было. В процессе динамического наблюдения резорбции данного имплантата отмечали постепенное уменьшение его в размерах, с сохранением фиксации к поверхности радужки. На 21-е сутки принято решение о выведении данного кролика из эксперимента с целью морфологического исследования структур переднего сегмента глаза кролика и места фиксации имплантата.

При биомикроскопии всех глаз кроликов 1-ой и 3-ей опытной, 1-ой и 3-ей контрольной групп в течение всего периода наблюдения отмечали прозрачность роговицы и влаги передней камеры, передняя камера была средней глубины, сохранялась живая реакция зрачка на свет, цвет и структура радужной оболочки не были изменены. На протяжении всего периода наблюдения хрусталик оставался прозрачным, глубжележащие среды и структуры глазного дна были без видимых патологических изменений. Ни в одном глазу первой группы не было выявлено воспалительной реакции, каких-либо изменений структур переднего отрезка глаза (гиперемия конъюнктивы, преципитаты роговицы, гипопион, гифема, катаракта, изменение формы зрачка и др.) во время всего периода наблюдения.

Морфологические исследования глаз 1-ой, 3-ей опытной и контрольной групп на протяжении всего эксперимента не выявили изменений структуры роговицы, радужки и цилиарного тела. При гистологическом исследовании глазного яблока кролика с фиксированным имплантатом на 21-е сутки обнаружили срез имплантата с адгезией его к радужке, неполная биодеструкция имплантата. В зоне контакта была обнаружена локальная реактивная воспалительная инфильтрация радужки. При этом каких-либо патоморфологиче-

ских изменений других структур переднего сегмента выявлено не было.

При исследовании влияния ненасыщенного и насыщенного дексаметазоном имплантатов на структуры заднего сегмента глаза кролика во 2-ой и 4-ой группах сразу после интравитреального введения имплантаты определялись в передней трети стекловидного тела глаза кролика. На протяжении всего периода наблюдения происходила постепенная резорбция имплантатов в витреальной полости. При этом не обнаружили видимых изменений поверхности имплантатов, отмечали постепенное уменьшение их длины и сглаженность краев. На 28-е сутки в витреальной полости глаз кроликов обеих опытных групп были обнаружены имплантаты округлой формы. Они занимали положение преимущественно в средних и нижних отделах СТ. На 35-е сутки имплантатов в СТ выявлено не было.

Биомикроскопически в глазах контроля, 2-ой и 4-ой опытных и контрольной групп в первые сутки после интравитреального введения отмечали локальный отек конъюнктивы, незначительную смешанную инъекцию сосудов глазного яблока в месте склерального прокола, полностью проходившую на 3 сутки. В течение всего периода наблюдения видимых изменений структур переднего отрезка глаза, СТ и сетчатки отмечено не было (воспалительной реакции, дегенераций и помутнения СТ, отека сетчатки, геморрагий и др.). Изменения показателей ЭРГ в опытных группах соответствовали таковым в контроле, что свидетельствовало о незначительной реакции глаза на интравитреальное введение ненасыщенного и насыщенного дексаметазоном имплантатов. Через 1 месяц после введения имплантатов показатели биоэлектрической активности соответствовали нормальным значениям.

Согласно результатам гистологического исследования, в глазах с интравитреальным введением имплантатов структурных изменений и пролиферативных процессов со стороны сетчатки и других внутриглазных структур не отмечено (рис. 2, цветная вкладка).

Выводы

Анализ вышеприведенных результатов клинико-морфологических исследований образцов свидетельствует о безопасности интраоку-

лярного введения ненасыщенного и насыщенного дексаметазоном имплантатов. Результаты исследования токсического действия продуктов резорбции имплантатов на ткани глаза кролика позволяют предложить его в качестве носителя

(резервуара) лекарственных средств для доставки препаратов к структурам заднего сегмента глазного яблока и перейти к этапу клинического исследования.

10.09.2015

Список литературы:

1. Нестеров А.П., Басинский С.Н. Новый метод введения лекарственных препаратов в задний отдел тенонова пространства. Вестник офтальмологии. 1991; 5: 49-51.
2. Хлусов И.А., Чучалин В.С., Хоружая Т.Г. Принципы создания и функционирования систем доставки лекарственных средств: учебное пособие. Томск, Изд-во Томского политехнического университета: 2008.
3. Хоружая Т.Г. Транспортные терапевтические системы доставки лекарственных веществ. Томск ООО «Седиал»: 2000.
4. Cardillo J.A., Melo L.A. Jr., Costa R.A. Comparison of intravitreal versus posterior sub-Tenon's capsule injection of triamcinolone acetonide for diffuse diabetic macular edema. Ophthalmology. 2005; 112: 1557-1563.
5. Del Amo E.M., Urtti A. Current and future ophthalmic drug delivery systems. A shift to the posterior segment. Drug Discov. Today. 2008; 13: 135-143.
6. Desai H. G., Mallery S. R., Schwendeman S. P. Effect of formulation parameters on 2-methoxyestradiol release from injectable cylindrical poly(lactide-coglycolide) implants. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2008; 70: 187-198.
7. Dorta M. J., Santovena A., Llabré M. and et al. Potential applications of PLGA film-implants in modulating in vitro drug release. Int. J. Pharm. 2002; 248: 149-156.
8. Edelhauser H.F., Boatright J.H., Nickerson J.M., and the Third ARVO / Pfizer Research Institute Working Group Drug delivery to posterior intraocular tissues: third annual ARVO/Pfizer ophthalmics research institute conference. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2008; 49: 4712-4720.
9. Fowlks W.L. Meridional flow from the corona ciliaris through the pararetinal zone of the rabbit vitreous. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1963; 2: 63-71.
10. Frederici T.J. Intravitreal injections: AAO's Focal Points. Clinical Modules for Ophthalmologists. 2009; 27(8): 1-12.
11. Gaudana R., Jwala J., Boddu S.H.S. and et. all. Recent perspectives in ocular drug delivery. Pharm Res. 2009; 26: 1197-1216.
12. Ghate D, Edelhauser HF. Ocular drug delivery. Expert Opin. Drug Deliv. 2006; 3: 275-287.
13. Guembel H.O., Krieglsteiner S., Rosenkranz C. and et al. Complications after implantation of intraocular devices with cytomegalovirus retinitis Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 1999; 237: 824-829.
14. Jaffe G. J., Ben-nun J., Guo H. and et. all. Fluocinolone acetonide sustained drug delivery devine to treat severe uveitis. Ophthalmology. 2000; 107(11): 2024-2033.
15. Jaffe G. J., Martin D., Callanan D. and et all. Fluocinolone acetonide implant (retisert) for noninfectious posterior uveitis. Thirty-four-week results of a multicenter randomized clinical study. Ophthalmology. 2006; 113(6): 1020-1027.
16. Jaffe G.J., Ashton P., Pearson P.A. Intraocular drug delivery. Taylor & Francis Group 270 Madison Avenue. – New York, NY 10016: 2006.
17. Jager R.D., Aiello L.P., Patel S.C. and et. all. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. Retina. 2004; 24: 676-698.
18. Kim Y. C. Ocular delivery of macromolecules. Journal of Controlled Release. 2014; 190: 172-181.
19. Lee S.S. Biodegradable implants for sustained drug release in the eye. Pharm. Res. 2010; 27(10): 2043-2053.
20. Luckachan G. E., Pillai C. K. S. Biodegradable polymers-a review on recent trends and emerging perspectives. Journal of Polymers and the Environment. 2011; 19(3): 637-676.
21. Patel A. Ocular drug delivery systems: an overview. World J. Pharmacol. 2013; 2(2): 47-64.
22. Shuwisitkul D. Biodegradable implants with different drug release profiles [dissertation]. Freie Universität Berlin, Germany: 2011.
23. Tamaddon L. Design and development of intraocular polymeric implant systems for long-term controlled-release of clindamycin phosphate for toxoplasmic retinochoroiditis. Advanced biomedical research. 2015; 4: 32
24. Tan D.T., Chee S.P., Lim L., Theng J. and et all. Randomized clinical trial of Surodex steroid drug delivery system for cataract surgery: anterior versus posterior placement of two Surodex in the eye. Ophthalmology. 2001; 108: 2172-2181.
25. Urtti A. Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery. Adv. Drug Deliv. Rev. 2006; 58(11): 1131-1135.

Сведения об авторах:

Белый Юрий Александрович, заместитель директора по науке Калужского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, профессор, доктор медицинских наук

Терещенко Александр Владимирович, директор Калужского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, доктор медицинских наук
248007, г. Калуга, ул. им. Святослава Фёдорова, 5, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Новиков Сергей Викторович, заместитель директора ООО Научно-экспериментальное производство «Микрохирургия глаза», г. Москва

Колесник Светлана Валерьевна, врач-офтальмолог МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова

Колесник Антон Игоревич, аспирант МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, 59а, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru