

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

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

<sup>1</sup>Калужский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова

<sup>2</sup>ООО «Научно-экспериментальное производство «Микрохирургия глаза», г. Москва

<sup>3</sup>Лаборатория 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 клиничко-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 интратретинальная 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