

УДК 617.735-007

ДОСТАВКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ К СТРУКТУРАМ ЗАДНЕГО СЕГМЕНТА ГЛАЗА ПОСРЕДСТВОМ ИНТРАВИТРЕАЛЬНОГО ИМПЛАНТАТА

© Ю.А. Белый, А.В. Терещенко, С.В. Новиков,
А.И. Колесник, С.В. Колесник

Ключевые слова: доставка лекарственных веществ; задний сегмент глаза; интравитреальный имплантат.

Цель: разработка и экспериментальное обоснование способа доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глаза с помощью интравитреального имплантата.

Материал и методы: нами был разработан имплантат, который представляет собой интерполиэлектrolитный многослойный комплекс на основе поливинилпирролидона, молочной кислоты и гликозаминогликанов трубчатой формы, длиной 4,0 мм и диаметром 0,3 мм, с толщиной каждого слоя около 10 мкм, количеством слоев в имплантате 15. Исследование резорбции предложенного имплантата проводилось в фиксированном объеме 0,9 % раствора NaCl, равном 5,0 мл, в герметичной пробирке при температуре 37 °С (5 имплантатов). Один раз в сутки производилась замена 3,0 мл физиологического раствора с сохранением заданной температуры и объема. Замер времени резорбции имплантата проводился от начала эксперимента до его полного визуального исчезновения в пробирке.

Результаты: установлено, что процесс деградации полимерного остова разработанного имплантата происходит путем гидролиза. Скорость деградации зависит от количества поперечных швов между слоями имплантата и может вариабельно изменяться. В ходе изучения процесса деградации ненасыщенного имплантата время его полной резорбции составило 31 день. В разработанной системе доставки лекарственный препарат равномерно распределен в каждом насыщенном слое. Высвобождение лекарственного вещества из имплантата происходит в результате деградации полимера и диффузии вещества в окружающую жидкость.

Выводы: разработан имплантат для доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глаза, позволяющий пролонгировать пребывание препаратов в витреальной полости. Предложенный имплантат обеспечивает контролируемое периодическое выделение действующего вещества, предотвращающее превышение терапевтической концентрации препарата в окружающей среде, что обусловлено конструкцией имплантата.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка систем доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глаза в настоящее время является перспективным направлением в офтальмологии. При лечении заболеваний сетчатки, хориоидеи и зрительного нерва более предпочтительной является «адресная» доставка лекарственных препаратов [1–2].

Наличие в тканях глаза сложных гистогематических барьеров ограничивает поступление веществ к поврежденным структурам. Это объясняет низкую биодоступность лекарственных веществ при их системном и периокулярном введении [3].

В настоящее время единственным способом, при котором создается высокая интравитреальная и интра-ретинальная концентрация препарата, является интраокулярное введение лекарственных веществ. Введение веществ в полость стекловидного тела позволяет поддерживать концентрацию лекарственного препарата в течение более длительного времени по сравнению с другими путями доставки. Также интравитреальное введение снижает возможные побочные системные эффекты ввиду меньшей дозы и количества вещества, которое выводится из глаза и попадает в системный кровоток [4–5].

При интравитреальном введении лекарственное вещество попадает в ретроцилиарные цистерны стек-

ловидного тела. В случае сохранной структуры стекловидного тела оно достигает задних его отделов через 8–48 часов. При нарушении структуры стекловидного тела или при возрастных его изменениях концентрация лекарственного вещества быстро снижается из-за выведения его током жидкости во влагу передней камеры. После проведенной инъекции препарат быстро выводится из витреальной полости преимущественно путем диффузии, при этом период полувыведения составляет 24 часа и менее.

Следовательно, для поддержания терапевтической концентрации препарата в заднем сегменте глазного яблока требуются периодические повторные инъекции, что повышает риск развития осложнений [6–7].

На сегодняшний день для поддержания интраокулярной терапевтической концентрации лекарственного препарата разрабатываются различные специализированные системы для интравитреальной доставки лекарственных веществ, которые можно объединить в две группы: небиodeградируемые имплантаты и биodeградируемые имплантаты [8].

Среди недеградируемых интравитреальных имплантатов выделяют два типа: матричные и по типу резервуаров. В матричных системах лекарственное вещество равномерно распределено в основном материале имплантата. Имплантаты по типу резервуаров состоят из центрального ядра препарата, окруженного слоем проницаемого или полупроницаемого полимера,

и силикона. При этом диффузия лекарственного вещества происходит медленно по градиенту концентрации и сопровождается непрерывным выделением действующего вещества, что может приводить к превышению допустимых терапевтических значений препарата в витреальной полости. Общим недостатком всех небиodeградируемых систем является необходимость их последующего удаления, что повышает риск развития послеоперационных осложнений [9–10].

Биodeградируемые интравитреальные системы доставки лекарственных веществ в большинстве случаев представляют собой конструкции на основе полимеров и сополимеров молочной и гликолевой кислот. Скорость высвобождения лекарственного вещества из данных систем зависит от молекулярного веса и скорости деградации полимерной матрицы, а также укладки самого лекарственного препарата в имплантате. Биodeградируемые 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 [11–12].

В настоящее время не существует оптимальных систем доставки лекарственных веществ, удовлетворяющих всем необходимым требованиям. Кроме того, узкие показания для использования современных интравитреальных имплантатов ограничивают их применение в офтальмологии.

Цель – разработка и экспериментальное обоснование способа доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глаза с помощью интравитреального имплантата.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Совместно с ООО «Научно-экспериментальное производство «Микрохирургия глаза» был разработан имплантат, который представляет собой интерполи-электролитный многослойный комплекс на основе поливинилпирролидона, молочной кислоты и гликозаминогликанов трубчатой формы, длиной 4,0 мм и диаметром 0,3 мм, с толщиной каждого слоя около 10 мкрн, количеством слоев в имплантате 15 (рис. 1). Особенностью имплантата является возможность чередования насыщенных и ненасыщенных лекарственным веществом слоев. При этом скорость резорбции каждого слоя может регулироваться количеством поперечных швов, предусмотренных конструкцией имплантата.

Проведена сканирующая электронная микроскопия имплантата для подтверждения его слоистой структуры. Исследование было выполнено на базе Федерального государственного бюджетного образовательного



Рис. 1. Имплантат для доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глаза

учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» на кафедре высокомолекулярных соединений, на электронном микроскопе JEOL JSM-6610 (JEOL Ltd., Япония).

Исследование резорбции предложенного имплантата проводилось в фиксированном объеме 0,9 % раствора NaCl, равном 5,0 мл, в герметичной пробирке при температуре 37 °С (5 имплантатов). Один раз в сутки производилась замена 3,0 мл физиологического раствора с сохранением заданной температуры и объема. Замер времени резорбции имплантата проводился от начала эксперимента до его полного визуального исчезновения в пробирке.

Изучение функции разработанного имплантата в качестве контейнера лекарственного вещества проводилось на примере дексаметазона (5 имплантатов). В лабораторных условиях выполнялось насыщение экспериментального образца дексаметазоном в дозе 300 мкг. При этом чередовали насыщенные и ненасыщенные лекарственным веществом слои для предотвращения избыточного выделения действующего вещества. Варьируя количеством поперечных швов, был разработан имплантат, предусматривающий следующий профиль растворения слоев: насыщенный слой – 3 суток, ненасыщенный – 1 сутки. Далее насыщенный дексаметазоном имплантат помещался в герметичную пробирку с физиологическим раствором в объеме 5,0 мл при температуре 37 °С. Учитывая средний суточный объем продукции внутриглазной жидкости, производили замену физиологического раствора в пробирке в объеме 3 мл/сут. Забор аликвоты осуществляли каждый день до момента полной резорбции имплантата. Для определения концентрации дексаметазона данную жидкость исследовали с помощью спектрофотометрии (спектрофотометр Lambda EZ 201, Perkin Elmer Corporation, США) в ультрафиолетовой области спектра электромагнитного излучения с длиной волны, соответствующей максимуму поглощения для дексаметазона $\lambda_{\text{max}} = 242$ нм. Количественное определение дексаметазона проводили методом градуировочного графика. Для этого в лабораторных условиях готовили серию стандартных растворов с различным содержанием дексаметазона и измеряли их оптическую плотность при длине волны $\lambda_{\text{max}} = 242$ нм и толщине слоя исследуемого раствора в кювете $l = 1,0$ см. Далее строили градуировочный график в координатах $A \div C$, где A – значение оптической плотности раствора, C – концентрация дексаметазона. Исследуемую жидкость из пробирки с имплантатом помещали в кювету спектрофотометра с толщиной слоя $l = 1,0$ см и определяли оптическую плотность раствора. Затем по градуировочному графику, используя значение оптической плотности, вычисляли концентрацию дексаметазона в растворе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам сканирующей электронной микроскопии разработанный имплантат имеет слоистую структуру. Слои соединены между собой с помощью поперечных швов, образующихся из полимерной матрицы в ходе технологического процесса изготовления имплантата. Размер одного слоя с поперечными швами составляет 10 мкрн (рис. 2).

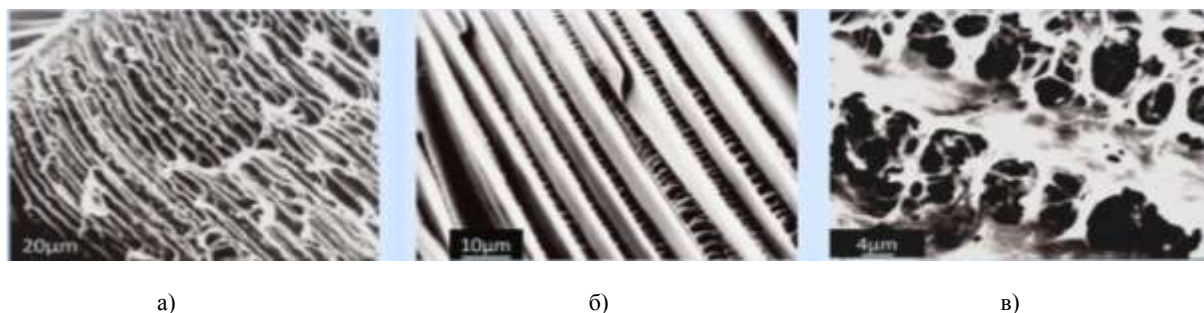


Рис. 2. Электронная микроскопия имплантата: а) слоистая структура имплантата; б) слои имплантата; в) поперечные сшивки между слоями имплантата

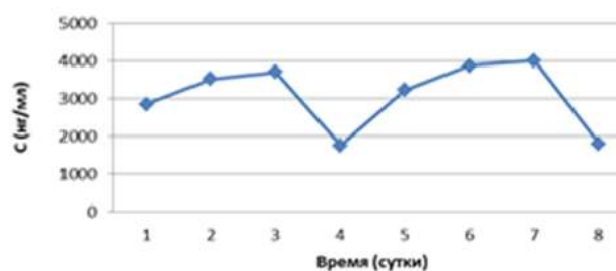


Рис. 3. Профиль высвобождения дексаметазона 1–8 сутки

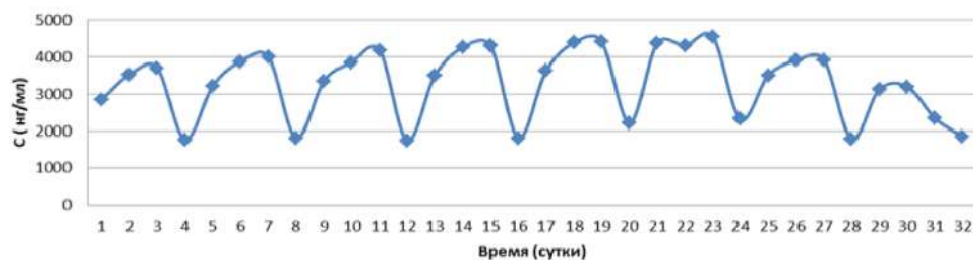


Рис. 4. Профиль высвобождения дексаметазона в течение всего срока наблюдения

Процесс деградации полимерного остова разработанного имплантата происходит путем гидролиза. Скорость деградации зависит от количества поперечных сшивок между слоями имплантата и может вариабельно изменяться. В ходе изучения процесса деградации ненасыщенного имплантата время его полной резорбции составило 31 день.

В разработанной системе доставки лекарственных препарат равномерно распределен в каждом насыщенном слое. Высвобождение лекарственного вещества из имплантата происходит в результате деградации полимера и диффузии вещества в окружающую жидкость.

Методом определения профиля высвобождения дексаметазона из биodeградируемого имплантата является спектрофотометрия в ультрафиолетовой области спектра электромагнитного излучения. Данный метод основан на поглощении монохроматического излучения и характеризуется законом Бугера–Ламберта–Бера, определяющим ослабление параллельного монохроматического пучка света при распределении его в поглощающей среде [13]:

$$I = I^0 \cdot 10^{-\epsilon_{\lambda} \cdot c \cdot l},$$

где I^0 – интенсивность падающего излучения; I – интенсивность прошедшего излучения; c – концентрация поглощающего вещества (моль/л); l – толщина поглощающего слоя (см); ϵ_{λ} – молярный коэффициент поглощения (моль $^{-1}$ ·л·см $^{-1}$).

При проведении спектрофотометрического анализа большое значение имеет выбор растворителя, который должен определяться растворимостью анализируемого вещества и его способностью к поглощению излучения. Растворитель не должен поглощать в исследуемом интервале длин волн. Предел пропускания излучения физиологического раствора равен 185 нм, поэтому нельзя снять спектр вещества в физиологическом растворе, поглощающем при длине волны меньше 185 нм. Длина волны, соответствующая максимуму поглощения для дексаметазона, равна 242 нм, что удовлетворяет необходимым требованиям выбора растворителя [13].

Профиль высвобождения дексаметазона из имплантата описывается экспоненциальной кривой, ход которой отражает постепенное увеличение концентрации дексаметазона в течение первых 3-х суток с падением концентрации к середине 4-х суток, что соответствует периоду растворения слоя, ненасыщенного лекарст-

венным веществом. Возобновление повышения концентрации лекарственного агента происходит на 5-е сутки и продолжается до 7-х суток, после чего, на 8-е сутки, вновь отмечается снижение концентрации дексаметазона (рис. 3). В целом данный цикл высвобождения лекарственного вещества повторяется 8 раз. Спустя 31 день активный агент высвобождается полностью, при этом биополимерная матрица резорбируется в полном объеме. На 32-е сутки определяется остаточная концентрация дексаметазона (рис. 4). Следует отметить, что в течение всего периода наблюдения определяется постепенное накопление исследуемого вещества в пробирке, что объясняется особенностями эксперимента *in vitro*.

Варьируя основными составляющими компонентами и количеством поперечных швов, можно изготовить имплантаты для высвобождения терапевтического агента в течение различного периода времени.

ВЫВОДЫ

Разработан имплантат для доставки лекарственных веществ к структурам заднего сегмента глаза, позволяющий пролонгировать пребывание препаратов в витреальной полости. Предложенный имплантат обеспечивает контролируемое периодическое выделение действующего вещества, предотвращающее превышение терапевтической концентрации препарата в окружающей среде, что обусловлено конструкцией имплантата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jaffe G.J., Ashton P., Pearson P.A. Intraocular drug delivery. Taylor & Francis Group 270 Madison Avenue. N. Y., 2006. 386 p.
2. Gaudana R., Jwala J., Boddu S.H.S., Mitra A.K. Recent perspectives in ocular drug delivery // *Pharm Res.* 2009. № 26. P. 1197-1216.
3. Allen T.M., Cullis P.R. Drug delivery systems: entering the mainstream // *Science.* 2004. № 303. P. 1818-1822.
4. Cardillo J.A., Melo L.A.Jr., Costa R.A. et al. Comparison of intravitreal versus posterior sub-Tenon's capsule injection of triamcinolone acetonide for diffuse diabetic macular edema // *Ophthalmology.* 2005. № 112. P. 1557-1563.
5. Choi Y.J., Oh I.K., Oh J.R., Huh K. Intravitreal versus posterior subtenon injection of triamcinolone acetonide for diabetic macular edema // *Korean J. Ophthalmol.* 2006. № 20. P. 205-209.
6. Frederici T.J. Intravitreal injections: AAO's Focal Points // *Clinical Modules for Ophthalmologists.* 2009. V. 27. № 8. P. 1-12.
7. Jager R.D., Aiello L.P., Patel S.C., Cunningham E.T. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review // *Retina.* 2004. № 24. P. 676-698.
8. Rain J., Shah N.H., Malick A.W., Rhodes C.T. Controlled drug delivery by biodegradable polyester devices: different preparative approaches //

Drug Development and Industrial Pharmacy. 1998. V. 24. № 8. P. 703-727.

9. Hebson C.B., Srivastava S.K. A functional, nonfunctioning retisert implant // *Ocul Immunol. Inflamm.* 2011. № 19. P. 210-211.
10. Yasukawa T., Tabata Y., Kimura H., Ogura Y. Recent advances in intraocular drug delivery systems. *Recent Pat // Drug Deliv. Formul.* 2011. № 5. P. 1-10.
11. Hunter R.S., Lobo A.M. Dexamethasone intravitreal implant for the treatment of noninfectious uveitis // *Clinical Ophthalmology.* 2011. № 5. P. 1613-1621.
12. Lee S.S., Hughes P., Ross A.D., Robinson M.R. Biodegradable implants for sustained drug release in the eye // *Pharm. Res.* 2010. № 27. P. 2043-2053.
13. Чакчир Б.А., Алексеева Г.М. Фотометрические методы анализа: метод. указания. СПб.: СПХФА, 2002. 44 с.

Поступила в редакцию 5 февраля 2015 г.

Beliy Y.A., Tereshchenko A.V., Novikov S.V., Kolesnik A.I., Kolesnik S.V. DELIVERY OF MEDICINES TO THE STRUCTURES OF THE POSTERIOR SEGMENT OF THE EYE BY INTRAVITREAL IMPLANT

Purpose: to develop a new method of intraocular medicine delivery to the posterior segment of the eye using a new biodegradable multilayer sustained-release implant.

Material and methods: we fabricated a multilayer biodegradable intravitreal implant, which has a tube form, 4.0 mm length and 0.3 mm diameter, that is composed of polyvinylpyrrolidone, lactic acid and glycosaminoglycans, implant consists of 15 layers with the thickness of each layer 10 µm, layers are connected by transverse septums. The intravitreal empty implant was placed in 5 ml of 0.9 % NaCl solution in a closed vial at 37 °C (5 implants). Once per day were replaced 3.0 ml of saline maintaining with a predetermined temperature and volume. Measurements of the implant time resorption was carried out from the beginning of the experiment to the full visual disappearance of the implant in the test-tube.

Results: Was stated that the process of degradation of polymeric composition developed by hydrolysis of the implant occurs. The rate of degradation depends on the amount of crosslinks between the layers of the implant and may be variably changed. During the study of the degradation of unsaturated graft during his complete resorption was 31 days. In the developed drug delivery system is distributed uniformly in each layer saturated. Drug release from the implant is a result of diffusion and polymer degradation agents into the surrounding liquid.

Conclusion: the implant is designed to deliver drugs to the posterior segment of the eye structures, in drugs allows to prolong the residence in the vitreal cavity. Proposed implant provides for controlled intermittent isolation of the active substance that prevents excess therapeutic drug concentration in the environment, due to the design of the implant.

Key words: medicine delivery; posterior eye segment; biodegradable multilayer implant.

Белый Юрий Александрович, Калужский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, г. Калуга, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор, зам. директора по научной работе, заслуженный врач РФ, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Beliy Yuri Aleksandrovich, Academician S.N. Fyodorov FSBI IRTC "Eye Microsurgery", Kaluga branch, Kaluga, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor, Deputy Director for Scientific Work, Honored Doctor of Russian Federation, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Терещенко Александр Владимирович, Калужский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, г. Калуга, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, директор, заслуженный врач РФ, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Tereshchenko Aleksander Vladimirovich, Academician S.N. Fyodorov FSBI IRTC "Eye Microsurgery", Kaluga branch, Kaluga, Russian Federation, Candidate of Medicine, Director, Honored Doctor of Russian Federation, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Новиков Сергей Викторович, ООО «Научно-экспериментальное производство «Микрохирургия глаза», г. Москва, Российская Федерация, зам. директора, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Novikov Sergey Viktorovich, JSC “Scientific and Experimental Production “Eye Microsurgery”, Moscow, Russian Federation”, Deputy Director, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Колесник Антон Игоревич, Калужский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, г. Калуга, Российская Федерация, аспирант, специальность «Глазные болезни», e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Kolesnik Anton Igorevich, Academician S.N. Fyodorov FSBI IRTC “Eye Microsurgery”, Kaluga branch, Kaluga, Russian Federation, Post-graduate Student, “Eye Diseases” Specialty, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Колесник Светлана Валерьевна, Калужский филиал МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, г. Калуга, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru

Kolesnik Svetlana Valeryevna, Academician S.N. Fyodorov FSBI IRTC “Eye Microsurgery”, Kaluga branch, Kaluga, Russian Federation, Candidate of Medicine, Ophthalmologist, e-mail: nauka@mntk.kaluga.ru