**Экспериментальное обоснование эффективности зон повышенной проницаемости в плоской части цилиарного тела, создаваемых с помощью диод-лазерных аппликаций**

Experimental ground of pars plana rise permeability areas efficacy created by diode–laser application

New method of pars plana rise permeability areas creation by diode laser application was worked out and studied. Transscleral infrared laser application leads to adsorbing energy in pigmented tissue, that is why pigment epithelium barrier destroys in coagulation area. Therefore the permeability of eye wall in coagulation area increases for medicines substances injected subconjunctivally.

25 rabbits were involved in the experimental work. Scintigraphic method of registration of I131 radioactivity in eye tissues has been used. We find that I131 accumulation in vitreous body after subconjunctival injection in operated eyes 2.94 times more than in control in the first hours after injection. But very small quantity of I131 penetrate the eye wall due to strong systemic absorption into conjunctival and ciliar vessels. Therefore frequent instillation of vasoconstictor agent (10% phenylefrin solution) associated with subconjunctival injection of I131 solution has been used. This method led to much more effective results: 0.2% from all quantity of I131 were find in vitreous body after 1 hour after injection that is 4.76 times more than in control.

The method can give to ophthalmologists new high–effective atraumatic opportinity to deliver drugs into posterior eye segment for topical treatment of retinal and optic nerve disorders.

**А**ктуальной проблемой современной офтальмологии является проблема эффективной доставки лекарственных средств при патологии заднего отрезка глазного яблока. Широкое распространение таких заболеваний, как глаукомная оптическая нейропатия, диабетическая ретинопатия, передняя ишемическая нейропатия, макулодистрофия обусловливают необходимость разработки надежных способов создания терапевтических концентраций лекарственных препаратов в сетчатке и зрительном нерве.

Существующие на сегодняшний день способы введения лекарственных субстанций для лечения сетчатки и зрительного нерва не являются оптимальными. Так, наиболее широко применяемые парабульбарные и ретробульбарные инъекции повышают риск развития орбитальной гематомы и вместе с тем обладают весьма низкой эффективностью в связи с высоким процентом абсорбции действующей субстанции в системный кровоток. Используемая в ряде клиник субтеноновая имплантация коллагеновой инфузионной системы в различных модификациях обладает значительно большей эффективностью в связи с адресной доставкой активного вещества в область заднего полюса глазного яблока [4]. Однако и она не лишена недостатков. В первую очередь, при ее установке происходит определенная травматизация глаза и повышается риск инфекции по ходу силиконовой трубочки, а во–вторых, вводимым медикаментам, прежде чем достичь сетчатки и интраокулярной части зрительного нерва, необходимо проникнуть через слой сосудов хориоидеи, а также через пигментный эпителий, входящий в состав гематоофтальмического барьера, который также является мощным препятствием.

Поэтому поиск новых малотравматичных способов доставки лекарственных средств в область заднего сегмента глаза имеет большое практическое значение.

На кафедре глазных болезней РГМУ была разработана и апробирована новая методика создания зон повышенной проницаемости в области плоской части цилиарного тела с помощью диодного лазера (патент на изобретение РФ №2149615).

Суть метода заключается в следующем [5]. Излучение полупроводникового лазера находится в инфракрасной зоне спектра и обладает способностью проникать через малопигментированные ткани, практически не повреждая их, и адсорбироваться в структурах, богатых меланином, вызывая выраженный термический ожог [1,2,3,6]. Таким образом, используя транссклеральную (без отсепаровки конъюнктивы) лазеркоагуляцию плоской части цилиарного тела (ЛЦК), мы создаем в этой зоне участки, лишенные пигментного эпителия и кровеносных сосудов. Такая манипуляция позволяет на период около одного месяца обеспечить повышенную проницаемость на этом участке для лекарственных препаратов, вводимых субконьюнктивально. Это обусловлено тем, что сама по себе склера является структурой с низким сопротивлением для диффузии лекарственных препаратов. Активные вещества, попадая внутрь глаза, депонируются в стекловидном теле и с его током достигают заднего полюса глаза, где и оказывают лечебное действие. Клинически апробированная методика требовала экспериментального подтверждения для уточнения дозировок и сроков введения препаратов. С этой целью и было проведено данное экспериментальное исследование.

Материал, методы и результаты исследования

В исследовании использовали 25 кроликов породы шиншилла весом 2,5–3 кг. Кролики были разделены на 3 группы. В первую группу было включено семь особей, которым в первый день эксперимента на обоих глазах была произведена операция ЛЦК по стандартной методике.

Методика проведения ЛЦК

После эпибульбарной инстилляционной анестезии раствором пропракаина в верхнем сегменте (на 12 часах) в проекции плоской части цилиарного тела наносилось 3–6 рядов коагулятов (общее количество коагулятов 8–15). Мощность лазера составляла 1 Вт, экспозиция – 3 сек.

Через 2 суток после создания полупроницаемых мембран всем кроликам под конъюнктиву в области лазерциклокоагуляции производилась субконъюнктивальная инъекция физраствора, содержащая стандартное количество радиоактивной метки I131. Затем, с интервалом в одни сутки, т.е. через 1,2,3,4,5,6 и 7 дней после введения маркера, производился забой животных с последующим исследованием радиоактивности стекловидного тела (СТ) глаза кролика.

Исследование при помощи сцинтиографа показало, что радиоактивность витрума достигает максимума в первые сутки, остается повышенной на второй день и практически не отличается от фоновых значений в последующие дни (рис. 1). Результаты, полученные нами, послужили основой для корректировки сроков исследования и позволили сконцентрировать внимание на определении содержания радиоактивной метки в тканях глаза в первые сутки после введения препарата.



**Рис. 1. Интенсивность сцинтилляций в минуту образцов биологических тканей после введения раствора с радиоактивной меткой (фоновое значение 40-50 сцинтилляций в минуту).**

Вторая группа включала в себя 4 животных. На основании результатов исследования содержания I131 в СТ кроликов из первой группы здесь была предпринята попытка определения количественного распределения радиоактивной метки в течение первых суток в различных структурах глаза. Для этого после подконъюнктивального введения раствора радиоактивного йода производился забой животных через 4, 8,16 и 24 часа. Из каждого энуклеированного глаза, замороженного путем погружения в жидкий азот, при помощи трепана диаметром 7 мм с глубиной установки плунжера 1 мм было получено 8 навесок:

1. склера в проекции цилиарного тела в области коагулятов (на 12 часах).

2. склера в проекции цилиарного тела в районе, противоположном нанесению коагулятов (на 6 часах).

3. Стекловидное тело в проекции цилиарного тела в области коагулятов (на 12 часах).

4. Стекловидное тело в проекции цилиарного тела в районе, противоположном нанесению коагулятов (на 6 часах).

5. Роговица.

6. Влага передней камеры

7. Склера в области зрительного нерва.

8. Стекловидное тело в области зрительного нерва

Кроме того, отдельно была измерена радиоактивность всего оставшегося витреального вещества, как предполагаемого депо вводимой субстанции.

В результате произведенных измерений нами были получены следующие данные.

Из рис.2 видно, что после введения I131 в область плоской части цилиарного тела в зоне коагулятов через 8 часов отмечается повышение радиоактивности стекловидного тела в прилежащей области, которое достигает максимума через 12 часов, а затем начинает снижаться вследствие перемещения метки вместе с витреальным током.



**Рис. 2. Интенсивность сцинтилляций в минуту образцов биологических тканей в течение первых 4, 8,12 и 16 часов после введения раствора с радиоактивной меткой у кроликов после ЛЦК (фоновое значение 40-50 сцинтилляций в минуту).**

Через 12 часов отмечается значительное повышение количества сцинтилляций образцов стекловидного тела в зоне зрительного нерва, которое достигает своего максимума к 16 часам. Одновременно фиксируется адекватное увеличение радиоактивности навески, в состав которой входит склера, хориоидея и сетчатка в этой же области. Исследование излучения оставшейся витреальной массы показало значительный рост концентрации I131, вызывающий через 4 часа 2–хкратное, а через 16 часов – 4–хкратное превышение фоновых значений радиоактивности.

Вместе с тем, данные сцинтиографии показывают, что попадание радиоактивной метки в область передней камеры глаза незначительно (данные исследования влаги передней камеры и роговицы), что позволяет предположить преимущественную направленность распространения введенной субстанции в задний отдел глазного яблока.

Третья группа кроликов из 4 особей, была контрольной. Этим животным не производилась коагуляция цилиарного тела. Введение препарата и исследование энуклеированных глаз производилось в те же сроки и по той же схеме, что и у животных второй группы.

Исследование образцов в контрольной группе выявило значительно меньшее проникновение радиоактивного йода внутрь глазного яблока. Так, содержание I131 во внутренних структурах глаза было настолько малым, что исследование излучения навесок не выявило значимого повышения радиоактивности внутриглазных структур (рис. 3).



**Рис. 3. Интенсивность сцинтилляций в минуту образцов биологических тканей в течение первых 4, 8,12 и 16 часов после введения раствора с радиоактивной меткой у кроликов без ЛЦК (фоновое значение 40-50 сцинтилляций в минуту).**

Особенно хорошо это видно на графике, иллюстрирующем значения сцинтилляций стекловидного тела в целом в сравнении с аналогичными значениями у кроликов опытной группы (рис. 2). Так, согласно данным исследования, через 4 часа после введения витреальная концентрация I131 в опытной группе превышает контроль в 1,87 раза, через 8 часов в – 1,76, а через 12 часов – в 2,45. По истечении 16 часов превышение содержания I131 в стекловидном теле опытной группы больше контроля в 2,94 раза.

В то же время в процентном соотношении количество радиоактивной метки очень незначительно и составляет тысячные доли процента, что может быть недостаточно для развития значимого клинического эффекта при введении лекарственных средств в лечебной практике. По нашему предположению, значительное количество введенной субконъюнктивально радиоактивной метки адсорбируется в системный кровоток через сосуды конъюнктивы, цилиарного тела, а также, возможно, и хориоидеи. Поэтому нами была сформирована четвертая группа из 10 животных, которым за 1 час до введения препарата и далее в течение всего периода до забоя с интервалом в 30 минут производились инстилляции 10% раствора фенилэфрина, обладающего мощным сосудосуживающим действием.

На правых глазах животных данной группы производилось нанесение коагулятов по описанной выше методике, левые глаза служили контролем. Забой пяти животных осуществлялся через 1 час после введения препарата, оставшихся пяти – через 3 часа. При исследовании радиоактивности образцов стекловидного и цилиарного тела было отмечено быстрое проникновение препарата внутрь глаза уже через час после инъекции, причем в опыте в стекловидном теле обнаружено 0,2% от введенного количества радиоактивной метки (в среднем 1190 сцинтилляций в минуту), что превышает значения радиоактивности в конрольной группе в 4,76 раза (250 сцинтилляций в минуту). Через 3 часа эти показатели уменьшились и составили в среднем 420 и 179 сцинтилляций в минуту соответственно (0,07% и 0,03% от введенного субконъюнктивально количества I131). Кроме того, было отмечено некоторое накопление радиоактивной метки в цилиарном теле: через 1 час в опытной группе оно составило 307 сцинтилляций, в контроле – 117, а через 3 часа – 112 и 78 соответственно (рис. 4).



**Рис. 4. Интенсивность сцинтилляций в минуту стеловидного и цилиарного тела в течение первых 1 и 3 часов после введения раствора с радиоактивной меткой у кроликов на фоне инстилляций фенилэфрина в опыте и контроле (фоновое значение 40-50 сцинтилляций в минуту).**

Выводы

Методика введения I131 в подконъюнктивальное пространство в области коагуляции плоской части цилиарного тела показала, что очаговая элиминация пигментного эпителия в зоне pars plana приводит к значительному повышению проницаемости этой части оболочки глаза для лекарственных препаратов. Максимальное значение содержания активного вещества в стекловидном теле достигается при использовании сосудосуживающих препаратов, позволяющих временно уменьшить кровоток в сосудах конъюнктивы и цилиарного тела. Достижение желаемой концентрации в области заднего полюса глаза происходит уже в первые часы после введения. Такая фармакодинамика обусловливает высокую терапевтическую эффективность нового малотравматичного метода создания зон повышенной проницаемости в сочетании с курсом ежедневных субконъюнктивальных инъекций лекарственных препаратов для лечения заболеваний заднего сегмента глаза.

**Литература:**

1. Даниличев В.Ф. «Современная офтальмология». // Санкт–Петербург. «Питер», 2000 г., с. 516–517.

2. Качанов А. Б. Диод–лазерная транссклеральная контактная циклокоагуляция в лечении различных форм глауком и офтальмогипертензий, автореферат диссертации к.м.н. Москва – 1995.

3. Нестеров А.П. « Глаукома». // Москва. «Медицина», 1995 г., с. 112–113.

4. Нестеров А.П., Басинский С.Н. Новый метод введения лекарственных препаратов в задний отдел субтенонового пространства.// Вестник офтальмологии, 1991 г., № 5, с. 49–51.

5. Нестеров А.П., Бровкина А.Ф. Егоров Е.А., Егоров А.Е. Способ введения лекарственных препаратов при заболеваниях заднего отрезка глаза. // Патент на изобретение РФ №2149615.

6. Nesterov A.P., Egorov E.A., Egorov A.E., Katz D.V. Modified technique of contact diode cyclophotocoagulation for far-advanced glaucoma (preliminary study) // 6th Congress of EGS, Millenium meeting, London, 2000