

ГЛАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК 617.731-007.23

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «РЕТИНАЛАМИН» В ЛЕЧЕНИИ ЧАСТИЧНОЙ АТРОФИИ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА

Т.Г. Каменских, А.Н. Башкатов, В.В. Тучин, Э.А. Генина

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава»
ГОУ ВПО «Саратовский государственный университет им. Чернышевского»

Проведено исследование проницаемости склеры, как наиболее значимого тканевого барьера при местном использовании лекарств в офтальмологии, для препарата «РЕТИНАЛАМИН» *in vitro*.

EXPERIMENTAL GROUNDS OF THE USAGE OF RETINALAMIN IN THE TREATMENT OF THE PARTIAL OPTIC ATROPHY.

T.G. Kamenskikh, Bashkatov A.N., Tuchin V.V., Genina E.A.

Purpose: to study the sclera permeability as the most significant tissue barrier in the local application of medicines in ophthalmology for Retinalamin *in vitro*.

Materials and methods. 23 rabbit's sclera samples were taken for the research *in vitro*.

The water solution of Retinalamin has been tested too. The radiation reflected from sclera has been controlled by the system of receiving fibers of fiber optics probe and has been registered by optical multichannel analyzer (LESA- 5).

Results: The experimental research makes it possible to assume that the full penetration of Retinalamin through sclera after the parabolbar injection lasts 3 hours.

В настоящее время диагностика, лечение и реабилитация больных частичной атрофией зрительного нерва (ЧАЗН) рассматриваются как важная медико-социальная проблема. Своеобразием данной патологии является то, что атрофия зрительного нерва - не самостоятельное заболевание, а следствие действия различных патологических процессов, протекающих в глазу или центральной нервной системе на те или иные участки зрительного пути. Проблема коррекции метаболических нарушений в зрительном нерве при его частичной атрофии, развивающейся в результате воспаления, интоксикации, нарушения кровообращения, токсической оптической нейропатии остается актуальной.

В клинике глазных болезней СГМУ в лечении больных с дистрофическими заболеваниями нейро - сенсорного аппарата глаза успешно применяется введение препарата «Ретиналамин» в теменно-пространство глаза. Препарат состоит из полипептидов сетчатки глаза телят или свиней - 5 мг, глицина - 17 мг. Ретиналамин регулирует процессы метаболизма в сетчатке зрительного нерва, стимулирует функции клеточных элементов, способствует улучшению функционального взаимодействия пигментного эпителия и на-

ружных сегментов фоторецепторов, усиливает активность ретинальных макрофагов, оказывает нормализующее влияние на коагуляцию крови, обладает выраженным протекторным эффектом в отношении сосудистого эндотелия.

Цель работы – исследование скорости диффузии препарата «Ретиналамин» в склере.

Материал и методы. Материалом для *in vitro* исследования послужили 23 образца склеры глаза кролика. Непосредственно после забора образцов склеры, они помещались в 0.9%-ный раствор NaCl и хранились в нем до проведения спектральных измерений в течение 24-36 часов при температуре порядка 4-5°C. Перед проведением измерений у образцов склеры удалялась бурая пластинка склеры (lamina fusca). Толщина образцов биоткани измерялась микрометром, для чего образцы помещались между двумя покровными стеклами и измерения выполнялись в нескольких точках. Точность каждого измерения ± 50 мкм. Полученные значения усреднялись.

В качестве исследуемого препарата использовался водный раствор препарата «Ретиналамин» (концентрация 25 мг/мл). Показатель преломления раствора препарата «Ретиналамин» 1.346, измерялся с помощью

рефрактометра Аббе ($\lambda = 589 \text{ нм}$) непосредственно перед проведением измерений.

Оценка коэффициента диффузии препарата «Ретиналамин» в склере глаза выполнялась на основе измерения динамики изменения коэффициента отражения исследуемых образцов биоткани. Схема экспериментальной установки представлена на рис. 1.

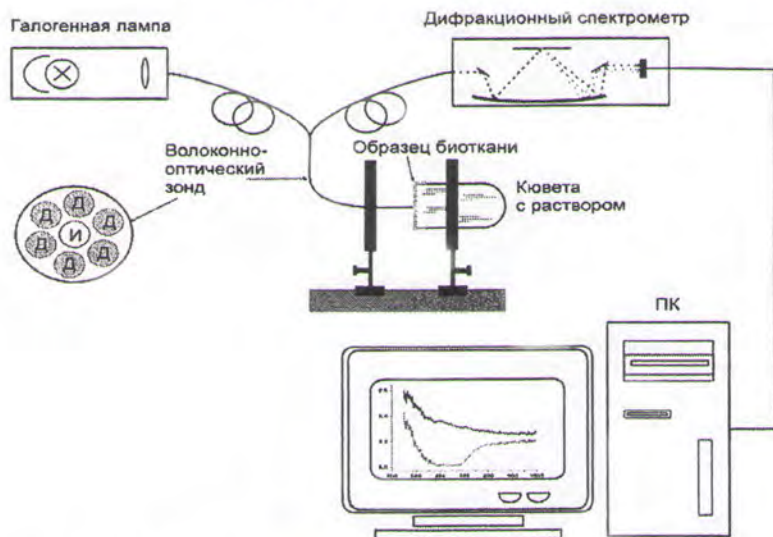


Рис. 1. Схема установки и геометрия эксперимента по измерению коэффициента диффузии лекарственных препаратов в биоткани

Из рисунка видно, что свет от галогенной лампы, используемой в качестве источника излучения в спектральной области от 450 до 1000 нм, через волоконно-оптический зонд падает на образец биоткани, закрепленный на пробирке с лекарственным препаратом. Излучение, отраженное от образца склеры, собирается системой приемных волокон волоконно-оптического зонда и регистрируется оптическим многоканальным анализатором ЛЕСА-5 (БиоСпек, Москва). Время накопления - 100 мсек. Конструкционно волоконно-оптический зонд состоит из 7 волокон, центральное из которых служит для транспорта излучения в биоткань, 6 других, симметрично расположенных по окружности вокруг центрального волокна, используются для сбора излучения, обратно рассеянного образцом биоткани. Диаметр каждого волокна 200 мкм, расстояние между центрами излучающего и приемных волокон 280 мкм. Все измерения были выполнены при комнатной температуре порядка 20°C.

Результаты. В начальный момент времени форма спектра отражения (рис. 2) определяется спектральной зависимостью коэффициента рассеяния склеры глаза. Поскольку в исследуемом спектральном интервале поглощение коллагена склеры, а также воды и протеинов внутритканевого матрикса незначительно, то поглощением в склере глаза можно пренебречь.

Спектральная зависимость коэффициента рассеяния определяется как длиной волны падающего излучения, так и отношением показателей преломления рассеивателей склеры глаза и окружающей их внутритканевой жидкости. Показатель преломления внутритканевой жидкости склеры глаза (после 24 - часового хранения ее в физиологическом растворе) можно считать равным показателю преломления воды, т.е. 1.332. Показатель преломления коллагеновых волокон – 1.411 [6]. Проникая в склеру глаза, лекарственные препара-

ты, с показателем преломления, большим чем у внутритканевой жидкости склеры, вызывают согласования показателей преломления коллагеновых волокон и окружающей их среды, снижение светорассеяния, т.е. оптическая иммерсия, и как следствие уменьшение коэффициента отражения склеры. Анализ динамики изменения коэффициента отражения биоткани позволяет оценить скорость проникновения лекарственного препарата в склеру и вычислить его коэффициент диффузии. Необходимо отметить, что использование в качестве иммерсионных агентов высокополимерных веществ (например, препарата «Ретиналамин») приводит к осмотической дегидратации образца биоткани (толщина образца уменьшается примерно на 20%, например, до измерений $0,5 \pm 0,08 \text{ мм}$, после измерений $0,38 \pm 0,05 \text{ мм}$). Дегидратация исследуемого образца приводит к существенному увеличению объемной доли рассеивателей в исследуемых образцах биоткани, что в свою очередь, вызывает рост коэффициента рассеяния и компенсирует иммерсионный эффект.

На рис. 3 представлена динамика изменения отражения образца склеры глаза, измеренная для различных длин волн, под воздействием на образец водным раствором препарата «Ретиналамин».

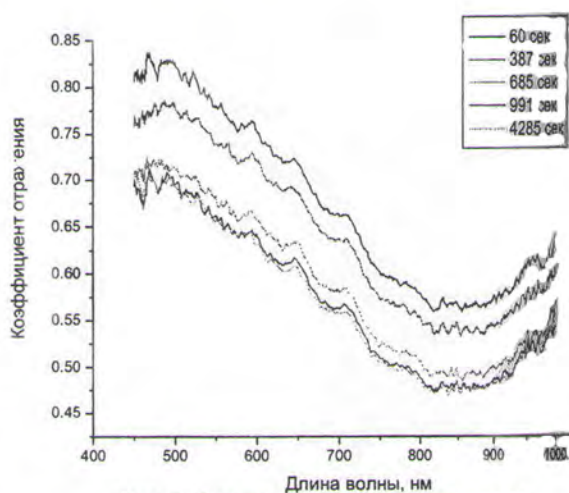


Рис. 2. Спектры отражения склеры глаза, измеренные в различные моменты времени воздействия на образец склеры водным раствором препарата «Ретиналамин»

Процесс транспорта лекарственных препаратов в биотканях может быть описан в рамках модели свободной диффузии. При этом обычно используются следующие допущения относительно процесса переноса: 1) имеет место только концентрационная диффузия, т.е. поток вещества в биоткань в данной точке пропорционален градиенту концентрации вещества в этой точке; 2) коэффициент диффузии постоянен во всех точках внутри исследуемого образца биоткани.

Геометрически образец биоткани представляется в виде плоско-параллельной пластины конечной толщины. Поскольку при проведении экспериментов проникновение лекарственного препарата осу-

ществляется только с одной стороны образца, то можно решать одномерную задачу диффузии, т.е. уравнение:

$$\frac{\partial C(x,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(x,t)}{\partial x^2}, \quad (1)$$

представляющее собой второй закон Фика, где $C(x,t)$ – концентрация препарата (ретиналамин) в склере глаза, г/мл; D – коэффициент диффузии, см²/сек; t – время, в течении которого происходит процесс диффузии, сек; и x – пространственная координата по толщине образца биоткани, см. Соответствующие граничные условия имеют вид:

$$C(0,t) = C_0 \quad \text{и} \quad \frac{\partial C(l,t)}{\partial x} = 0, \quad (2)$$

где C_0 – концентрация лекарственного препарата в растворе, г/мл; l – толщина образца биоткани, см. Второе граничное условие отражает тот факт, что диффузия препарата внутрь образца склеры происходит только с одной стороны образца. Начальные условия отражают отсутствие препарата во всех внутренних точках образца склеры до ее взаимодействия с препаратом, т.е.

$$C(x,0) = 0. \quad (3)$$

Решение уравнения диффузии (1) учетом начальных (3) и граничных (2) условий позволяет оценить среднюю концентрацию препарата внутри образца в каждый момент времени.

$$C(t) = C_0 \left(1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{i=0}^{\infty} \frac{1}{(2i+1)^2} \exp\left(-\frac{(2i+1)^2 \pi^2 D}{4} t / l^2\right) \right). \quad (4)$$

Здесь $C(t)$ – усредненная по объему концентрация препарата. В первом приближении уравнение (4) может быть переписано в виде:

$$C(t) \approx C_0 \left(1 - \exp\left(-t \pi D / l^2\right) \right). \quad (5)$$

Анализ динамики изменения коэффициента отражения позволяет оценить величину постоянной времени диффузии $\tau = \frac{l^2}{\pi D}$ как $439,01 \pm 34,46$ сек. Среднее значение коэффициента диффузии равно $(1,82 \pm 0,14) \times 10^{-6}$ см²/сек, что достаточно хорошо согласуется с известными значениями коэффициентов диффузии различных веществ в биотканях и внутриканальной жидкости. Полученное значение позволяет оценить время, необходимое для полного проникновения лекарственного препарата через склеральную мембрану глаза при субтеноновом введении препарата. Хорошо известно, что при трансмембранной диффузии вещества из малого объема с ненулевой концентрацией препарата (в нашем случае область инъекции) в больший объем с нулевой концентрацией

препарата, концентрация препарата в малом объеме описывается уравнением [9].

$$C(t) \approx C_0 \exp(-Dt/l^2). \quad (6)$$

Подставляя в уравнение (6) полученные нами значения, мы можем заключить, что полное проникновение препарата «Ретиналамин» через склеру глаза происходит в течение 3 часов после введения препарата в теноново пространство.

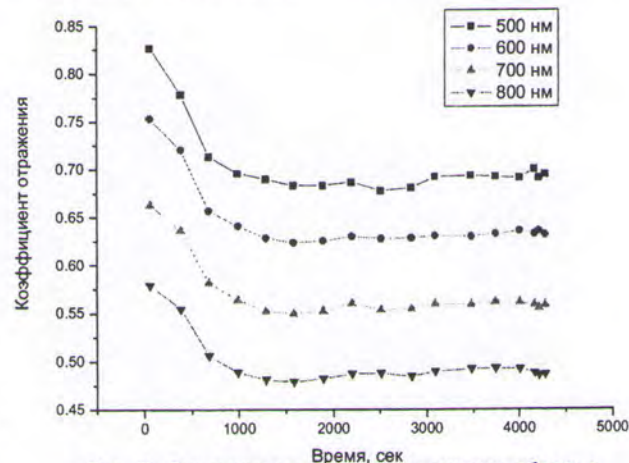


Рис. 3. Динамика изменения отражения образца склеры глаза, измеренная для различных длин волн, при воздействии на образец водным раствором препарата «Ретиналамин»

Заключение. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о возможности использования препарата «Ретиналамин» в лечении заболеваний сетчатки и зрительного нерва методом введения в теноново пространство.

ЛИТЕРАТУРА

- Егоров Е.А., Астахов Ю.С., Ставицкая Т.В. Общие принципы медикаментозного лечения заболеваний глаз // Клиническая офтальмология. – 2004. – Т. 5 – № 1.
- Басинский С.Н. Способ адресной доставки лекарственных препаратов в лечении дистрофических состояний глаз // Клиническая офтальмология. – 2004. – Т.5. – № 1.
- Хавинсон В.Х., Трофимова С.В. Пептидные биорегуляторы в офтальмологии. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 48 с.
- Тучин В.В. Исследование биотканей методами светорассеяния // Успехи физических наук. – Т. 167, С. 517-539, 1997.
- Борен К., Хафмен Д. Поглощение и рассеяние света малыми частицами. – М.: Мир, 1986, 656 с.
- Leonard D.W., Meek K.M. Refractive indices of the collagen fibrils and extracellular material of the corneal stroma // Biophysical J. – 1997. – Vol. 72. – P. 1382-1387.
- Башкатов А.Н., Генина Э.А., Синичкин Ю.П. Определение коэффициента диффузии глюкозы в склере глаза человека // Биофизика. – 2003. – Т. 48. – № 2. – С. 309-313.
- Tuchin V.V., Maksimova I.L., Zimnyakov D.A., Kon I.L., Mavlutov A.H., Mishin A.A. Light propagation in tissues with controlled optical properties // J. Biomed. Opt. – 1997. – Vol. 2. – N. 4. – P. 401-417.
- Котык А., Яначек К. Мембранный транспорт. – М.: Мир, 1980, 341 с.