

Филатова Н.В.<sup>1</sup>, Сидоренко Е.И.<sup>1</sup>, Филатов В.В.<sup>1</sup>, Шимановский Н.Л.<sup>2</sup>,  
Семейкин А.В.<sup>2</sup>, Каралкин А.В.<sup>3</sup>, Пономарев Г.В.<sup>4</sup>

## **Исследование распределения гелевой формы фотосенсибилизатора фотодитазин, меченного радиоизотопом, в тканях и структурах глаза**

Filatova N.V.<sup>1</sup>, Sidorenko E.I.<sup>1</sup>, Filatov V.V.<sup>1</sup>, Shimanovskiy N.L.<sup>2</sup>,  
Semeykin A.V.<sup>2</sup>, Karalkin A.V.<sup>3</sup>, Ponomarev G.V.<sup>4</sup>

### **Studies on intraocular distribution of gelly photosensitizer photoditazine labelled with radioisotopes**

<sup>1</sup>Кафедра офтальмологии педиатрического факультета ГОУ ВПО «РГМУ» Росздрава,

<sup>2</sup>Кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии медико-биологического факультета ГОУ ВПО «РГМУ» Росздрава,

<sup>3</sup>Лаборатория методов радионуклидной диагностики Городской клинической больницы № 1 им. Н.И. Пирогова,

<sup>4</sup>Лаборатория синтеза физиологически активных соединений научно-исследовательского института биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН, г. Москва

---

В эксперименте на кроликах исследовали распределение гелевой формы фотосенсибилизатора фотодитазин в тканях и структурах глаза с помощью радиофармпрепарата. В конъюнктивальный мешок обоих глаз кроликов вводили фотодитазин, меченный  $^{99}\text{Te}$ , с экспозицией 15 мин. Установлено, что накопление гелевой формы РФП в роговице составляет 53,08% от общей радиоактивности глазного яблока и значительно превышает количество РФП в других структурах глаза. Таким образом, применение ФДТ с гелевой формой фотосенсибилизатора фотодитазин наиболее целесообразно при лечении заболеваний, сопровождающихся неоваскуляризацией роговицы. *Ключевые слова:* гель, фотосенсибилизатор, фотодитазин, радиоизотопы, неоваскуляризация.

**Purpose.** To study intraocular distribution of gelly photosensitizer photoditazine in tissues and eye structures in the experimental rabbit's model using radiopharmaceutical preparations. **Materials and methods.** Photodiazine labeled with  $Te^{99}$  was administered into the conjunctival sacs in both rabbit's eyes with exposure time – 15 min. It has been found out that the corneal accumulation of gelly form of radiopharmaceutical preparation was 53.08% of total radioactivity of the eye globe what significantly exceeded the concentration of this preparation in other eye tissues. **Conclusion.** Thus, a combination of photodynamic therapy and gelly photosensitizer photoditazine has proven to be the most reasonable approach for treating neovascular corneal diseases. **Keywords:** gel, photosensitizer, photoditazine, radioisotopes, neovascularization.

## Введение

Проблема лечения заболеваний, сопровождающихся неоваскуляризацией, образованием пролиферативных и неоваскулярных мембран, всегда была одной из самых актуальных в офтальмологии и до настоящего времени далека от своего окончательного решения.

Среди основных причин слепоты и слабовидения, по данным ВОЗ, в числе трех ведущих названы воспалительные и дистрофические заболевания роговицы, особенно сопровождающиеся неоваскуляризацией. По сведениям различных авторов, они в 57% становятся причинами слабовидения, а в 14,5% – слепоты, пополняя и без того огромную армию инвалидов по зрению [9, 11].

Недостатки и малая эффективность известных методов лечения этих заболеваний заставляют искать и изучать новые, более эффективные, основанные на современных достижениях фотохимии, фотобиологии и квантовой физики способы терапии.

В настоящее время в этом направлении самым перспективным считается метод фотодинамической терапии (ФДТ). По современным представлениям, механизм действия ФДТ основан на селективной аккумуляции введенных в организм фотосенсибилизирующих препаратов и в клетках с повышенной митотической активностью (в опухолевых клетках, эндотелии новообразованных сосудов и др.).

Последующее облучение патологического очага светом длиной волны, соответствующей максимальному пику полосы поглощения введенного фотосенсибилизатора (ФС), индуцирует в сенсibilизированных клетках тканей фотохимические реакции, сопровождающиеся выделением высокоактивных биологических окислителей – синглетного кислорода и свободных радикалов. Это приводит к фототоксическому повреждению патологически измененных клеток [1, 2, 6, 14, 16–18].

Несомненное преимущество ФДТ – вышеуказанная избирательность воздействия, определяющая показания для ее применения в медицине, и в частности в офтальмологии, прежде всего для достижения необходимого лечебного эффекта – облитерации неоваскулярной сети – или радикального разрушения новообразования при минимальном повреждении окружающих структур, что имеет большое значение для сохранения зрительных функций.

Однако применению метода ФДТ с использованием отечественных препаратов для лечения офтальмопатологии посвящены лишь единичные работы [2, 3, 7, 13, 14].

Первые отечественные экспериментальные исследования по использованию ФДТ в офтальмологии заключались в разработке фотохимической деструкции экспериментально индуцированной неоваскуляризации роговицы с использованием ФС, являвшегося производным гематопорфирина (димегин) [1, 6]. Метод основан на ло-

кальном и внутривенном введении ФС в просвет сосудов роговицы с последующим облучением сосудов светом от лампы коаксиального освещения операционного микроскопа. Однако при распространенной неоваскуляризации роговицы с преимущественно капиллярной сетью сосудов, а также при локализации патологических сосудов в глубоких слоях стромы, метод оказался недостаточно эффективен. Димегин обладает медленной элиминацией из организма и длительной кожной фототоксичностью, характерных для ФС порфиринового ряда. Кроме того, авторами было установлено повреждающее воздействие лазерного облучения на фоторецепторы сетчатки при облучении роговицы с предварительным внутривенным введением вышеуказанного ФС.

Появление ФС нового поколения, в частности, водорастворимых препаратов хлоринового ряда (фотодитазин, радахлорин, Россия), обладающих более высокой фотодинамической активностью, низкой кожной фототоксичностью и стремительной фармакокинетикой, открывает перспективы для широкого внедрения ФДТ в офтальмологическую практику [4, 5, 12, 19].

До последнего времени в офтальмологии и только у взрослых применяли в основном внутривенную форму ФС [2, 7, 13, 14]. Это существенно ограничивает использование препарата, особенно в детской практике. Поэтому постоянно ведется поиск ФС без ограничений, годных к применению у детей.

Предложенная для применения в смежных медицинских специальностях гелевая форма ФС фотодитазин [8, 10, 15] представляется более перспективной в связи с легкостью введения в конъюнктивальную полость, максимальной приближенностью к оболочкам глаза, пролонгированностью воздействия, облегчающим накопление препарата в новообразованных сосудах роговицы, а также значительно снижающим системное действие.

Для подтверждения гипотезы определения области глаза для оптимального и эффективного воздействия ФДТ мы провели исследование по изучению накопления данного ФС в отдельных тканях и структурах глазного яблока.

Целью данной работы явилось изучение распределения и накопления гелевой формы фотодитазина в тканях и структурах глазного яблока при помощи радиофармпрепаратов (РФП) в эксперименте на животных для повышения эффективности ФДТ.

## Материалы и методы

Работа выполнена на 5 кроликах (10 глаз) породы шиншилла.

Исследование распределения РФП в отдельных структурах глаза производили по следующей методике. В конъюнктивальную полость нижнего свода обоих глаз

Т а б л и ц а

Распределение гелевой формы РФП (фотодитазин +  $Te^{99}$ ) в тканях и структурах глаза

Структуры глаза	Роговица	Влага передней камеры	Радужка	Хрусталик	Стекловидное тело	Склера	Цилиарное тело	Сетчатка	Зрительный нерв
Содержание РФП, (импульс/мин/грамм)	182120 ± 205,4	27 645,46 ± 191,2	69 560 ± 167,8	2917,3 ± 35,4	1928,62 ± 46,7	29 150 ± 397,2	17550 ± 196,5	8158,3 ± 138,4	4058,3 ± 130,5

кролика вводили одинаковое количество геля фотодитазин (по 2 капли), меченного  $Te^{99}$  активностью 37 МБК.

Смесь готовили непосредственно перед опытом. Через 15 мин конъюнктивальные полости обоих глаз тщательно промывали р-ром фурацилина 1:5000. Кроликов немедленно выводили из эксперимента путем передозировки внутривенно вводимого препарата рометар.

Глазные яблоки энуклеировали и препарировали на отдельные структуры, которые взвешивали, помещали в специальные стеклянные флаконы и радиометрировали. Радиационный фон флаконов определяли заранее, до эксперимента.

Радиометрический счет производили на гамма-сцинтилляционном счетчике модели Clinix Gamma-1272 фирмы «ЛКВ» (Швеция). Затем из полученного результата вычитали предварительно просчитанный фон флаконов и делили на массу ткани.

Статистический анализ данных произведен при помощи программы Statistica 7.

### Результаты и обсуждение

В результате произведенных расчетов нами установлено, что общая радиоактивность тканей глазного яблока составила 343 087,98 имп/мин/г.

При этом распределение РФП по отдельным структурам и тканям глазного яблока происходило следующим образом: удельная радиоактивность роговицы была на уровне  $182\ 120 \pm 205,4$  имп/мин/г (53,08% от общей дозы); склеры –  $29\ 150 \pm 397,2$  имп/мин/г (8,5% от общей радиоактивности); влаги передней камеры –  $27\ 645,46 \pm 191,2$  имп/мин/г (8,08% от общей радиоактивности); в радужке отмечено  $69\ 560 \pm 167,8$  имп/мин/г (20,27% от общей радиоактивности); в цилиарном теле  $17\ 550 \pm 196,5$  имп/мин/г (5,1% от общей радиоактивности); в хрусталике  $2917,3 \pm 35,4$  имп/мин/г (0,85% от общей радиоактивности); в сетчатке  $8158,3 \pm 138,4$  имп/мин/г (2,38% от общей радиоактивности) и в зрительном нерве  $4058,3 \pm 130,5$  имп/мин/г (1,17% от общей радиоактивности). Результаты представлены в таблице.

Данные проведенных исследований показали, что при введении гелевой формы РФП (ФС фотодитазин, меченный  $Te^{99}$ ) в конъюнктивальную полость самое большое накопление препарата происходит в роговице ( $182\ 120 \pm 205,4$  имп/мин/г) и, составляя 53,08% от общей радиоактивности глазного яблока, значительно превышает количество РФП в других структурах глаза. Это указывает на наибольшую целесообразность применения этой формы ФС при заболеваниях роговицы, сопровождающихся неоваскуляризацией.

Используемые ранее методики введения ФС (внутри-венно, локально в просвет новообразованных сосудов, интритканевое введение), указанные в работах [1, 2, 6,

7, 13, 14], были основаны на особенности максимального накопления ФС в новообразованных сосудах, но при этом интенсивность накопления подтверждалась лишь флюоресцирующей способностью ФС, и нигде не проводились исследования избирательной тропности ФС к тканям и структурам глаза. В своих исследованиях мы обосновали целесообразность применения гелевой формы фотодитазина для лечения именно неоваскуляризации роговицы, доказав большую интенсивность накопления в ней ФС. К тому же при внутривенном введении ФС возможно общее токсическое действие на органы и ткани всего организма, а при локальном введении в конъюнктивальную полость глаза вероятность подобного воздействия многократно снижается.

### Заключение

Таким образом, проведение ФДТ с гелевой формой фотосенсибилизатора фотодитазин, вводимого в конъюнктивальную полость глаза, оказывает минимальное общее влияние на организм пациента, а максимальное накопление препарата в роговице делает применение этого метода наиболее целесообразным и эффективным при заболеваниях роговицы, сопровождающихся неоваскуляризацией, поскольку изначально максимальное количество ФС накапливается в ткани роговицы.

### Литература

1. Андреев Ю.В. Фотохимическая деструкция новообразованных сосудов роговицы (в эксперименте): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1993.
2. Егоров Е.А., Прокофьева М.И., Егоров А.Е. и др. Применение фотодинамической терапии в лечении заболеваний переднего и заднего отрезка глаза // Вестн. офтальмол. 2003. № 2. С. 13–15.
3. Белый Ю.А., Терещенко А.В., Плахотный М.А., Юдина Н.Н. Фотодинамическая терапия при локальном лечении бактериальных язв роговицы // Акт. вопр. профил. диагн. и терапии хирург. инфекции: Сб. мат. всеарм. межд. конф. VII. М., 2007. С. 132–133.
4. Каплан М.А., Пономарев Г.В., Баум Р.Ф. и др. Изучение специфической фотодинамической активности фотодитазина при фотодинамической терапии у экспериментальных животных-опухолонесителей // Рос. биотер. журнал. 2003. Т.2. № 4. С. 23–30.
5. Каплан М.А., Капиус В.Н., Романко Ю.С. др. Фотодитазин – эффективный фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии // Рос. биотер. журнал. 2004. Т. 3. № 2. С. 51.
6. Конаева В.Г., Андреев Ю.В., Пономарев Г.В. и др. Первый опыт фотохимической деструкции сосудов при неоваскуляризации роговичного трансплантата // Сб. науч. тр. МНТК «Микрохирургии глаза». Вып. 9. М., 1998. С.95–98.
7. Конаева В.Г., Андреев Ю.В. Новый подход к сохранению прозрачности роговичного трансплантата при кератопластике на ожоговых бельмах // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы: Мат. науч.-практ. конф. М., 2004. С. 229–235.
8. Курченко С.Н., Каземирский В.Е., Хаймина Т.В., Дудин М.Г. Применение фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин для лечения дегенеративно-дистрофических заболе-

- ваний опорно-двигательного аппарата у детей и подростков // Рос. биотер. журнал. 2007. № 1. Т. 6. С. 19.
9. Либман Е.С., Шахова Е.В. Состояние и динамика слепоты и инвалидности вследствие патологии органа зрения в России // Съезд офтальмол. России, VII: Тез. докл. Часть 2. М., 2000. С. 209–214.
10. Лихачева Е.В., Алексеев Ю.В., Армицев А.В., Борисова Е.М. Опыт применения препарата фотодитазина в сочетании с различными источниками излучения при амбулаторном лечении неопухолевых ЛОР-патологий // Рос. биотер. журнал. 2008. № 1. Т. 7. С. 19.
11. Майчук Ю.Ф. // Акт. вопр. воспалительных заболеваний глаз: Мат. науч.-практ. конф. М., 2001. С. 7.
12. Пономарев Г.В., Рещетников А.В., Иванов А.В., Странадко Е.Ф. Оценка биологической активности нового фотосенсибилизатора для клинического использования комплекса хлорина е6 фотодитазина // Фотодинамическая терапия: Мат. всерос. симп. М., 1999. С. 133–141.
13. Терещенко А.В., Белый Ю.А., Володин П.Л., Каплан М.А. Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором фотодитазин в офтальмологии // Калуга, 2008. С. 271.
14. Федоров С.Н., Копаева В.Г., Андреев Ю.В. и др. Разработка метода фотохимической деструкции новообразованных сосудов роговицы (клиническое исследование) // Офтальмохирургия. 1996. № 1. С. 1–12.
15. Ярославцева-Исаева Е.В., Каплан М.А. Эффективность фотодинамической терапии базально-клеточного рака кожи начальных стадий с локальным введением фотосенсибилизатора фотодитазин // Рос. биотер. журнал. 2008. №4. Т. 7. С. 36–41.
16. Bonnett R. Photodynamic therapy in historical perspective // Rev. Contemp. Pharmacother. 1999. Vol. 10. №. 1. P. 1–17.
17. Epstein R., Hendricks R., Harris D. Photodynamic therapy for corneal neovascularization // Cornea. 1991. Vol. 10. P. 424–432.
18. Kessel D., Luo Y., Deng Y., Chang C.K. The role of subcellular localization in initiation of apoptosis by photodynamic therapy // Photochem. Photobiol. 1997. Vol. 65. P. 422–426.
19. Reshetnikov A.V., Ponomarev G.V., Ivanov A.V. et al. Novel drug form of chlorine e6 // SPIE Proc. optical methods for tumor treatment and detection: Mechanisms and techniques in photodynamic therapy IX / Ed. by T.J. Dougherty. 2000. Vol. 3909. P. 124–129.

Поступила в редакцию 14.06.2011 г.

Для контактов: Сидоренко Евгений Иванович.

E-mail: sidorenkoei@mail.ru