

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ТРИАМЦИНОЛОНА АЦЕТОНИДА ПРИ ИНТРАСКЛЕРАЛЬНОМ И СУБТЕНОНОВОМ ЕГО ВВЕДЕНИИ

П. А. Бездетко, проф., д. мед. н., **О. В. Заволока**, ассистент,

Т. Н. Довжук, аспирант

Харьковский национальный медицинский университет

Операція інтрасклерального або субтенонового введення ТА була виконана на 80 кроликах (по 40 у кожній групі). Через 3 години, 1, 3, 7, 14 днів та 1, 2, 3, 6, 7 місяців після ін'єкції по 4 тварини у кожній групі були виведені з експерименту. Концентрація ТА визначалась у плазмі крові, внутрішньоочній рідині, а також у відсепарованих внутрішньоочних тканинах (скловидному тілі, ретинохориоїдальному шарі). При інтрасклеральному способі введення ТА визначався більш тривало у ретинохориоїдальному шарі (6 місяців), склистому тілі та внутрішньоочній рідині (3 місяці) у порівнянні з субтеноновим (2 та 1 місяць відповідно), причому після обох способів введення в ретинохориоїдальному шарі препарат зберігався максимально; в плазмі крові ТА визначався менш тривало (7 днів) у порівнянні з субтеноновим (14 днів).

Ключевые слова: ретинохориоидальный слой, стекловидное тело, внутриглазная жидкость, плазма крови, триамцинолона ацетонид, способ введения, фармакокинетика

Ключові слова: ретинохориоїдальний шар, сковидне тіло, внутрішньоочна рідина, плазма крові, триамцинолона ацетонід, спосіб введення, фармакокінетика

ВВЕДЕНИЕ. Развитие новых терапевтических возможностей повысило интерес к способу доставки лекарственных препаратов. Принимая во внимание, что глаз занимает 0,01 % общего объема тела, большинство офтальмологов предпочитают «адресную» доставку лекарственных препаратов. В литературе последних лет даже появился термин «фармакохирургия» [13, 14].

В настоящее время интерес представляет транссклеральный путь введения, который с недавнего времени используется при субтеноновых инъекциях. Это безопасный малоинвазивный метод, не требующий перфорации глазного яблока. Однако по сравнению с интравитреальными инъекциями отмечается низкая эффективность триамцинолона ацетонида (ТА) при субтеноновом введении [10, 11], что, по мнению большинства исследователей, связано с быстрой абсорбцией препарата конъюнктивными сосудами [2, 3, 7, 8, 12].

В литературе в последнее время стали появляться свидетельства эффективности интрасклеральных имплантатов с ТА [1]. Склера является бессосудистой структурой, благодаря чему нивелируется эффект абсорбции препарата лимфатическими и кровеносными сосудами орбиты и конъюнктивы. Кроме того известно, что коэффициент проницаемости склеры повышается с глубиной из-за ее слоистой структуры [9]. Эти анатомические предпосылки могут определить интрасклеральный путь введения ТА в качестве альтернативы более опасному в плане осложнений интравитреальному пути. Однако дорогостоящие интрасклеральные

имплантаты отсутствуют в Украине. Известно, что малорастворимые кристаллы ТА имеют более медленную норму высвобождения, чем водорастворимые компоненты, что предполагает более продолжительное действие препарата [4, 5]. Поэтому у нас возникла идея интрасклерального введения кристаллов ТА в высокой дозе (40 мг), что может стать альтернативным путем доставки препарата к заднему полюсу глаза.

Цель исследования: повышение эффективности доставки ТА к заднему полюсу глаза путем разработки нового интрасклерального способа введения, а также сравнительный анализ фармакокинетики предложенного способа с известным субтеноновым методом введения в эксперименте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Эксперимент был выполнен на 80 кроликах породы шиншилла массой 2–2,5 кг, которым в возрасте 5–6 месяцев на правом глазу была произведена операция интрасклерального или субтенонового введения ТА (по 40 особей в каждой группе). Хирургическое лечение проводилось в стерильных условиях под общей (в/м введение гексенала в дозе 100 мг/кг массы тела на одну инъекцию) и местной анестезией (0,1 % алкаин). При этом обе группы были сравнимы по использованной дозе триамцинолона ацетонида (40 мг).

В ходе операции интрасклерального введения кристаллов ТА в первой группе кроликов сначала производили разрез конъюнктивы в верхне-темпоральном квадранте посредине между верхней и латеральной прямой мышцей, в 5–6 мм от лимба, после чего отсепаровывали ее от склеры. Затем с помощью ножа-расслаивателя фирмы Alcon был

Экспериментальные исследования

выполнен интрасклеральный карман размером 3×3 мм, в который имплантировали кристаллы ТА (40 мг). Края склеры были фиксированы ниткой нейлон 9/0 (рис. 1).

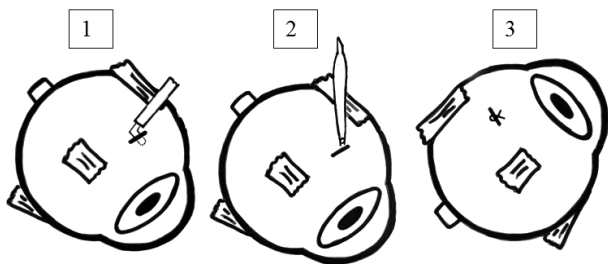


Рис. 1. Ход операции интрасклерального введения кристаллов триамцинолона ацетонида.

Примечания: 1 — разрез конъюнктивы и формирование склерального кармана; 2 — введение кристаллов триамцинолона ацетонида; 3 — фиксация склерального кармана узловым швом 10/0.

Для получения кристаллов ТА производили удаление консерванта (бензилового спирта) центрифугированием суспензии Кеналого-40 описанным ранее методом, эффективность которого доказана группой авторов [5, 6].

Второй группе животных выполнялось субтеноновое введение триамцинолона ацетонида (40 мг) по общепринятой методике [5, 10].

Для исследования фармакокинетики ТА при интрасклеральном и субтеноновом способах введения определяли концентрацию вещества во внутриглазных тканях методом жидкой хроматографии. Через 3 часа, 1, 3, 7, 14 дней и 1, 2, 3, 6, 7 месяцев после инъекции исследуемого препарата с помощью передозировки пентобарбитала натрия было забито по четыре животных в каждой группе. Непосредственно перед эвтаназией методом кардиальной пункции было набрано по 2 мл крови, которая затем помещалась в 250 мл 3,8 % раствора цитрата и центрифугировалась в течение 10 мин со скоростью 2000 об/мин. Плазму забирали для определения концентрации ТА. Глаза были немедленно энуклеированы и заморожены при температуре -75°C в 2-метилбутане на протяжении 45 с. Замороженные глаза подвергались диссекции по ранее описанному методу [4], отсепарованные

блоки передней камеры, стекловидное тело, ретинохориоидальный слой размещали отдельно в помеченные стеклянные пробирки. Концентрация триамцинолона ацетонида определялась в плазме крови и внутриглазной жидкости, а также в отсепарованных внутриглазных тканях: стекловидном теле и ретинохориоидальном слое. При этом использовалась сверхдейственная жидкая хроматография (ultra-performance liquid chromatography) с тройным четырехполосным масс-спектрометром и C_{18} колонкой по ранее описанной методике [4].

Статистическую обработку материала проводили методами вариационной статистики с помощью программного компьютерного обеспечения Microsoft Excel 2000 с использованием статистического пакета программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. На основе анализа фармакокинетики ТА в ретинохориоидальном слое при интрасклеральном способе введения по сравнению с субтеноновым в эксперименте установлено, что максимальная концентрация препарата в обоих случаях наблюдалась через 3 часа после инъекции, а на следующий день произошло снижение концентрации ТА с последующим подъемом на третий день и повторным снижением на четырнадцатый день после инъекции. Нужно также отметить, что концентрация препарата через 3 часа, 1 день, 3 дня и 7 дней после инъекции при обоих способах введения была достоверно одинаковой. Однако при интрасклеральном способе введения концентрация препарата на 14 день (3448 ± 241) нг/мл, через один (1527 ± 176) нг/мл, два (599 ± 56) нг/мл, три (325 ± 46) нг/мл и 6 месяцев после инъекции (157 ± 27) нг/мл была выше таковой при субтеноновом способе ($p < 0,05$). Таким образом, при интрасклеральном способе введения ТА определялся в ретинохориоидальном слое на протяжении шести месяцев с выявленной минимальной концентрацией (157 ± 27) нг/мл, в то время как при субтеноновом — на протяжении двух месяцев с минимальной концентрацией (114 ± 19) нг/мл (табл. 1).

Таблица 1

Особенности динамики средних показателей концентрации триамцинолона ацетонида в ретинохориоидальном слое при интрасклеральном способе введения по сравнению с субтеноновым в эксперименте

Нг/мл	3 часа	1 день	3 день	7 день	14 день	1 мес	2 мес	3 мес	6 мес	7 мес
ИС, n=4	17287 ± 1673	4167 ± 307	12342 ± 1373	14567 ± 1548	$3448 \pm 241^*$	$1527 \pm 176^*$	$599 \pm 56^*$	$325 \pm 46^*$	$157 \pm 27^*$	0
СТ, n=4	17125 ± 1634	4199 ± 659	12572 ± 1345	14028 ± 1479	2438 ± 253	589 ± 98	114 ± 19	0	0	0

Примечание. * — $p < 0,05$ достоверное различие между соответствующими показателями в группе интрасклерального и субтенонового введения.

Фармакокинетика ТА в стекловидном теле при интрасклеральном и субтеноновом способах введения также была сходной: максимальная концентрация наблюдалась через три часа после инъекции со снижением на следующий день и последующим подъемом на третий день и повторным снижением на седьмой день после инъекции. Концентрация препарата через 3 часа, 1 день и 3 дня после инъекции при обоих способах

введения достоверно не различалась. Однако при интрасклеральном способе введения концентрация препарата на 7 день (67 ± 11) нг/мл, 14 день (89 ± 16) нг/мл, через (69 ± 11) нг/мл, 2 (45 ± 8) нг/мл и 3 месяца после инъекции (18 ± 3) нг/мл была выше таковой при субтеноновом способе ($p < 0,05$). Таким образом, в стекловидном теле при интрасклеральном способе введения ТА определялся на протяжении трех месяцев с выявленной мини-

мальной концентрацией (18 ± 3) нг/мл, в то время как при субтеноновом — на протяжении одного

месяца с выявленной минимальной концентрацией (17 ± 3) нг/мл (табл. 2).

Таблица 2

Особенности динамики средних показателей концентрации триамцинолона ацетонида в стекловидном теле при интрасклеральном способе введения по сравнению с субтеноновым в эксперименте

Нг/мл	3 часа	1 день	3 день	7 день	14 день	1 мес	2 мес	3 мес	6 мес	7 мес
ИС, n=4	1436±178	135±14	1138±167	67±11*	89±16*	69±11*	45±8*	18±3*	0	0
СТ, n=4	1351±136	128±13	1023±118	11±2	18±3	17±3	0	0	0	0

Примечание. * $p < 0,05$ — достоверное различие между соответствующими показателями в группе интрасклерального и субтенонового введения.

Подобные особенности фармакокинетики ТА были выявлены и при исследовании внутриглазной жидкости. Нужно отметить, что концентрация препарата во внутриглазной жидкости через 3 часа, 1 день и 3 дня после инъекции при обоих способах введения была одинаковой. Однако при интрасклеральном способе концентрация ТА на 7 день (211 ± 33) нг/мл, 14 день (56 ± 10) нг/мл, через 1 месяц (22 ± 4) нг/мл, 2 (12 ± 2) нг/мл и 3 месяца

после инъекции ($5 \pm 0,6$) нг/мл выше таковой при субтеноновом способе ($p < 0,05$). Таким образом, во внутриглазной жидкости при интрасклеральном способе введения ТА определялся на протяжении трех месяцев с выявленной минимальной концентрацией $5 \pm 0,6$ нг/мл, в то время как при субтеноновом — на протяжении одного месяца с минимальной концентрацией ($2,7 \pm 0,4$) нг/мл (табл. 3).

Таблица 3

Особенности динамики средних показателей концентрации триамцинолона ацетонида во внутриглазной жидкости при интрасклеральном способе введения по сравнению с субтеноновым в эксперименте

Нг/мл	3 часа	1 день	3 день	7 день	14 день	1 мес	2 мес	3 мес	6 мес	7 мес
ИС, n=4	1339±144	397±65	1143±137	211±33*	56±10*	22±4*	12±2*	5±0,6*	0	0
СТ, n=4	1314±119	335±39	1086±129	90±15	3,7±0,4	2,7±0,4	0	0	0	0

Примечание. * $p < 0,05$ достоверное различие между соответствующими показателями в группе интрасклерального и субтенонового введения.

Сравнительный анализ концентрации ТА в плазме крови при обоих способах введения показал достоверные различия с самого начала наблюдения. Так, при интрасклеральном способе через три часа ($2,7 \pm 0,4$) нг/мл, 1 день (1 нг/мл), 3 (1 нг/мл), 7 (1 нг/мл) и 14 дней (0 нг/мл) после инъекции концентрация исследуемого препарата в плазме крови была ниже таковой при субтеноновом введении ($p < 0,05$). Уже через три часа после инъекции при интрасклеральном способе введения концентрация триамцинолона в плазме крови была меньше соответствующего показателя при субтеноновом введении в 7,4 раза, а через 1 день — в 18 раз. В дальнейшем отношение концентраций препарата

в исследуемых группах снижалось; через 3 и 7 дней равнялось трем. Максимальное отношение между показателями концентрации исследуемого препарата при интрасклеральном и субтеноновом введении было отмечено через один день. Полученные данные свидетельствуют о меньшей биодоступности препарата для плазмы крови при интрасклеральном способе введения. В плазме крови при интрасклеральном способе введения ТА определялся на протяжении семи дней с выявленной минимальной концентрацией 1 нг/мл, в то время как при субтеноновом — на протяжении четырнадцати дней с выявленной минимальной концентрацией (6 ± 1) нг/мл (табл. 4).

Таблица 4

Особенности динамики средних показателей концентрации триамцинолона ацетонида в плазме крови при интрасклеральном способе введения по сравнению с субтеноновым в эксперименте

Нг/мл	3 часа	Дни				Месяцы				
		1	3	7	14	1	2	3	6	7
ИС, n=4	2,7±0,4	1*	1*	1*	0*	0	0	0	0	0
СТ, n=4	20±3	18±3	6±1	6±1	8±1	2	0	0	0	0

Примечание. * $p < 0,05$ — достоверное различие между соответствующими показателями в группе интрасклерального и субтенонового введения.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в эксперименте на кроликах при интрасклеральном способе введения триамцинолона ацетонида отмечались следующие особенности фармакокинетики по сравнению с субтеноновым способом:

1) в ретинохориоидальном слое триамцинолона ацетонид определялся более продолжительно (6 месяцев с выявленной минимальной концентрацией 157 нг/мл) по сравнению с субтеноновым (2 месяца с выявленной минимальной концентрацией 114 нг/мл), причем при обоих способах введения в этой ткани препарат сохранялся максимально по сравнению с другими исследуемыми;

2) в стекловидном теле и внутриглазной жидкости триамцинолона ацетонид определялся более продолжительно (3 месяца с выявленной минимальной концентрацией 18 нг/мл и 5 нг/мл соответственно) по сравнению с субтеноновым (1 месяц с выявленной минимальной концентрацией 17 нг/мл и 2,7 нг/мл);

3) в плазме крови триамцинолона ацетонид определялся менее продолжительно (7 дней с выявленной минимальной концентрацией 1 нг/мл) по сравнению с субтеноновым (14 дней с выявленной минимальной концентрацией 6 нг/мл).

ЛИТЕРАТУРА

1. **Kim Y. M., Lim J. O., Kim H. K.** et al. A novel design of one-side coated biodegradable intrascleral implant for the sustained release of triamcinolone acetonide // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. — 2008. — Vol. 70. — P. 179–186.
2. **Robinson M. R., Lee S. S., Kim H.** et al. A rabbit model for assessing the ocular barriers to the transscleral delivery of triamcinolone acetonide // *Experimental Eye Research*. — 2006. — Vol. 82 (3). — P. 479–487.
3. **Kim H., Galbn C. J., Lutz R. J.** et al. Assessment of Subconjunctival and Intrascleral Drug Delivery to the Posterior Segment Using Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. Stephanie // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. — 2007. — Vol. 48. — P. 808–814.
4. **Cheng L., Hostetler K. Y., Lee J.** et al. Characterization of a novel intraocular drug-delivery system using crystalline lipid antiviral prodrugs of ganciclovir and cyclic cidofovir // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. — 2004. — Vol. 45. — P. 4138–4144.
5. **Nan K., Sun S., Li Y.** et al. Characterisation of systemic and ocular drug level of triamcinolone acetonide following a single sub-Tenon injection // *British Journal of Ophthalmology*. — 2010. — Vol. 94. — P. 654–658.
6. **Garcna-Arurn J., Boixadera A., Giralt J.** et al. Comparison of different techniques for purification of triamcinolone acetonide suspension for intravitreal use // *British Journal of Ophthalmology*. — 2005. — Vol. 89. — P. 1112–1114.
7. **Kim H., Robinson M. R., Lizak M. J.** et al. Controlled drug release from an ocular implant: an evaluation using dynamic three-dimensional magnetic resonance imaging // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. — 2004. — Vol. 45. — P. 2722–2731.
8. **Pontes de Carvalho R. A., Krausse M. L., Murphree A. L.** et al. Delivery from episcleral explants // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. — 2006. — Vol. 47. — P. 4532–4539.
9. **Ghosn M. G., Tuchin V. V., Larin K. V.** Nondestructive Quantification of Analyte Diffusion in Cornea and Sclera Using Optical Coherence Tomography // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. — 2007. — Vol. 48. — P. 2726–2733.
10. **Bonini-Filho T. M. A., Jorge R., Barbosa J. C.** et al. Intravitreal Injection Versus Sub-Tenon's Infusion of Triamcinolone Acetonide for Refractory Diabetic Macular Edema: A Randomized Clinical // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. — 2005. — Vol. 46. — P. 3845–3849.
11. **Cellini M., Pazzaglia A., Zamparini E.** et al. Intravitreal vs. subtenon triamcinolone acetonide for the treatment of diabetic cystoid macular edema // *BMC Ophthalmology*. — 2008. — Vol. 8. — P. 5.
12. **Ghate D., Brooks W., McCarey B. E.** et al. Pharmacokinetics of Intraocular Drug Delivery by Periocular Injections Using Ocular Fluorophotometry // *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. — 2007. — Vol. 48. — P. 2230–2237.
13. **Sallam A., Jayakumar S., Lightman S.** Intraocular delivery of anti-infective drugs—bacterial, viral, fungal and parasitic // *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. — 2008. — Vol. 3 (1). — P. 53–63.
14. **Short B. G.** Safety evaluation of ocular drug delivery formulations: techniques and practical considerations // *Toxicologic Pathology*. — 2008. — Vol. 36 (1). — P. 49–62.

Поступила 05.01.2011

Рецензент д-р мед. наук А. А. Путиенко

**PECULIARITIES OF PHARMACOKINETICS OF TRIAMCINOLONE ACETONIDE
IN ITS INTRASCELRAL AND SUBTENON INTRODUCTION**

Bezdetko P. A., Zavoloka O. V., Dovzhuk T. N.

Kharkov, Ukraine

80 crawls (40 in every group) were operated with intrascleral or sub-tenon's introductions of TA. 3 hours, 1, 3, 7, 14 days and 1, 2, 3, 6, 7 months later after injection 4 crawls were killed in every group. Concentration of TA was determined in blood plasma, intraocular liquid, and also in intraocular fabrics (vitreous body, retinochoroid layer) by the method of liquid chromatography. TA was determined more long in case of intrascleral method of introductions in a retinochoroid layer (6 months), vitreous body and intraocular liquid (3 months) compared to subtenon (2 and 1 month accordingly), thus at both methods of introduction in a retinochoroid layer preparation was saved maximally; in a blood plasma TA was determined less long (7 days) compared to sub-tenon's (14 days).