

Интраокулярное применение нанокатионита [25Mg] РМС 16 при адреналинининдуцированной глаукоме



**Ж.Ю.Алябьева ^{1,2}, Е.А. Егоров ^{1,2}, Т.Б. Романова¹,
Д.С. Дзукаева ^{1,2}, В.С. Сухоруков, Т.И. Баранич¹**

- 1. Российский национальный исследовательский
медицинский университет им. Н.И Пирогова,**
- 2. Московский глаукомный центр, Городская
клиническая больница №15 им. О.М. Филатова,**

Москва, Россия



- В последние годы произошел экспоненциальный рост информации касательно молекулярного базиса гибели ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) на основе данных полученных в экспериментальных моделях острого и хронического повреждения зрительного нерва на животных, а также экспериментальной глаукомы. Существует множество молекулярных сигналов, запускающих апоптоз (генетически запрограммированную гибель ГКС). Причинами апоптоза ГКС могут быть: нарушение аксонального транспорта, отсутствие поступления нейротрофических факторов, токсические пронеуротрофины, активация внутренних и внешних сигналов апоптоза, **митохондриальная дисфункция**, эксайтотоксическое повреждение, окислительный стресс, дисфункция реактивной глиальной ткани и утрата синаптических контактов.



НЕЙРОПРОТЕКЦИЯ

Нейропротекция – лечение, направленное на замедление или предотвращение смерти нейронов с сохранением их физиологической функции, одна из серьезнейших и до сих пор неразрешенных задач нейробиологии, а также клинической и фундаментальной медицины.



НАНОКАТИОНИТ НА ОСНОВЕ РМС 16

Препараты митохондриально-ориентированного действия перспективны для лечения глаукомной оптической нейропатии. К этой группе относятся низкотоксичные нанокатиониты с Mg^{25+} на основе порфиринового аддукта фуллерена-С60 (РМС 16), разработанные научно-образовательным центром. «Нанотехнологии» РНИМУ им. Н.И. Пирогова. характеризуются низкой токсичностью и мембранотропным антиоксидантным эффектом. В 2010 году был запатентован метод терапии тканевой гипоксии с помощью медицинских углеродных нанокатионитов. К настоящему времени уже апробировано применение этого нанокатионита для коррекции функции митохондрий при ишемических заболеваниях сердечной мышцы и диабетической нейропатии. Местное применение нанокатионитов данного класса для защиты нервной ткани от апоптоза при глаукоме нуждается в экспериментальном изучении.

1. Buchachenko A. L., Kuznetsov D. A., Arkhangelsky S. E., Orlova M. A. Spin biochemistry: ^{24}Mg - ^{25}Mg - ^{26}Mg isotope effect in mitochondrial ADP phosphorylation processes // Cell Biochemistry and Biophysics. 2005. Vol. 43, P. 2432–2452.
2. Hosseini A., Sharifzadeh M., Rezayat, S. M. Benefit of magnesium-25 carrying porphyrin-fullerene nanoparticles in experimental diabetic neuropathy // International Journal of Nanomedicine. 2010. № 5. P. 517–523.
3. Rezayat S.M., Boushehri S.V.S., Salmanian B. The porphyrin–fullerene nanoparticles to promote the ATP overproduction in myocardium: $^{25}Mg^{2+}$ -magnetic isotope effect // Eur. J. Med. Chem. 2009. Vol. 44 (4), P. 1554–1569.



IN VIVO МОДЕЛИ: ИНДУЦИРОВАННАЯ ГЛАУКОМА

Ретинальная ишемия/реперфузия – важная причина нарушения зрительных функций не только при глаукоме, но и при иной глазной патологии, такой как окклюзии сосудов сетчатки, диабетическая ретинопатия, глазная травма.

Pathologic Progression Of Retinal Ischemia And Reperfusion Injury In Mice Associated With Defective Retinal Function. Byung-Jin Kim, Robert J. Wordinger, Abbot F. Clark.

ISER 2012 Program Number: 2477 Poster Board Number: A203

Из моделей нормотензивной ПОУГ - одна из наиболее простых, но учитывающая важнейшее звено патогенеза - модель ишемического стресса на мышах (в предыдущих исследованиях – на крысах) с хроническим введением вазоконстрикторного пептида эндотелина – ET-1 в зрительный нерв, вызывающем снижение кровотока и гибель ГКС.

Наиболее отработанные модели глаукомы in vivo, не требующие значительных финансовых ресурсов и удобные для содержания в лабораторных условиях, являются модели на грызунах (лабораторные мыши и крысы): введение гипертонического раствора в эписклеральные вены, лазеркоагуляция, термокоагуляция эписклеральных вен, а также на кроликах: адреналин-индуцированная глаукома, введение эндотелина, лазериндуцированная глаукома.



ИНТРАОКУЛЯРНОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОКАТИОНИТОВ НА ОСНОВЕ РМС 16

Цель: определение динамики внутриглазного давления и состояния тканей глаза при интраокулярном введении нанокатионита с Mg^{2+} на основе порфиринового аддукта фуллерена- C_{60} (РМС 16) - $[25Mg]RMS16$ кроликам с адреналиндуцированной глаукомой.



ИНТРАОКУЛЯРНОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОКАТИОНИТОВ НА ОСНОВЕ РМС 16

- Материалы и методы: введение нанокатионита в переднюю камеру глаза и интравитреально было проведено у 6 кроликов с адреналининдуцированной глаукомой (в дозах 10 мкг). Один кролик с адреналининдуцированной глаукомой был контролем (вводился физраствор в соответствующем объеме разведения нанокатионита количестве). Оценка состояния глаз проводилась *in vivo* методами биомикроскопии и прямой офтальмоскопии, контроль внутриглазного давления - тонометрией по Маклакову, *post mortem* глаза оценивались с помощью световой микроскопии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика внутриглазного давления при адреналин-индуцированной глаукоме

Таблица 1. Тонометрическое внутриглазное давление (Тонометр Маклакова 7,5 г) при интракамеральном введении [25Mg] PMS16, мм рт. ст.

№ кролика	День 0	День 1	День 7	День 14
1	13,5		10,5	
2	12		9,6	
3	14,5	10,6		
4	9		10	10,5
5	13		10,5	10,5
6	15	10,6		
Контроль	11		13,5	12,5

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика внутриглазного давления при адреналин-индуцированной глаукоме

Таблица 2. Динамика внутриглазного давления при адреналин-индуцированной глаукоме (тонометр Маклакова 7,5 г) при интравитреальном введении [25Mg] РМС16, мм рт. ст.

№ кролика	День 0	День 1	День 7	День 14
1	11,5		9,5	
2	12,6		9	
3	12,8	9		
4	9		11	11
5	10,5		10,6	11
6	11	9		
Контроль	11		9	11,5



РЕЗУЛЬТАТЫ

- При введении 10 мкг РМС16 с Mg^{2+} наблюдалось понижение внутриглазного давления (ВГД) у кроликов с исходно повышенным ВГД и умеренное временное повышение ВГД при относительно низком исходном ВГД.

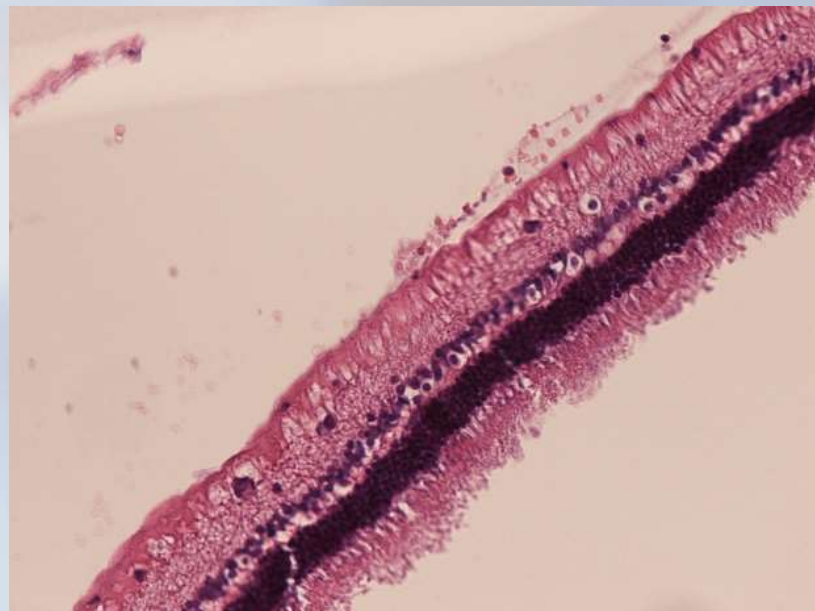
ИНТРАОКУЛЯРНОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОКАТИОНИТА НА ОСНОВЕ РМС-16



Состояние структур глаза здорового кролика через 2 недели после введения 10 мкг нанокатионита в переднюю камеру глаза.

Рис. 1. Сетчатка (увел. 200).

Результаты: по данным предыдущих исследований визуального контроля и гистологического исследования при всех дозах (10, 100 и 1000 мкг) вводимого препарата (при обоих путях введения) воспалительных явлений либо токсических реакций не определялось. Изменения сетчатки имели характер ишемических, не имели значительных различий при возрастании дозы и были менее выражены, чем у кроликов в группе адреналин-индуцированной глаукомы.





РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистологическая картина сетчатки после интракамерального введения [25Mg]PMS16

Состояние тканей глаза через 2 недели после интракамерального введения 10 мкг [25Mg] PMS16 кроликам с адреналин-индуцированной глаукомой.

Рис. 2. Сетчатка (x100). Гематоксилин и эозин. Общий план строения сетчатки не изменен. Имеются признаки отека сетчатки основной группы кроликов с индуцированной глаукомой по сравнению с сетчаткой контрольного кролика с индуцированной глаукомой (введение физраствора). Признаков воспалительной реакции не определяется. Ганглионарный слой и внутренний ядерный слой резко отечны, отмечается расширение внутреннего сетчатого слоя и очаги деструкции в нем.



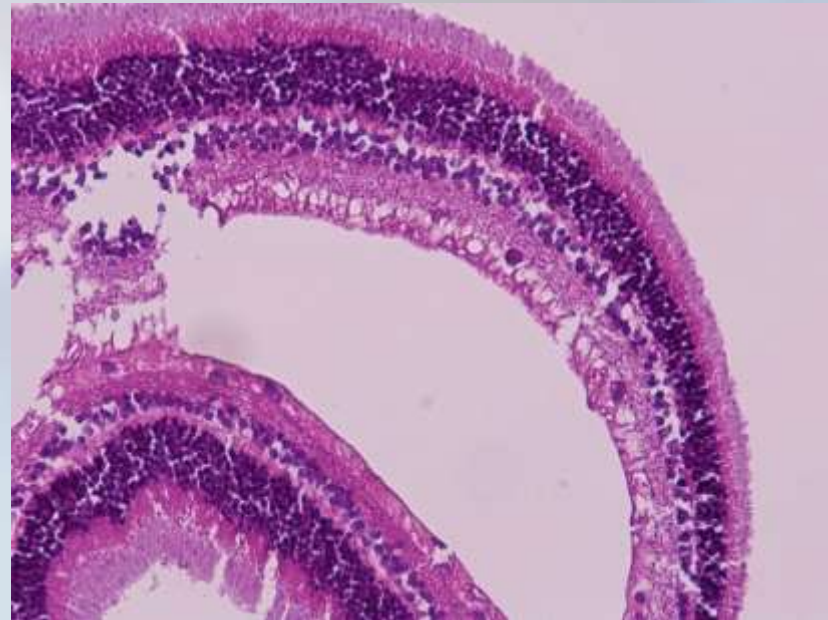


РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистологическая картина сетчатки после интракамерального введения [25Mg]PMC16

Состояние тканей глаза через 2 недели после интракамерального введения 10 мкг [25Mg] PMC16 кроликам с адреналин-индуцированной глаукомой.

Рис. 3. Сетчатка (x100). Гематоксилин и эозин. Общий план строения сетчатки не изменен. Признаков воспалительной реакции не определяется. Ганглионарный и внутренний ядерный слой отечны.



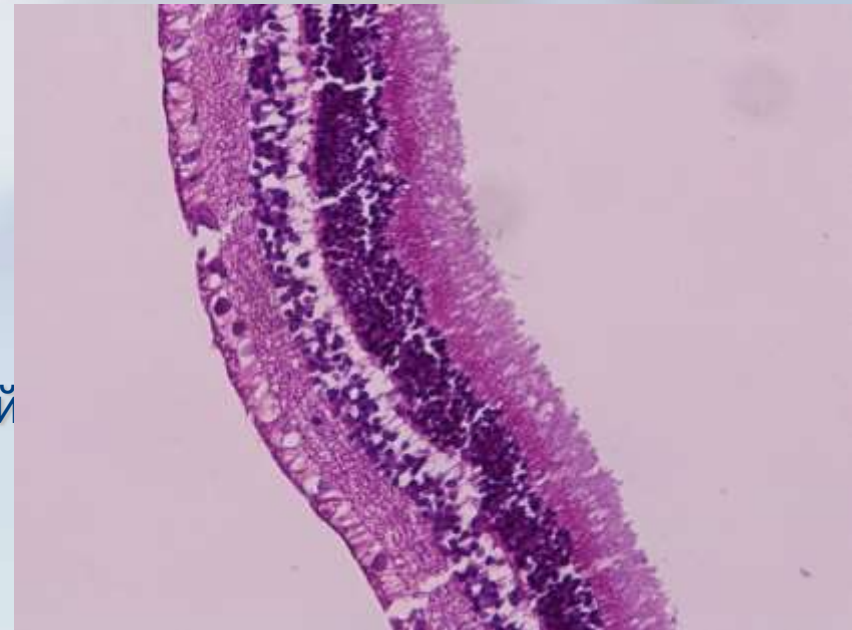


РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистологическая картина сетчатки после интракамерального введения [25Mg]PMS16

Состояние тканей глаза через 2 недели после интракамерального введения физраствора (0,9% NaCl) кролику с адреналин-индуцированной глаукомой.

Рис. 4. Сетчатка (x100). Гематоксилин и эозин. Общий план строения сетчатки не изменен. Имеются признаки отека сетчатки менее выраженные, чем в основной группе кроликов с индуцированной глаукомой. Признаков воспалительной реакции не определяется.



ИНТРАОКУЛЯРНОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОКАТИОНИТА НА ОСНОВЕ РМС-16

Состояние структур глаза кролика через 2 недели после введения 10 мкг нанокатионита в переднюю камеру глаза (не изменены).

Рис. 5. Роговица (увел. 400).

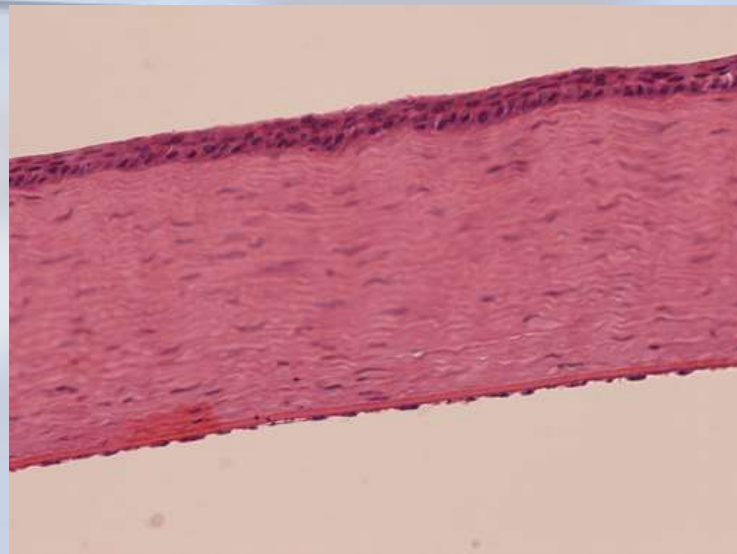
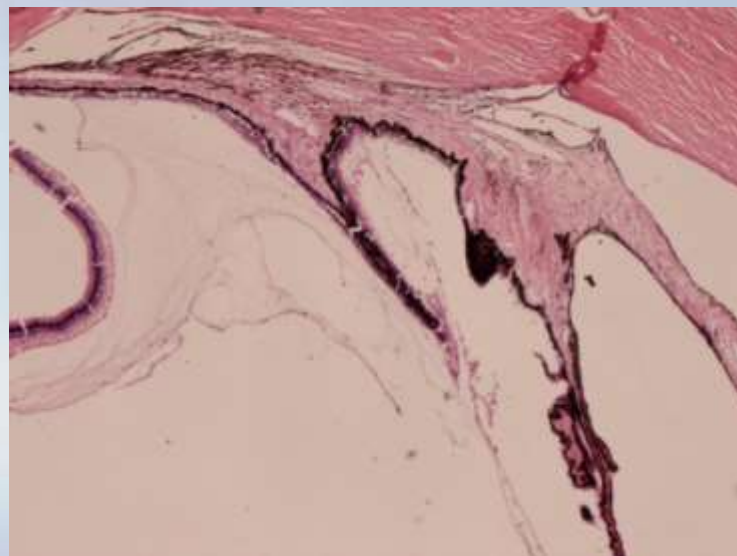


Рис. 6. Угол передней камеры глаза (увел. 200)





РЕЗУЛЬТАТЫ

Воспалительных явлений либо токсических реакций по данным визуального контроля и гистологического исследования не определялось.

Наиболее выраженная отечность сетчатки (ганглионарный, внутренний ядерный и внутренний сетчатый слои), предположительно ишемического генеза, наблюдалась у кроликов с адреналин-индуцированной глаукомой основной группы (интраокулярное введение нанокатионита) и длительностью эксперимента - 2 недели. Отечность сетчатки у контрольного кролика с адреналин-индуцированной глаукомой и здорового кролика с введением 10 мкг нанокатионита (минимальная отечность) были менее выражены.



Заключение

1. Нанокатионит РМС16 с $Mg25^{2+}$ в дозе 10 мкг безопасен для интравитреального и интракамерального введения, не вызывает воспаления, токсических реакций и значимого помутнения оптических сред.
2. При введении препарата на фоне повышенного ВГД наблюдается снижение внутриглазного давления при обоих путях введения, при введении у кроликов с низкими цифрами внутриглазного давления - умеренное повышение ВГД в сроки до 14 дней от момента введения препарата.
3. При интраокулярном применении 10 мкг РМС16 с $Mg25^{2+}$ на модели адреналининдуцированной глаукомы отек сетчатки (предположительно ишемического генеза) не имеет тенденции к уменьшению по сравнению с контролем.



Спасибо за внимание

