

УДК 617.735-006.487:615.28:616-076.4

Ультроструктурные изменения сетчатки кролика при однократном интравитреальном введении различных доз мелфалана

Н. Ф. Боброва, д-р мед. наук, проф., Т. А. Сорочинская, канд. мед. наук,
Н. И. Молчанюк, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., А. Ю. Братишко, мл. науч. сотр.

ГУ «Институт глазных
болезней и тканевой
терапии им В.П. Филатова
НАМН Украины»;
Одесса (Украина)

E-mail:
filatov.detskoe7@gmail.com

Актуальность. Интравитреальная химиотерапия (ИВХ) ретинобластомы (РБ) в настоящее время широко применяется при органосохранном лечении ретинобластомы и является наиболее перспективным методом. Однако до настоящего времени остаются нерешенным целый ряд вопросов, касающихся дозировок цитостатика, его влияния на здоровую сетчатку на ультроструктурном уровне, отдаленных осложнений.

Цель. Выявить и оценить ультроструктурные изменения сетчатки кролика при интравитреальном (ИВ) введении различных дозировок Мелфалана.

Материалы и методы. Проведены клинические и электронно-микроскопические исследования 6 глаз 3 кроликов породы шиншилла одного возраста – 5-6 месяцев и веса – 2,5-3 кг. Выделено 3 группы глаз в зависимости от дозы однократно вводимого препарата: 1 группа – 5 мкг на одну инъекцию, 2 группа – 10 мкг, 3 группа – 20 мкг по 2 глаз в конкретной группе. ИВ инъекция проводилась по стандартной методике. Во всех группах энуклеация произведена через 4 недели после инъекции. Забор материала для гистопатологического исследования (электронной микроскопии) после энуклеации производился по разработанной методике. Материал изучался под электронным микроскопом ПЭМ-100 - 01.

Результаты. ИВ введение Мелфалана не оказывало общего токсического воздействия на животных. Во все сроки наблюдения как в группах с меньшим, так и с более высокой концентрацией введенного ИВ цитостатика, кровоизлияний в сетчатку и стекловидное тело, разрывов и отслоения сетчатки не наблюдалось. Послеоперационный период проходил без осложнений. В 1 группе глаз, после однократной ИВ инъекции 5 мкг мелфалана очаговых изменений на глазном дне отмечено не было в течение всего периода наблюдения (4 недели). В остальных группах были выявлены изменения на глазном дне, от единичных мелких участков малозаметной депигментации до изменений в виде перераспределения пигмента с появлением более светлых и больших зон депигментации с прогрессированием и увеличением участков дегенерации сетчатки. Ультроструктурные изменения сетчатки соответствовали офтальмоскопической картине. Электронная микроскопия выявила деструктивные изменения в клетках пигментного эпителия (ПЭС), фоторецепторах (ФК), мюллеровских клетках. Минимальные изменения структур ПЭС и ФК отмечались при введении мелфалана в дозировке 5 мкг. Дозы 10 и 20 мкг вызывали грубые изменения клеток сетчатки с явлениями отека и гипертрофии, развитием деструкции и распада, дезорганизацию слоев сетчатки с утратой типичной ультроструктур и глиоз и некроз при однократной ИВ инъекции.

Выводы. Из полученных нами результатов можно сделать вывод об относительной безопасности дозы 5 мкг и минимальной токсичности дозы 10 мкг при однократном введении. Доза 20 мкг даже при однократном введении вызывала грубые изменения клеток сетчатки с развитием глиоза и некроза.

Ключевые слова:

интравитреальная химиотерапия,
мелфалан, электронная
микроскопия, сетчатка,
эксперимент

Актуальность. В последние два десятилетия основным направлением в лечении ретинобластомы (РБ) стала органосохранная терапия. Широкое распространение получили методы так называемой адресной доставки химиопрепаратов к опухоли в виде внутриартериальной, субконъюнктивальной, субтенноновой и интравитреальной химиотерапии (ХТ).

По данным Edelhauser Н. F. с соавт. (2010) [2], интраокулярная доставка медикаментов является единственным методом, с помощью которого происходит

непосредственное преодоление гематоретинального барьера и, таким образом, достигается наивысший пик концентрации препарата в стекловидном теле и сетчатке. Интравитреальная химиотерапия РБ препаратом тиотепы была впервые предложена шведскими учеными Ericson и Rosengren в 1961 г. [3], однако не получила дальнейшего распространения.

В 1987 г. японские ученые Inomata M. и Kaneko A. установили, что культура клеток РБ *in vitro* из 12 различных протестированных противоопухолевых препаратов наиболее чувствительна к L-фенилаланин мустарду (Мелфалан) и подвергается полной супрессии при его концентрации 4 мкг/мл. Мелфалан является цитостатиком, алкилирующим ряд внутриклеточных молекул, включая ДНК и РНК, способствующим образованию перекрестных связей молекулы ДНК, что приводит к нарушению деления клеток опухоли либо клеток лимфоидной ткани и их гибели. Препарат вызывает первичное повреждение макромолекул ДНК, нарушает ее полимеризацию и редупликацию, способствует образованию дефектных форм ДНК и РНК и останавливает синтез белка. Цитотоксичность обусловлена блокадой межклеточных перекрестных обратимых сшивок в молекуле ДНК. Тем самым нарушается клеточная репликация. Активен в отношении покоящихся и активно делящихся опухолевых клеток. Ранним признаком повреждения опухоли является нарушение митотического деления клеток вплоть до полной остановки митозов. Кроме того, как структурный аналог фенилаланина, Мелфалан включает (вместе с продуктами его биотрансформации) в метаболизм опухолевых клеток. Наиболее ранние ультрамикроскопические изменения обнаруживаются в митохондриях. При полной гибели опухолевой ткани в жизненно важных органах не наблюдается необратимых изменений (исключая костный мозг). Характерной морфологической особенностью является стимуляция пролиферативных процессов в окружающей опухоль соединительной ткани и регенерация нервных волокон.

Мелфалан, зарегистрирован в Украине в качестве противоопухолевого средства под торговой маркой Алкеран. Рекомендуются для лечения поздних стадий нейробластом у детей.

Интравитреальная ХТ ретинобластомы получила в Японии «второе рождение» благодаря Kaneko, Suzuki в 2003 г. [5] и является наиболее перспективной. Однако до настоящего времени остается нерешенным целый ряд вопросов, касающихся дозировок цитостатика, его влияния на здоровую сетчатку на ультраструктурном уровне, отдаленных осложнений.

Цель. Выявить и оценить ультраструктурные изменения сетчатки кролика при интравитреальном введении различных дозировок Мелфалана.

Материал и методы

Проведены клинические и электронно-микроскопические исследования 6 глаз 3 кроликов породы шиншилла одного возраста – 5-6 месяцев и веса – 2,5-3 кг, которые содержались в отдельных клетках и в стандартных условиях вивария. Выполнение исследований и выведение животных из эксперимента проводилось в соответствии с нормативами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для научных экспериментов или в других научных целях» (Страсбург, 1986), а также Законов

Украины № 1759–VI, № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Однократное интравитреальное (ИВ) введение мелфалана проведено кроликам в дозах 5, 10 и 20 мкг по 2 глаз в конкретной группе. ИВ инъекция проводилась по стандартной методике: инстиляция в конъюнктивальную полость анестетика, обработка операционного поля 0,5% спиртовым раствором хлоргексидина, установка блефаростата, маркировка места ИВ инъекции в 4 мм от лимба в верхне-внутреннем квадранте, прокол конъюнктивы и склеры глаза иглой 30G на инсулиновом шприце с медленным струйным введением в стекловидное тело приготовленного ex tempore раствора цитостатика Мелфалан (Алкеран) в объеме 0,1 мл, инстиляция раствора антибиотика.

Все животные после каждого введения получали местную дезинфицирующую и антибактериальную терапию. Осмотры осуществлялись на следующий день, на 3, 7 сутки и каждую следующую неделю после операции. Оценивалось общее состояние животных и состояние глазного яблока: воспалительная реакция переднего отдела глаза, прозрачность оптических сред, проводилась прямая офтальмоскопия сетчатки в условиях максимального мидриаза. Изучение ультраструктуры сетчатки выполнялось через 4 недели после введения цитостатика при выведении животных из опыта путем газовой эмболии.

Для электронно-микроскопического исследования фрагменты тканей заднего отдела глаза кролика фиксировались в 2,5% растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении pH - 7,4 с последующей дофиксацией 1% раствором осмиевой кислоты при том же pH буферного раствора. Затем образцы обезживались в спиртах восходящей крепости. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпон-аралдит. Затем ультратонкие срезы контрастировались по методике Reynoldes (1963) [4]. Материал изучался под электронным микроскопом ПЭМ-100-01.

Результаты и их обсуждение

При проведении ИВ инъекций мелфалана операционных осложнений во всех группах животных, независимо от дозы цитостатика, не наблюдалось. Общее состояние кроликов во всех группах при контрольных наблюдениях оставалось удовлетворительным, общетоксического действия мелфалана на животных не отмечено.

При осмотре глаз кроликов на следующий день после операции во всех случаях отмечалась локальная инъекция конъюнктивы в верхнем отделе в месте введения мелфалана, которая у всех животных значительно уменьшалась на 3 сутки и исчезала на 7 сутки после вмешательства. Во все сроки наблюдения передней отрезок глаза экспериментальных животных был в норме, глазные среды прозрачные, кровоизлияния, воспалительные реакции, инфекционные и другие осложнения не наблюдались.

Изменения на глазном дне кроликов и результаты ультраструктурного исследования варьировали в зависимости от дозы мелфалана. У кроликов, однократно получивших ИВ инъекцию 5 мкг мелфалана, очаговых изменений на глазном дне отмечено не было на протяжении всего периода наблюдения (4 недели). Спустя 4 недели на ультраструктурном уровне были выявлены изменения различной степени деструкции на отдельных участках слоя пигментного эпителия сетчатки (ПЭС). Под клетками ПЭС в слое наружных сегментов фоторецепторных клеток (НСФК), также отмечены элементы деструкции мембран дисков НСФК и отсоединения их от остатков клеток ПЭС (рис. 1). Встречались участки более сохранного состояния клеток ПЭС. Фоторецепторные клетки (ФК) в таких очагах сохраняли свою ультраструктуру (рис. 2). Ультраструктура элементов остальных отделов сетчатки находилась в пределах нормы.

Во 2 группе (10 мкг цитостатика однократно) офтальмоскопически отмечены изменения в виде единичных мелких участков малозаметной депигментации. В структуре сетчатки кролика чередовались участки более сохраненных структур, близких к нормальным, с участками поврежденных клеточных элементов вплоть до деструкции и распада. Клетки ПЭС содержали обильную цитоплазму, большое количество органелл, гидропические изменения цитоплазмы также были выражены. Наружные сегменты фоторецепторных клеток с деструкцией мембран дисков, отмечались явления отёка в области наружных сегментов и внутренних сегментов фоторецепторных клеток (рис. 3). Ядра фоторецепторной клетки (ФК) окружены гипертрофированными отростками мюллеровских

клеток (МЮК) (рис. 4). На некоторых участках цитоплазматические элементы МЮК были в состоянии распада. Часть ультраструктур фоторецепторного и внутренних слоёв сетчатки, практически, близки к нормальным. У внутренней пограничной мембраны мюллеровских клеток также гипертрофированы.

В 3 группе (20 мкг цитостатика однократно) изменения на глазном дне в виде перераспределения пигмента с появлением более светлых и больших зон депигментации отмечались уже через 1 неделю после введения с незначительным их нарастанием к концу 2-й недели. Во все сроки наблюдения как в группах с меньшей, так и с более высокой концентрацией введенного ИВ цитостатика, кровоизлияний в сетчатку и стекловидное тело, разрывов и отслоения сетчатки не наблюдалось. После однократного ИВ введения цитостатика в дозе 20 мг в структуре сетчатки часть её элементов была разрушена или отмечалась выраженная ее патология. В клетках ПЭС цитоплазма уплотнена, содержала обилие мелких митохондрий; апикальные структуры были преимущественно разрушены. Субэндотелиально определялись массы бесструктурного материала и клеточный детрит (рис. 5). Слои сетчатки были дезорганизованы. Практически фоторецепторные клетки и нейроны сетчатки утратили типичную ультраструктуру. По изменённой структуре определить их принадлежность не представляется возможным. Встречались участки, где элементы сетчатки менее повреждены. Выражена реакция МЮК в виде глиоза с распадом внутриклеточных структур или некрозом. В массе остатков клеточных элементов встречались макрофаги (рис. 6). Частичное сохранение структур ПЭС, а также участков более сохраненных

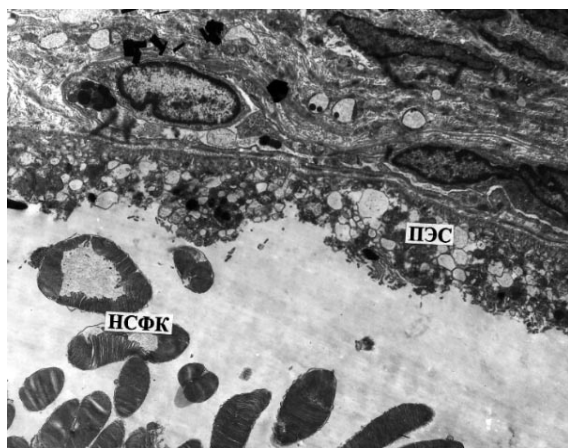


Рис. 1. Ультраструктура сетчатки кролика после однократного интравитреального введения 5 мкг мелфалана. Клетки пигментного эпителия сетчатки с разрушением центральной и апикальной областей. Отдельные фрагменты наружных сегментов фоторецепторных клеток с признаками патологии. Электронная микроскопия: X 3 000. Условные обозначения: ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, НСФК – наружные сегменты фоторецепторных клеток.

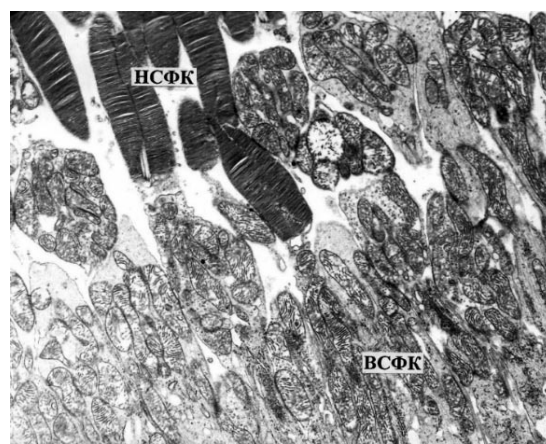


Рис. 2. Ультраструктура сетчатки кролика после однократного интравитреального введения 5 мкг мелфалана. Нормальная ультраструктура наружных и внутренних сегментов фоторецепторных клеток. Электронная микроскопия: X 4 000. Условные обозначения: НСФК – наружные сегменты фоторецепторных клеток, ВСФК – внутренние сегменты фоторецепторных клеток.

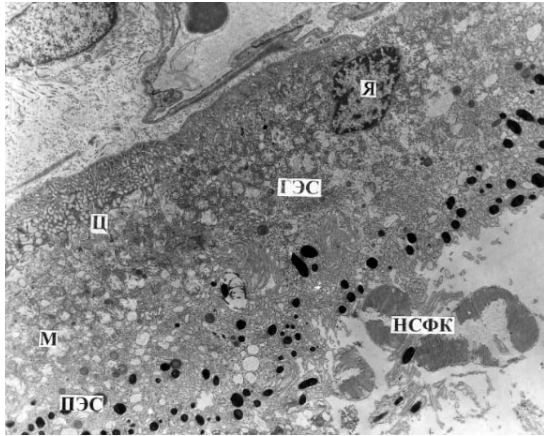


Рис. 3. Ультраструктура сетчатки кролика после однократного интравитреального введения 10 мкг мелфалана. Клетка пигментного эпителия с обильной цитоплазмой, большим количеством органелл и элементами гидропических изменений. Электронная микрофотография: X 3 000. Условные обозначения: ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, Ц – цитоплазма, Я – ядро, М – митохондрии, ГЭС – гладкая эндоплазматическая сеть, НСФК – наружные сегменты фоторецепторных клеток.

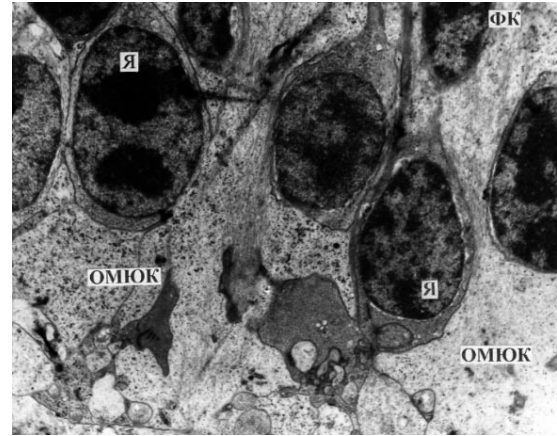


Рис. 4. Ультраструктура сетчатки кролика после однократного интравитреального введения 10 мкг мелфалана. Гипертрофированные отростки мюллеровских клеток, рассоединяющие ядра фоторецепторных клеток. Электронная микрофотография. X 4 000. Условные обозначения: ФК – фоторецепторная клетка, Я – ядро, ОМЮК – отростки мюллеровских клеток.

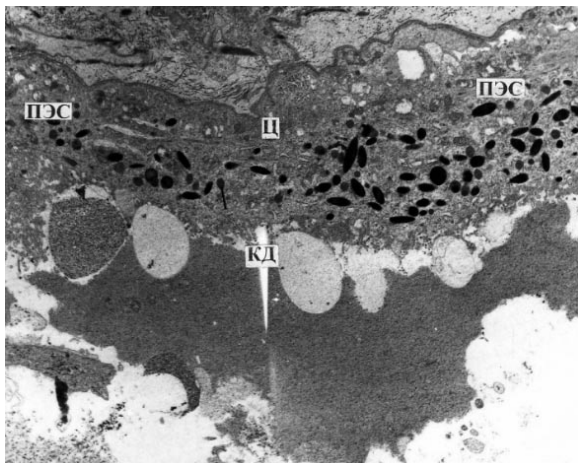


Рис. 5. Ультраструктура сетчатки кролика после однократного интравитреального введения 20 мкг мелфалана. Уплотнённая структура цитоплазмы клеток пигментного эпителия. Скопление клеточного детрита. Электронная микрофотография. X 3 000. Условные обозначения: ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, Ц – цитоплазма, КД – клеточный детрит.

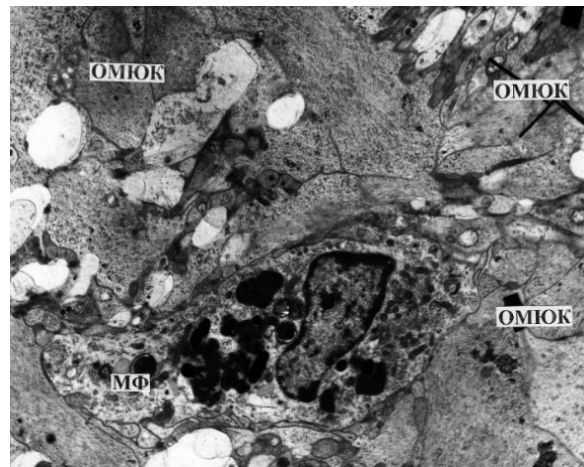


Рис. 6. Ультраструктура сетчатки кролика после однократного введения 20 мкг мелфалана. Макрофаги среди остатков элементов сетчатки. Электронная микрофотография. X 3 000. Условные обозначения: ОМЮК – отростки мюллеровских клеток, МФ – макрофаг.

клеток сетчатки в данном материале, возможно, связана с тем, что после ИВ инъекции прошло 4 недели, за которые часть ультраструктур могла восстановиться.

В литературе имеются немногочисленные сообщения о применении различных дозировок мелфалана у экспериментальных животных. Так, Ueda M. с соавт. (1995) исследовали эффект ИВ введения мелфалана на ЭРГ и ретинальные структуры кроликов с целью определения нетоксичной дозы для его клинического использования. ЭРГ и ретинальные структуры не ме-

нялись после инъекции 10 мкг мелфалана, умеренные изменения вызвала инъекция 20 мкг препарата и деградация отмечалась при введении 90 мкг. Инъекция 10 мкг мелфалана эквивалентна его концентрации 5,9 мкг/мл при гомогенном распространении в стекловидном теле кролика и соответствует 20-30 мкг в стекловидном теле человека в зависимости от размеров глаза. Поскольку колонии клеток РБ in vitro подвергались полной супрессии при концентрации мелфалана 4 мкг / мл, это дало им возможность сделать вывод о воз-

возможности использования ИВ инъекций мелфалана для лечения РБ в клинике [8].

Shimoda et al. (2008) изучали токсический эффект мелфалана на сетчатку кроликов при его ИВ перфузии во время витрэктомии в концентрации 5-, 10- и 20 мкг/мл. При концентрации 5 мкг/мл ЭРГ и гистологическая структура сетчатки через 28 дней после операции существенно не менялись. Показатели ЭРГ в группах с концентрацией 10 и 20 мкг/мл были значительно снижены практически в равной степени. Гистологические исследования показали некроз внутренних слоев и истончение внешнего ядерного слоя сетчатки в группе с концентрацией 10 мкг/мл, потерю внешнего ядерного и фоторецепторного слоя и некроз внутреннего ядерного слоя при 20 мкг/мл. Таким образом, было показано, что ИВ перфузия 5 мкг/мл мелфалана нетоксична для сетчатки и может применяться для лечения РБ с витреальными клонами. Однако по результатам этих исследований нельзя судить об общей дозе цитостатика вводимого в стекловидное тело, потому что неизвестно время его перфузии, в результате чего неизвестно какая дозировка является безопасной и не вызывает гистоморфологических изменений сетчатки кролика при одно- или многократном введении [8].

В последних экспериментальных исследованиях Shah et al. (2014) на модели РБ у лабораторных мышей применяли ИВ инъекции 1 мкг мелфалана и получили значительное снижение опухолевого роста, уменьшение васкуляризации опухоли и гипоксию в 85% случаев через 1 неделю после инъекции с сохранением эффекта через 3 недели в 83%. Мелфалан значительно снижал плотность новообразованных сосудов при отсутствии выраженного эффекта на общую васкуляризацию. Гипоксия временно уменьшалась в течение 1 недели после инъекции со снижением этого эффекта через 3 недели. Гистопатологически не было обнаружено токсического эффекта после ИВ инъекции мелфалана [7].

Cassoux et al. (2012) использовали субретинальные инъекции мелфалана в дозе 500 мкг/кг в эксперименте у мышей и получили полный регресс РБ в 2 из 6 животных через 15 дней после введения [1].

Однако по этим исследованиям невозможно судить об ультраструктурных изменениях сетчатки после однократного введения мелфалана.

Анализируя собственные исследования, можно отметить, что дозировка 5 мкг мелфалана однократно вызывала лишь незначительные очаговые изменения в клетках ПЭС и НСФК, что согласуется с данными Shimoda с соавт. [8], однократное введение 10 мкг, по нашим данным, уже приводило к изменениям деструктивного характера, более выраженным в клетках ПЭС, НС и ВСФК и МЮК сетчатки. Дозировка 20 мкг мелфалана при однократном введении вызывала более выраженные и грубые изменения вышеуказанных структур сетчатки приводя к ее глиозу и некрозу, что также обнаружили Shimoda с соавт. при перфузии рас-

творя мелфалана во время выполнения витрэктомии у кроликов в концентрации 10 и 20 мг/мл. Полученные результаты противоречат данным Ueda M. с соавт. [9] которые указывают на умеренные изменения в сетчатке кролика, вызванные инъекцией 20 мкг мелфалана.

Как показали наши исследования, степень клинических и ультраструктурных изменений сетчатки зависят от доз вводимого препарата. Минимальные изменения структур ПЭС и ФК имели место даже при введении самой малой дозировки – 5 мкг мелфалана. С повышением дозы введенного цитостатика увеличивается степень выраженности и глубина поражения всех слоев сетчатки. Обращает на себя внимание как клинически, так и ультраструктурно, выявленный очаговый характер изменений с чередованием зон повреждения различной степени выраженности.

Заключение

Интравитреальное однократное введение различных доз мелфалана не оказывало общего токсического воздействия на состояние экспериментальных животных, не вызывало изменений переднего отдела глаза и оптических сред. Основное токсическое влияние мелфалан оказывал на сетчатку. Клинические и ультраструктурные изменения сетчатки зависели от дозы препарата: при введении дозы 5 мкг изменения отсутствовали; минимальные изменения отмечены офтальмоскопически при введении 10 мкг в виде единичных мелких участков малозаметной депигментации, ультраструктурно – деструкция на отдельных участках слоя ПЭС, в слоях и мембранах дисков НСФК. При однократном введении 20 мкг цитостатика отмечены изменения сетчатки в виде участков перераспределения пигмента и депигментации, на ультраструктурном уровне – слои сетчатки были дезорганизованы с нарушением ультраструктуры ФК и нейронов сетчатки, глиоз МЮК с распадом внутриклеточных структур или некрозом.

Из полученных нами результатов можно сделать вывод об относительной безопасности дозы 5 мкг и минимальной токсичности дозы 10 мкг при однократном введении. Доза 20 мкг даже при однократном введении вызывала грубые изменения клеток сетчатки с развитием глиоза и некроза.

Литература

1. Cassoux N. Intraocular treatments of a new orthotopic primary human retinoblastoma xenograft / N. Cassoux, F. Assayag, O. Chouchane, Mlik et al. / ARVO Program. – 2012. – P. 6869/D1199
2. Edelhauser H.F. Ophthalmic Drug Delivery Systems for the Treatment of Retinal Diseases: Basic Research to Clinical Applications / H.F. Edelhauser, C. Rowe-Rendleman, M. Robinson et al // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2010. – V. 51(11). – P. 5403-5420.
3. Ericson L.A. Present therapeutic resources in retinoblastoma. / L.A. Ericson, B.H. Rosengren // Acta Ophthalmol. – 1961. – V. 39. – P. 569–576

4. **Inomata M.** Chemosensitivity profiles of primary and cultured retinoblastoma cells in a human tumor clonogenic assay. / M. Inomata, A. Kaneko // Jpn J Cancer Res. – 1987. – V. 78. – P. 858–868.
5. **Kaneko A.** Eye-Preservation Treatment of Retinoblastoma with Vitreous Seeding. / A. Kaneko, Suzuki S. // Japanese Journal of Clinical Oncology. – 2003. – V. 33. – P. 601–607
6. **Reynoldes E. S.** The use of lead citrate at high pH and electronopaque stain in electron microscopy // J. of Cell Biol. – 1963. – V. 17. P. 208–212.
7. **Shah N.** Intravitreal and Subconjunctival Melphalan for Retinoblastoma in Transgenic Mice / N. Shah, D. Pham, T. Murray et al // Journal of Ophthalmology. – 2014. – P. 1–9.
8. **Shimoda Y.** Effects of intraocular irrigation with melphalan on rabbit retinas during vitrectomy. / Y. Shimoda, R. Hamano, K. Ishihara et al // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 2008. – V. 246(4). – P. 501–508.
9. **Ueda M.** Study on conservative treatment of retinoblastoma - effect of intravitreal injection of melphalan on the rabbit retina. / M. Ueda, J. Tanabe, M. Inomata et al // Nihon Ganka Gakkai Zasshi. – 1995. – V. 99(11). – P. 1230–1235.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, которые могли бы повлиять на его мнение относительно предмета или материалов, описанных и обсуждаемых в данной рукописи..

Поступила 24.04.2020

Ультроструктурні зміни сітківки кролика при однократному інтравітреальному введенні різних доз мелфалану

Боброва Н. Ф., Сорочинська Т. А., Молчанюк Н. І., Братішко О. Ю.

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України; Одеса (Україна)

Актуальність. Інтравітреальна хіміотерапія (ІВХ) ретинобластоми (РБ) в даний час широко застосовується при органозбережному лікуванні ретинобластоми і є найбільш перспективним методом. Однак до теперішнього часу залишається невирішеним цілий ряд питань, що стосуються дозувань цитостатика, його впливу на здорову сітківку на ультроструктурному рівні, віддалених ускладнень.

Мета. Виявити та оцінити ультроструктурні зміни сітківки кролика при інтравітреальному (ІВ) введенні різних доз мелфалану.

Матеріал та методи. Проведено клінічні та електронно-мікроскопічні дослідження 6 очей 3 кроликів породи шиншила одного віку - 5-6 місяців і ваги - 2,5-3 кг. Виділено 3 групи очей в залежності від дози одноразово введеного препарату: 1 група - 5 мкг на одну ін'єкцію, 2 група - 10 мкг, 3 група - 20 мкг по 2 ока в конкретній групі. ІВ ін'єкція проводилася за стандартною методикою. У всіх групах енуклеція проведена через 4 тижні після ін'єкції. Забір матеріалу для гістопатологічного дослідження (електронної мікроскопії) після енуклеції проводився за розробленою методикою. Матеріал вивчався під електронним мікроскопом ПЕМ-100 - 01.

Результати. ІВ введення мелфалану не проявляло загального токсичного впливу на тварин. У всі терміни спостереження як в групах з меншою, так і з більшою високою концентрацією введеного ІВ цитостатика, крововиливів в сітківку і склоподібне тіло, розривів і

відшарування сітківки не спостерігалось. Післяопераційний період проходив без ускладнень.

В 1 групі очей, після одноразової ІВ ін'єкції 5 мкг мелфалану вогнищевих змін на очному дні не відзначалось протягом усього періоду спостереження (4 тижні). В інших групах були виявлені зміни на очному дні, від поодиноких дрібних ділянок малопомітної депігментації до змін у вигляді перерозподілу пігменту з появою більш світлих і великих зон депігментації з прогресуванням і збільшенням ділянок дегенерації сітківки.

Ультроструктурні зміни сітківки (електронна мікроскопія) відповідали з офтальмоскопічної картиною. Електронна мікроскопія виявила на сітківці очей кроликів деструктивні зміни в клітинах пігментного епітелію, фоторецепторах, мюллеровських клітинах. Мінімальні зміни структур ПЕС і ФК відзначалися при введенні мелфалану в дозуванні 5 мкг. Дози 10 і 20 мкг викликала грубі зміни клітин сітківки з явищами набряку і гіпертрофії, розвитком деструкції і розпаду, дезорганізацію шарів сітківки з втратою типової ультроструктури, гліоз і некроз при одноразовій ІВ ін'єкції.

Висновки. З отриманих нами результатів можна зробити висновок про відносну безпеку дози 5 мкг і мінімальної токсичності дози 10 мкг при одноразовому введенні. Доза 20 мкг навіть при одноразовому введенні викликала грубі зміни клітин сітківки з розвитком гліозу і некрозу.

Ключові слова: інтравітреальна хіміотерапія, мелфалан, електронна мікроскопія, сітківка, експеримент