Експериментальні дослідження

Вплив інтравітреальних ін'єкцій різних доз топотекану на ультраструктуру сітківки кроликів

Надія Боброва, д-р мед. наук, професор; **Наталія Молчанюк,** канд. біол. наук;
Тетяна Сорочинська, канд. мед. наук; **Аліна Ткаченко,** лікар, **Єлизавета Варшанідзе,** лікар

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

Effect of various single doses of intravitreal topotecan on the ultrastructure of the rabbit retina

Nadiia Bobrova, Nataliia Molchaniuk, Tetyana Sorochynska, Alina Tkachenko, Yelyzaveta Varshanidze

SI "The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Odesa (Ukraine)

Резюме

Мета. *Вивчити ультраструктурні зміни сітківки кроликів після інтравітреального введення топотекану в різних дозах.*

Матеріал та методи. *Дослідження проведено на 12 кроликах породи шиншила. Десяти тваринам виконували одноразову інтравітреальну ін'єкцію 0,1 мл топотекану в дозах 20, 30, 40, 50 або 60 мкг (5 підгруп по 4 ока). Контрольній групі (2 тварини, 4 ока) вводили 0,1 мл фізіологічного розчину. Контрольні огляди тварин після ін'єкції проводилися наступного дня, через 1, 2, 3, 4 тижні після ін'єкції з оцінкою загального стану та стану очей: під щілинною лампою та офтальмоскопічно. Через місяць після ін'єкції в умовах загальної анестезії проводилась енуклеація обох очей кроликів з наступним виведенням з експерименту шляхом повітряної емболії, після чого було проведене електронно-мікроскопічне дослідження хоріоретинального комплексу. Оцінка ультраструктурних змін хоріоретинального комплексу мала якісний описовий характер.*

Результати. *Загальний стан тварин та стан переднього відділу ока залишалися без змін у всіх групах. Офтальмоскопічно після введення 20–40 мкг топотекану патологічних змін не виявлено, після доз 50 і 60 мкг через 1 тиждень відзначалося незначне побліднiння сітківки без подальшого прогресування. Ультраструктурний аналіз показав дозозалежний характер змін. При введенні 20–30 мкг спостерігалися мінімальні оборотні гідропічні зміни клітин пігментного епітелію та внутрішніх шарів сітківки зі збереженням її архітектоніки. Дози 40–50 мкг супроводжувалися більш вираженою гідропічною дистрофією структур хоріоретинального комплексу. При введенні 60 мкг виявлено початкові альтераційні зміни окремих органел нервових клітин.*

Висновки. *Інтравітреальне введення топотекану в дозах 20–30 мкг (еквівалент 40–60 мкг для людини) викликає лише мінімальні оборотні ультраструктурні зміни сітківки. Дози 40–50 мкг (еквівалент 80–100 мкг у людини) забезпечують оптимальне співвідношення потенційної ефективності та токсичності. Доза 60 мкг (еквівалент 120 мкг у людини) супроводжується початковими альтераційними змінами хоріоретинального комплексу. Отримані результати підтверджують нижчу токсичність топотекану порівняно з мелфаланом і можуть бути використані для обґрунтування вибору безпечних*

DOI: https://doi.org/10.31288/Ukr.j.ophthalmol.202654653

UDC: 617.735-091.8:615.277.3:616-076.4:636.92

Corresponding author: Ye.V. Varshanidze, SI "The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", 49/51 Frantsuzskii Bulvar, Odesa 65061, Ukraine. E-mail: lizavarshanidze672002@gmail.com

Received 2026-08-06

Accepted 2026-10-04

Cite this article as: Bobrova NF, Sorochynska TA, Molachaniuk NI, Tkachenko AV, Varshanidze YeV. Effect of various single doses of intravitreal topotecan on the ultrastructure of the rabbit retina. Ukr. j. ophthalmol. 2026;5:46-53

This is an open access article under the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license

© The Authors, 2026

доз інтравітреальної хіміотерапії ретинобластоми.

Ключові слова: *інтравітреальна хіміотерапія, топотекан, ультраструктура сітківки, кролики, експеримент, ретинобластома.*

Abstract

Purpose. *To assess ultrastructural changes in the rabbit retina after various single doses of intravitreal topotecan.*

Material and Methods. *Eyes of 12 Chinchilla rabbits were divided into an experimental group (20 eyes) and a control group (4 eyes). The former group was divided into five subgroups of four eyes each to receive an intravitreal injection (IVI) of 0.1 ml topotecan at a dose of 20, 30, 40, 50 or 60 μg. The control group was given an IVI of 0.1 ml saline. Animals were followed up the next day after injection and at weeks 1, 2, 3 and 4 to evaluate their general status and examine their eyes by slit lamp microscopy and direct ophthalmoscopy. At one month after injection, both eyes were enucleated and rabbits were euthanized by air embolism. Thereafter, chorioretinal complex samples were examined by electron microscopy. The evaluation of ultrastructural changes in the chorioretinal complex was qualitative and descriptive in nature.*

Results. *The rabbits' general well being and general condition of the anterior segment of the eye were unaffected in all groups. Ophthalmoscopically, no pathological changes were observed after 20- to 40-μg injection. However, one week after 50- to 60-μg injection, there was evidence of mild retinal whitening which did not increase in severity at subsequent follow-up evaluations. Ultrastructural changes were dose dependent. After 20 to 30-μg injection, we observed mild reversible hydropic changes in retinal pigment epithelial cells and inner retinal layers, but the retina retained its layered structure. A 40 to 50-μg injection was followed by more apparent hydropic dystrophy of chorioretinal complex structures. After 60-μg injection, we observed initial alterations in individual neural organelles.*

Conclusion. *20-30-μg intravitreal topotecan injection caused only mild reversible changes in retinal ultrastructure. A dose of 40 to 50 μg (equivalent to 80 to 100 μg in the human eye) may be considered a dosage that achieves an optimal efficacy/toxicity balance. A dose of 60 μg (equivalent to 120 μg in the human eye) caused initial alterations in the chorioretinal complex. Our findings (1) confirm that topotecan has a lower toxicity than melphalan and (2) may be used to justify the selection of a safe dose for intravitreal chemotherapy for retinoblastoma.*

Keywords: *intravitreal chemotherapy, topotecan, retinal ultrastructure, rabbits, experiment, retinoblastoma*

Вступ

На сучасному етапі основним методом лікування ретинобластоми, навіть в далекозайдених випадках, є органозберігаюча терапія, яка базується на локальній та системній хіміотерапії [1-4]. Висока ефективність при мінімальному токсичному впливі – це вимоги, що визначають вибір цитостатика для інтравітреальної хіміотерапії (ІВХ). До недавнього часу стандартним препаратом для ІВХ ретинобластоми був мелфалан. Він відрізняється високою протипухлинною активністю, проте його використання асоційоване з ризиком токсичної ретинопатії, васкулопатії та незворотного зниження зорових функцій [5-8]. Тому пошук нових ефективних препаратів продовжується, в зв'язку з чим офтальмологи звернули увагу на цитостатик топотекан в якості альтернативи мелфалану при лікуванні ретинобластоми. Топотекан – напівсинтетичний похідний камптотецину та інгібітор топоізомерази І. Стабілізуючи комплекс ДНК-топоізомераза І, препарат перешкоджає репарації одноланцюгових розривів ДНК і під час реплікації спричиняє цитотоксичне ушкодження пухлинних клітин. Топотекан є протипухлинним препаратом, що застосовується в офтальмоонкології для лікування рефрактерних або рецидивних вітреальних клонів ретинобластоми. Перевагами його є висока локальна концентрація у скловидному тілі, майже повна відсутність системного впливу, а також потенційно нижча токсичність [9-14]. Були проведені експериментальні дослідження зміни ЕРГ та гістопатології сітківки кролів у відповідь на інтравітреальне введення (ІВВ) топотекану [15-16]. Однак експериментальних досліджень ультраструктури здорової сітківки після ІВВ різних доз топотекану в доступній нам літературі ми не зустріли.

Мета. Вивчити ультраструктурні зміни сітківки кроликів під впливом інтравітреальних ін'єкцій різних доз топотекану.

Матеріал і методи

Дослідження виконані на очах 12 кроликів породи шиншила масою 2,5–3,0 кг, які були розподілені на дві групи – піддослідна та контрольна. В першій піддослідній групі (10 кроликів) тваринам виконували однократну інтравітреальну ін'єкцію (ІВІ) 0,1 мл топотекану в обидва ока в різних дозах, в залежності від яких вони були розділені на п'ять підгруп по 2 кролика (4 ока) (табл. 1). Тваринам контрольної групи в обидва ока інтравітреально вводили фізіологічний розчин в тому ж об'ємі, що і цитостатик (0,1 мл).

Тварини перебували в умовах 12-годинного циклу світло/темрява та мали вільний доступ до їжі та води. Робота виконана з дотриманням принципів відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей (Страсбург, 1986). Проведення експериментального дослідження дозволене Комітетом по біоетиці ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України», протокол № 2 від 17.04.2025 р.

ІВІ проводилася в стерильних умовах під загальною анестезією. Контрольні огляди тварин після

Таблиця 1. Розподіл очей кроликів в залежності від інтравітреальної дози топотекану

Підгрупи	I	II	III	IV	V
Доза топотекану (мкг)	20	30	40	50	60
Кількість очей кроликів	4	4	4	4	4

ін'єкції здійснювалися наступного дня, через 1, 2, 3, 4 тижні з оцінкою загального стану та стану очей: під щілинною лампою та за допомогою прямої офтальмоскопії. Через місяць після ін'єкції в умовах загальної анестезії проводилась енуклеація обох очей кроликів з наступним виведенням з експерименту шляхом повітряної емболії. Видалялися зразки тканин заднього відділу ока кроликів та оброблялися згідно з загальноприйнятою в електронній мікроскопії методикою, яка полягає в фіксації в 2,5% розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при значенні pH-7,4 з додатковою дофіксацією 1% розчином осмієвої кислоти при тому ж pH буферного розчину. Потім зразки зневоднювалися в спиртах висхідної концентрації. Просочення тканин та їх полімеризація проводилися в суміші епоксидних смол епон-аралдит. Вивчали ультраструктуру хоріокапілярів (ХК) та сітківки кроликів за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 (Україна). Аналіз проводили за наявністю, характером та вираженістю морфологічних змін клітинних і міжклітинних структур сітківки та хоріокапілярів. Кількісна оцінка не проводилася, у зв'язку з чим статистичний аналіз ультраструктурних показників не застосовували. З урахуванням різниці в об'ємі склоподібного тіла кролика та людини (приблизно 1,7–2,0 мл та 3,4–4,0 мл відповідно), для орієнтовного зіставлення інтравітреальних доз використовували коефіцієнт 2:1. Таким чином, дози топотекану 20, 30, 40, 50 та 60 мкг у кроликів відповідали приблизно 40, 60, 80, 100 та 120 мкг для людини відповідно [9].

Результати

У всі строки спостереження зміни поведінки, зменшення маси тіла, випадіння шерсті як в контрольній, так і в піддослідній групах не спостерігалося. При обстеженні на щілинній лампі в обох групах у всіх кроликів передній відділ був незміненим, оптичні середовища прозорі. Офтальмоскопічно в контрольній групі та в I, II та III підгрупах після введення топотекану в дозах 20, 30 та 40 мкг у всі строки спостереження сітківка залишалася без змін. В очах кроликів IV та V підгруп після введення топотекану в дозах 50 та 60 мкг через тиждень спостерігалося незначне побліднінння сітківки з легким перерозподілом пігменту, яке не збільшувалося протягом подальшого спостереження.

Ультраструктурні дослідження хоріоретинального комплексу кроликів контрольної групи показали, що через місяць після ІВІ фізіологічного розчину ультраструктура хоріокапілярів (ХК) та сітківки не відрізнялася від нормальної (рис. 1).

В I підгрупі через місяць після ІВІ топотекану в дозі 20 мкг в клітинах пігментного епітелію сітківки (ПЕС) та екстраклітинно виявлений незначний набряк, який розповсюджується до зовнішньої межової мембрани. У клітинах ПЕС на дію топотекану відреагувала гладка ендоплазматична сітка (ГлЕС), пухирці якої дещо розширені, що, можливо, пов'язано з проявами її детоксикаційної функції. Цитоплазма деяких клітин ПЕС та клітин інших шарів сітківки підвищеної електронної щільності, зокрема мюллерівських клітин (МЮК) і особливо їх відростків біля внутрішньої межової мембрани (ВММ), де також виявлені незначні ділянки з розширеними міжклітинними щілинами між даними відростками. У відростках нервових клітин внутрішнього сітчастого шару також відмічаються ознаки незначного набряку. В той же час гангліозні клітини (ГК) залишаються нормальними. В шарі ХК та в мембрані Бруха осередково виявлена дещо просвітлена основна речовина сполучної тканини, тобто спостерігається її набряк, структура ендотеліальних клітин (ЕК) ХК не змінена.

В II підгрупі після ІВІ топотекану в дозі 30 мкг всі шари сітківки збережені, визначається лише розріджене розташування пухирців ГлЕС з ділянками їх деструкції в клітинах ПЕС, осередкова дезорганізація зовнішніх сегментів фоторецепторних клітин (ФК) та незначні гідропічні зміни в структурах інших її шарів, осередки з розширеними міжклітинними контактами між відростками МЮК біля ВММ. В шарі ХК виявляється набряк не тільки в проміжній тканині, як в 1-й групі, а і в їх ЕК (рис. 2).

В III підгрупі після ІВІ топотекану в дозі 40 мкг архітектоніка сітківки збережена. Осередково в клітинах

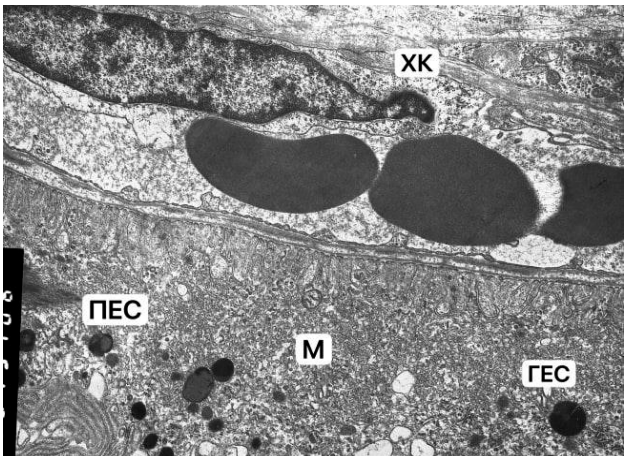

Рис. 1. Ультраструктура хоріоретинального комплексу кроля через 1 місяць після ІВІ 0,1 мл фізіологічного розчину. Структури хоріокапілярів (ХК), пухирці гладкої ендоплазматичної сітки (ГлЕС) та мітохондрії (М) клітини пігментного епітелію сітківки (ПЕС) в нормальному стані. х8 000.

ПЕС відсутні апікальні мікроворсинки та спостерігається набряк в інтеррецепторному матриксі та в області ФК і більш значні гідропічні зміни в нервових клітинах та їх відростках внутрішніх шарів в порівнянні із сітківкою після введення менших доз топотекану. Слід зазначити, що відростки МЮК біля ВММ осередково характеризуються підвищеною осміофільністю цитоплазми, розширенням пухирців ГлЕС та розширенням міжклітинних контактів. ХК реагують гідропічною дистрофією ЕК, набряком основної речовини з розрідженим розташуванням колагенових фібрил та ділянками їх деструкції (рис. 3).

В IV та V підгрупах після застосування топотекану в дозах 50 та 60 мкг в шарах сітківки та ХК визначалися зміни практично аналогічні, як і після ін'єкції топотекану в дозі 40 мкг, але з ділянками дещо з більшими проявами гідропічних змін в структурах шарів сітківки, включаючи гангліозний. Ділянками біля ВММ визначається екстраклітинний набряк і більш розширені міжклітинні щілини, ніж після ІВІ в дозі 40 мкг, а також має місце пошкодження окремих аксонів нервових клітин (рис. 4–6).

Таким чином, після ІВІ топотекану в дозі 20 та 30 мкг архітектоніка шарів сітківки не змінена, лише наявний незначний екстраклітинний набряк у зовнішніх її шарах та легкі гідропічні внутрішньоклітинні зміни. При цьому структури інших шарів сітківки залишаються практично незміненими. На введення топотекану також реагують структури хоріокапілярного шару,

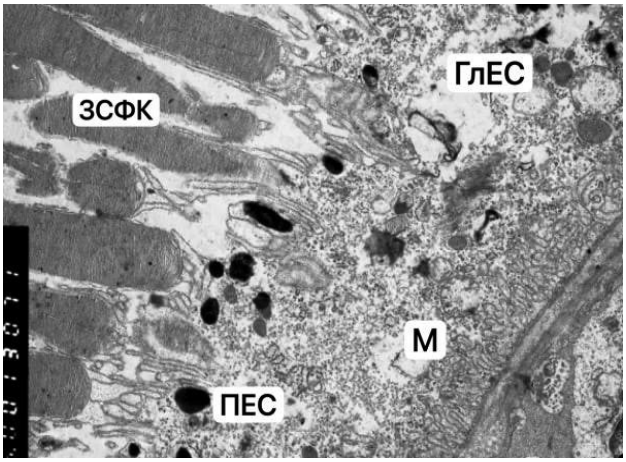

Рис. 2. Ультраструктура хоріоретинального комплексу кроля через 1 місяць після ІВІ 0,1 мл топотекана в дозі 30 мкг. Осередкова деструкція пухирців гладкої ендоплазматичної сітки (ГлЕС) та патологія мітохондрій (М) клітин пігментного епітелію сітківки (ПЕС). Фагоцитоз зовнішніх сегментів фоторецепторних клітин (ЗСФК). х6 000.

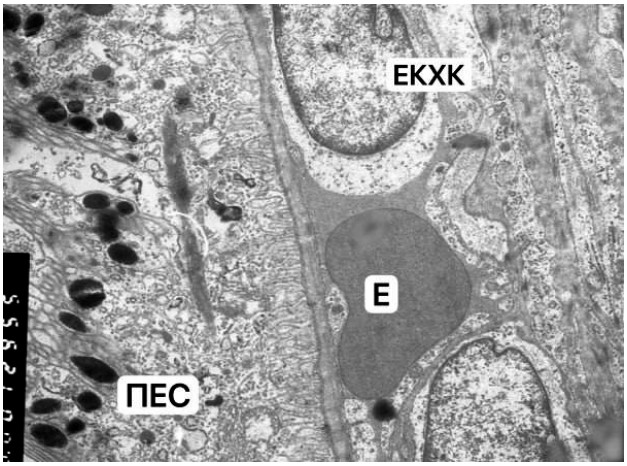

Рис. 3. Ультраструктура хоріоретинального комплексу кроля через 1 місяць після ІВІ 0,1 мл топотекану в дозі 40 мкг. Гідропічна дистрофія ендотеліальних клітин хоріокапілярів (ЕК), еритроцит в його просвіті, альтеративні зміни мембранних органел клітини пігментного епітелію сітківки (ПЕС). х5 000.

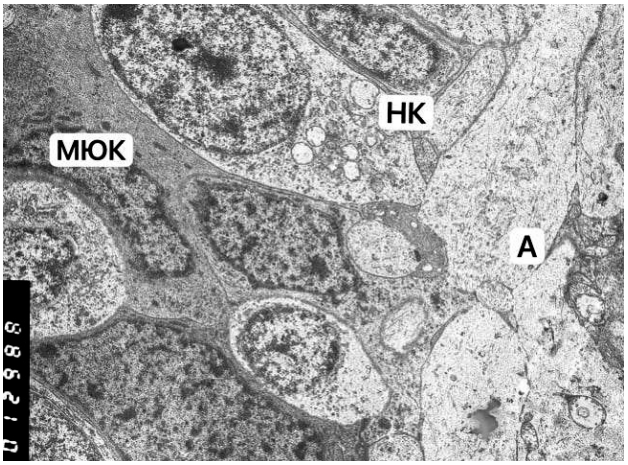

Рис. 4. Ультраструктура хоріоретинального комплексу кроля через 1 місяць після ІВІ 0,1 мл топотекану в дозі 50 мкг. Вакуолізація мітохондрій нервової клітини (НК) і електронно-прозора аксоплазма аксонів (А) нервових клітин. х5 000.

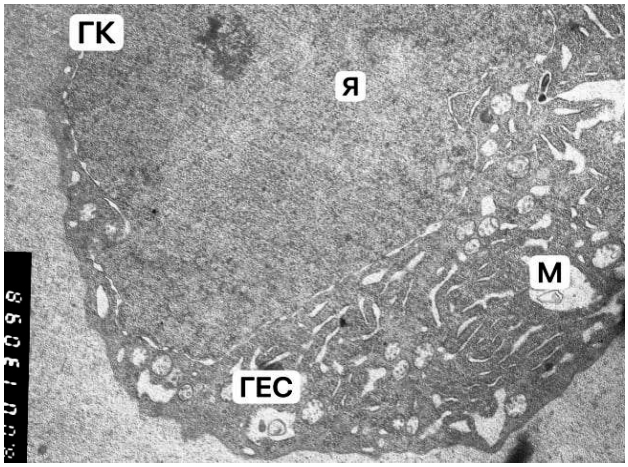

Рис. 5. Ультраструктура сітківки кроля через 1 місяць після ІВІ 0,1 мл топотекану в дозі 60 мкг. Розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) та вакуолізація мітохондрій (М) в цитоплазмі та каріоплазмі (Я) гангліозної клітини (ГК) з дещо підвищеною електронною щільністю. х8 000.

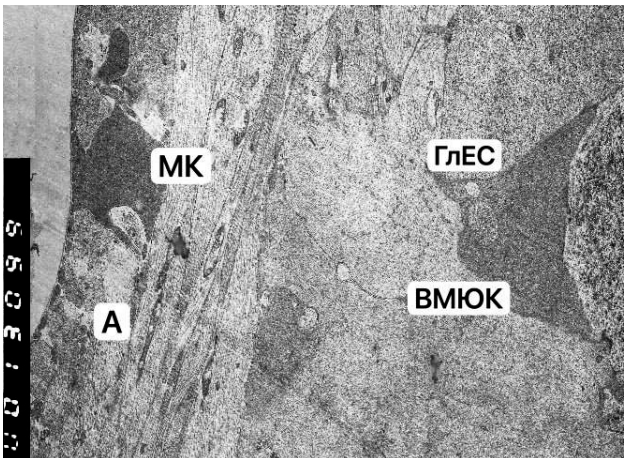

Рис. 6. Ультраструктура сітківки кроля через 1 місяць після ІВІ 0,1 мл топотекану в дозі 60 мкг. Розширення міжклітинних контактів (МК), цитоплазма з підвищеною електронною щільністю та розширені цистерни гладкої ендоплазматичної сітки (ГлЕС) відростків мюллерівських клітин (ВМЮК), деструкція органел окремих аксонів (А) нервових клітин. х4 000.

що, на нашу думку, пов'язано з проникненням цитостатика з скловидного тіла до циліохоріоїдального кола кровообігу. Із підвищенням дози топотекану (від 40 мкг до 60 мкг) зміни гідропічного характеру в структурах сітківки поступово наростають і визначаються також в гангліозних клітинах при застосуванні найвищої (60 мкг) дози цитостатику.

В той же час із зростанням дози цитостатику (від 40 мкг до 60 мкг) в сітківці, біля внутрішньої межової мембрани, в місці введення топотекану у всі строки дослідження визначаються реактивні зміни ГлЕС та більш електронно-щільними стають відростки МЮК, що, вочевидь, також зв'язано із проникненням препарату в їх цитоплазму. Крім того, між даними відростками розширені міжклітинні контакти, тобто наявний міжклітинний набряк, а після застосування дози 60 мкг, попри вищевказані зміни, спостерігається деструкція органел окремих аксонів нервових клітин.

Використані нами в експерименті дози топотекану від 20 до 60 мкг, що еквівалентно дозам в скловидному тілі людини 40–120 мкг, викликають гідропічні зміни, які із підвищенням дози препарату прогресують з проявами початкової альтерації органел у структурах хоріоретинального комплексу, однак такого роду зміни носять зворотний характер і з часом, при відсутності пошкоджувального фактору, їх структура може повернутися до нормальної.

Обговорення

Органозберігаюче хіміотерапевтичне лікування РБ в останні часи поширюється за рахунок нових методів адресної доставки та зміни цитостатиків. Все більше з'являється публікацій щодо ефективного застосування ІВІ топотекану для лікування цієї патології [10-14]. ІВІ топотекану розглядається як перспективна альтернатива мелфалану для лікування вітреальних клонів РБ завдяки здатності препарату створювати високі локальні концентрації у склоподібному тілі при мінімальній системній експозиції та потенційно нижчій токсичності для сітківки. Однак вплив топотекану при ІВІ на тканини ока, а більш за все на клітини нормальної сітківки ще недостатньо вивчений. Основою впровадження використання топотекану в практиці стали експериментальні доклінічні дослідження, що проводилися на кроликах. Проведені експериментальні дослідження починалися з занадто малих доз препарату – Buitrago та співавт. [15] вивчали фармакокінетику після одноразового інтравітреального введення 0,5 мкг топотекану та оцінювали токсичність після чотирьох щотижневих ін'єкцій у дозах 0,5 і 5 мкг. У процесі дослідження оцінювали клінічний стан тварин, офтальмоскопічну картину, електроретинографію (ERG), гематологічні показники, концентрацію топотекану у плазмі та склоподібному тілі, а також гістологічну будову сітківки. Було встановлено, що після введення 5 мкг топотекану концентрації у склоподібному тілі досягалися близькі до терапевтично ефективних, тоді як доза 0,5 мкг забезпечувала потенційно активний рівень лише протягом приблизно п'яти годин. Жодна зі схем введення не спричинила достовірних змін амплітуди або латентності хвиль ERG ($p>0,05$), гістологічних ушкоджень сітківки, втрати маси тіла, алопеції чи змін гематологічних показників. Топотекан також не визначався у плазмі крові, що свідчило про практично повну відсутність системної експозиції. Автори дійшли висновку, що чотири щотижневі інтравітреальні ін'єкції топотекану в дозі 5 мкг є безпечними для ока кролика та можуть бути використані як підґрунтя для подальших клінічних досліджень при РБ [15].

В подальшому дослідженні Bogan зі співавт. [9] оцінювали ефективність топотекану в дозах 15 і 30 мкг на кролячій моделі ксенотрансплантатів клітин WERI-Rb1 (лінія клітин ретинобластоми людини, що імплантується in vivo в око кролика для досягнення максимального наближення до клінічної картини в людей) у склоподібному тілі та їх токсичність. Ними було показано, що ІВВ топотекану в дозі 30 мкг створює концентрацію, яка перевищувала IC90 (90% інгібуюча концентрація) по всьому об'єму склоподібного тіла. Три щотижневі ін'єкції топотекану у дозах 15 та 30 мкг не викликали ознак ретинальної токсичності, тоді як мелфалан спричиняв зниження амплітуди ERG на 42–79%. Водночас протипухлинна ефективність топотекану була співставною з мелфаланом: кількість пухлинних клітин зменшувалася на 96% порівняно з фізіологічним розчином ($p=0,004$), тоді як для мелфалану цей показник становив 88% ($p=0,004$), без статистично значущої різниці між препаратами ($p=0,15$).

Del Sole зі співавт. [16] порівнювали дію топотекану в дозах 10, 25 та 50 мкг на стан очей здорових кролів після чотирьох щотижневих ІВІ, базуючись на

даних офтальмоскопії, ERG, гістологічних досліджень сітківки, визначення концентрації препарату у плазмі крові та склоподібному тілі, а також моніторингу загального клінічного стану тварин. Жодна з досліджуваних доз не призводила до розвитку запальної реакції, структурних ушкоджень сітківки або змін електрофізіологічних показників. Не спостерігалося також системної токсичності, змін маси тіла, випадіння шерсті чи гематологічних порушень. Автори зробили висновок, що навіть чотири щотижневі інтравітреальні ін'єкції 50 мкг топотекану (еквівалент приблизно 100 мкг для людини) не чинять токсичного впливу на око кролика та можуть бути перспективними для лікування рефрактерних випадків ретинобластоми з вираженим ураженням склоподібного тіла.

Результати наших досліджень тих самих доз топотекану при ІВІ, що й у попередніх дослідників [9, 16], також показали відсутність їх впливу на загальний стан кроликів та структури ока, однак більш глибокий аналіз, оснований на результатах електронної мікроскопії, яку не застосовували вищеназвані автори, виявив різницю у мікроструктурних змінах хоріоретинального комплексу в залежності від дози препарату навіть при однократному введенні. Так, за нашими даними, дози 20 та 30 мкг, що еквівалентно 40 та 60 мкг у скловидному тілі людини, викликали функціональні зміни в сітківці, але вже дози 40 мкг та більше приводили до розвитку гідропічної її дистрофії.

У більш пізньому дослідженні Del Sole зі співавт. [17] інтравітреальна доза топотекану, яку вводили двадцяти чотирьом новозеландським кроликам три рази на місяць, була підвищена до 50, 100 або 200 мкг із різними об'ємами розчинника (50 або 100 мкл). Оцінка безпеки включала клінічне спостереження за тваринами, гематологічні показники, офтальмоскопію, фотографування очного дна, електроретинографію та гістологічне дослідження сітківки. Було встановлено, що дози 50 і 100 мкг не викликали морфологічних, функціональних або гістологічних змін сітківки, незалежно від об'єму введення. Лише при застосуванні 200 мкг спостерігалися локальні зміни сітківки поблизу місця ін'єкції та статистично значуще зниження амплітуди а- та b-хвиль ERG ($P<0,05$). Таким чином, автори визначили межу безпечності інтравітреального топотекану та зробили висновок, що повторне введення 50–100 мкг є безпечним, тоді як надвисокі дози можуть супроводжуватися локальною ретинальною токсичністю.

Найбільша інтравітреальна доза топотекану, яку ми оцінювали в експерименті, була 60 мкг (еквівалентно 120 мкг у людини). При цьому виникав набряк цитоплазми з альтерацією органел нервових клітин, чого не спостерігалося при дозі 50 мкг. Ця доза еквівалентна 100 мкг для людини, тому, на нашу думку, може бути оптимальною для лікування ретинобластоми, як та, в якій досягнутий баланс між ефективністю та токсичністю препарату.

Порівняння експериментальних досліджень після ІВІ однакових доз мелфалану та топотекану показало значно меншу токсичність останнього для сітківки експериментальних кроликів. Проведені нами раніше за такою самою схемою, як в цьому дослідженні, ультраструктурні дослідження сітківки кроликів після ІВІ різних доз мелфалану (5, 10, 20, 30 та 40 мкг) [18] показали пряму залежність клінічних та ультраструктурних змін сітківки від дози препарату: доза 5 мкг не викликала будь-яких змін, але вже навіть при одноразовому введенні 10 мкг були виявлені мінімальні офтальмоскопічні зміни у вигляді поодиноких дрібних осередків малопомітної депігментації, в той час як ультраструктурно в сітківці – деструкція на окремих ділянках шару ПЕС, у шарах та мембранах дисків зовнішніх сегментів ФК та МЮК. Дозування 20 мкг мелфалану при одноразовому введенні проявлялося змінами сітківки у вигляді ділянок перерозподілу пігменту та депігментації, а на ультраструктурному рівні шари сітківки були дезорганізовані з порушенням ультраструктури ФК та нейронів сітківки, гліозом МЮК із розпадом внутрішньоклітинних структур, а у групі, де вводили 30 і 40 мкг, виявлено ушкодження як всіх шарів сітківки, так і ХК шару з їх заміщенням гліозною тканиною. Це значно різниться з результатами дослідження топотекану, який показав значно вищий профіль безпеки. Bar-Sela et al [19] при клінічному та гістологічному (світлова мікроскопія) дослідженні змін сітківки кроликів після одноразової ІВІ мелфалану в різних дозуваннях (5, 15, 30 та 60 мкг) отримали наступні результати: вже починаючи з дози 15 мкг та вище офтальмоскопічно виявлені ознаки склеротичних судин сітківки та її побіління, найбільш помітні поблизу місця введення мелфалану та біля диска зорового нерва. При цьому гістологічно в дозах 15 мкг та 30 мкг виявлене дозозалежне збільшення стоншення внутрішніх та зовнішніх шарів сітківки, а сітківки після введення 60 мкг мелфалану були повністю дезорганізовані.

Таким чином, експериментальні дослідження ультраструктури сітківки кроликів після однократного введення різних доз топотекану (20, 30, 40, 50 та 60 мкг) показали:

1. Відсутність токсичного впливу всіх доз топотекану на загальний стан та клінічний стан ока кроликів, крім мінімальних офтальмоскопічних проявів після введення великих доз (50 та 60 мкг) препарату без їх прогресування протягом періоду спостереження.

2. Дози 20 та 30 мкг, що еквівалентно 40 та 60 мкг у скловидному тілі людини, викликали незначні гідропічні зміни в сітківці, але вже дози 40–50 мкг приводили до розвитку гідропічної її дистрофії, а 60 мкг – до проявів початкової альтерації органел в структурах хоріоретинального комплексу, однак такого роду зміни носять потенційно зворотний характер і з часом, при відсутності пошкоджувального фактору, їх структура може повернутися до нормальної.

3. Аналогічні дистрофічні зміни сітківки викликають більші інтравітреальні дози топотекану, порівняно з мелфаланом, згідно з літературними даними та нашими попередніми дослідженнями [9].

4. Дози 40–60 мкг топотекану (20–30 мкг в експерименті) можуть вважатися умовно безпечними для ока людини, 80–100мкг (40–50 мкг в експерименті) оптимальні з точки зору співвідношення ефективність – токсичність, а доза 120мкг (60 мкг в експерименті) може викликати альтераційні зміни в хоріокапілярному комплексі, тому застосування такого дозування для людини є небезпечним навіть експериментально.

Авторський внесок

Автори Н. Ф. Боброва, Н. І. Молчанюк, Т. А. Сорочинська, А. В. Ткаченко та Є. В. Варшанідзе підтверджують повну відповідальність за наступне: концепцію та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретацію результатів, а також підготовку рукопису. Всі автори прочитали і схвалили остаточну версію рукопису.

Фінансування

Робота виконана в рамках науково-дослідницької роботи «Дослідити частоту та характер рецидивів та віддалених ускладнень після органозберігаючого лікування ретинобластоми, хірургії вроджених катаракт з імплантацією ІОЛ у дітей та розробити засоби їх усунення» (державна реєстрація № 0126U001870).

Відмова від відповідальності

Висловлені в представленій статті думки є власними, а неофіційними позиціями установи.

Конфлікти інтересів

Автори не мають жодного дійсного чи потенційного конфлікту інтересів (фінансові, персональні, професійні та інші інтереси), які могли б вплинути на думку щодо предмета чи матеріалів, викладених та обговорених у цьому рукописі.

Заява про дотримання етичних норм

Дослідження проводили на тваринах. Експеримент проводився відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Проведення експериментального дослідження дозволене Комітетом по біоетиці ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України», протокол № 2 від 17.04.2025 р.

Заява про доступність даних

Усі дані, що стосуються дослідження, включені до статті або їх можна отримати у автора Єлізавети Варшанідзе за обґрунтованим запитом.

Список скорочень

ІВХ – інтравітреальна хіміотерапія; ІВВ – інтравітреальне введення; ІВІ – інтравітреальна ін'єкція; ХК – хоріокапіляри; ПЕС – пігментний епітелій сітківки; ГлЕС – гладка ендоплазматична сітка; МЮК – мюллерівські клітини; ВММ – внутрішня межова мембрана; ГК – гангліозні клітини; ЕК – ендотеліальні клітини; ERG – електроретинографія; ФК – фоторецепторні клітини; РБ – ретинобластома.

Література

1. Bobrova NF, Sorochynska TA. [Intravitreal chemotherapy for retinoblastoma: five-year experience]. Oftalmol Zh. 2015;(3):59-68. Ukrainian.
2. Bobrova NF, editor. [Retinoblastoma]. Odesa: Vydavnychyi tsentr; 2020. 324 p. Russian.
3. Shields CL, Manjandavida FP, Lally SE, et al. Intra-arterial chemotherapy for retinoblastoma in 70 eyes: outcomes based on the international classification of retinoblastoma. Ophthalmology. 2014;121(7):1453-60. doi:10.1016/j.ophtha.2014.01.026.
4. Munier FL, Gaillard MC, Balmer A, Beck-Popovic M. Intravitreal chemotherapy for vitreous seeding in retinoblastoma: recent advances and perspectives. Saudi J Ophthalmol. 2013;27(3):147-50. doi:10.1016/j.sjopt.2013.06.003.
5. Francis JH, Brodie SE, Marr B, Zabor EC, Mondesire-Crump I, Abramson DH. Efficacy and toxicity of intravitreous chemotherapy for retinoblastoma: four-year experience. Ophthalmology. 2017;124(4):488-95. doi:10.1016/j.ophtha.2016.12.015.
6. Aziz HA, Kim JW, Munier FL, Berry JL. Acute hemorrhagic retinopathy following intravitreal melphalan injection for retinoblastoma: a report of two cases and technical modifications to enhance the prevention of retinal toxicity. Ocul Oncol Pathol. 2017;3:34-40. doi:10.1159/000448718.
7. Yousef YA, Al Jboor M, Mohammad M, et al. Safety and efficacy of intravitreal chemotherapy (melphalan) to treat vitreous seeds in retinoblastoma. Front Pharmacol. 2021;12:696787. doi:10.3389/fphar.2021.696787.
8. Francis JH, Schaiquevich P, Bellerive C, et al. Local and systemic toxicity of intravitreal melphalan for vitreous seeding in retinoblastoma: a preclinical and clinical study. Ophthalmology. 2014;121(9):1810-7. doi:10.1016/j.ophtha.2014.03.028.
9. Bogan CM, Kaczmarek JV, Pierce JM, Chen SC, et al. Evaluation of intravitreal topotecan dose levels, toxicity and efficacy for retinoblastoma vitreous seeds: a preclinical and clinical study. Br J Ophthalmol. 2022;106(2):288-96. doi:10.1136/bjophthalmol-2020-318529.
10. Rao R, Honavar SG, Sharma V, Reddy VAP. Intravitreal topotecan in the management of refractory and recurrent vitreous seeds in retinoblastoma. Br J Ophthalmol. 2018;102(4):490-5. doi:10.1136/bjophthalmol-2017-310641.
11. Shields CL, Medina R, Evans H, et al. High-dose intravitreal topotecan for recurrent retinoblastoma, subretinal seeds, and vitreous seeds. Retina. 2025;45(1):1-6. doi:10.1097/IAE.0000000000004283.
12. Abramson DH, Francis JH. Intravitreal topotecan 90 µg for recurrent solid retinoblastoma tumors is effective and not toxic. J Pediatr Ophthalmol Strabismus. 2023;60(2). doi:10.3928/01913913-20230110-01.
13. Bravo-Gonzalez A. The role of intravitreal chemotherapy as an adjunctive treatment for retinoblastoma: a systematic review and single-arm meta-analysis. Am J Ophthalmol. 2025;273:130-40. doi:10.1016/j.ajo.2024.12.012.
14. Sen M, Rao R, Mulay K, Reddy VAP, Honavar SG. Intravitreal topotecan for vitreous seeds in retinoblastoma: a long-term review of 91 eyes. Ophthalmology. 2024;131(10):1215-24. doi:10.1016/j.ophtha.2024.04.022.
15. Buitrago E, Del Sole MJ, Torbidoni A, et al. Ocular and systemic toxicity of intravitreal topotecan in rabbits for potential treatment of retinoblastoma. Exp Eye Res. 2013;108:103-9. doi:10.1016/j.exer.2013.01.002.

16. Del Sole MJ, Clausse M, Nejamkin P, et al. Ocular and systemic toxicity of high-dose intravitreal topotecan in rabbits: implications for retinoblastoma treatment. Exp Eye Res. 2022;218:109026. doi:10.1016/j.exer.2022.109026.
17. Del Sole MJ, Nejamkin P, Opezzo J, et al. In vitro stability and preclinical safety evaluation of high-dose intravitreal topotecan in rabbits: impact of dose and concentration. Ophthalmol Sci. 2026;6:100963. doi:10.1016/j.xops.2025.100963.
18. Bobrova NF, Sorochynska TA, Molachaniuk NI, Bratishko AIu. [Ultrastructural changes in the rabbit retina after various one-time doses of intravitreal melphalan]. Oftalmol Zh. 2020;(4):50-5. doi:10.31288/oftalmolzh202045055. Ukrainian.
19. Bar-Sela SM, Zayit-Soudry S, Massarweh A, et al. Retinal toxicity of intravitreal melphalan in albino rabbits. J Clin Exp Ophthalmol. 2018;9(1):707. doi:10.4172/2155-9570.1000707.