

УДК 617.7-001.17+599.325.1-001.5
DOI: 10.24061/1727-0847.24.1.2025.09

М. Р. Бідзіля, І. М. Кліш

Кафедра функціональної і лабораторної діагностики (зав. – проф. І. Я. Криницька) Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ РОГІВКИ ПРИ НЕПРОНИКНІЙ МЕХАНІЧНІЙ ТРАВМІ ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ КОРНЕРЕГЕЛЕМ І СТОVBУРОВИМИ КЛІТИНАМИ

Резюме. У роботі представлені результати дослідження морфологічних змін рогівки за умов нанесення непроникної механічної травми та на тлі корекції травматичного ушкодження Корнерегелем та стовбуровими клітинами.

Механічну травму моделювали шляхом нанесення концентричної епітеліальної насічки трепаном діаметром 7,0 мм у верхній половині рогівки, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом з переднім шаром стромы рогівки (викроювали клапоть товщиною до 0,2 мм). Контроль відтворення ерозії здійснювали методом фарбування рогівки 0,5% розчином флюоресцеїну. Експериментальна модель пошкодження рогівки відтворювалась на обох очах кроля під місцевою епібульбарною анестезією 0,5% розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2% розчином лідокаїну 1,0 мл. Стовбурові клітини отримували із пуповини. Отримані мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) імунофенотипували за допомогою проточної цитометрії BD Accuri™ C6 Plus Personal проточним цитометром (Becton Dickinson, USA) та мишачими моноклональними антитілами проти CD73, CD90, CD105, CD34 і CD45 (Invitrogen, USA). МСК були характеризовані як CD73+, CD90+, CD105+, CD34-, CD45-. Для експерименту використовувалися МСК на пасажі 10. Готували суспензію з розрахунку 4,35 млн МСК в 1 мл фізіологічного розчину натрію хлориду на 1 г Корнерегелю.

Для проведення гістологічних досліджень забирали шматочки рогівки кроля, фіксували в 10% нейтральному забуференому формаліні. Подальшу обробку матеріалу з наступною заливкою в парафінові блоки здійснювали згідно загальноприйнятої методики. Отримані на роторному мікротомі AMR-400 зрізи товщиною 4-5 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином. Вивчення гістологічних препаратів здійснювали за допомогою світлооптичного мікроскопа MICROmed SEO SCAN і фотодокументували з використанням відеокамери Vision CCD Camera.

У результаті дослідження виявлено, що стовбурові клітини більш ефективно, ніж лише Корнерегель стимулюють оновлення переднього епітелію рогівки, передньої пограничної пластинки, а також сприяють покращенню структурної організації власної речовини.

Ключові слова: рогівка, експериментальна механічна травма, корекція, корнерегель, стовбурові клітини.

Непроникна механічна травма рогівки є однією з найпоширеніших травм органа зору, особливо серед осіб, зайнятих у промисловості, а також у повсякденному житті (побутові травми). Цей вид травматизму у більшості випадків не призводить до порушення цілісності очного яблука, однак може спричинитися до розвитку серйозних ускладнень, включаючи запалення, ерозії рогівки, набряк, а в довгостроковій перспективі навіть утворення рубців, що погіршує якість зору [1]. Своєчасне та правильне лікування таких травм значно знижує ризик перерахованих вище ускладнень і сприяє швидшому відновленню зору. Це вказує на важливість дослідження оптимальних підходів до діагностики, профілактики та терапії непроникаючої травми рогівки.

Сучасна офтальмологія активно розвивається, зокрема вивчаються нові методи лікування травм рогівки. на сьогодні значна увага науковців зосереджена на використанні регенеративних технологій, що сприяють швидшому загоєнню та відновленню тканин ока [2, 3]. Лікарський препарат Корнерегель широко застосовується в медицині для прискорення регенерації тканин та загоєння ран. Його діюча речовина декспантенол є аналогом пантотенової кислоти, яка необхідна для формування і регенерації слизових оболонок і при проведенні ряду досліджень показала стимулювальну дію на відновлювальні процеси в пошкоджених тканинах.

Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) є потужним інструментом у регенеративній медицині,

і їх потенціал у загоєнні ран активно вивчається та застосовується в клінічній практиці [4]. Ці клітини мають унікальні властивості, які дозволяють їм стимулювати процеси загоєння та регенерації тканин. Зокрема, вони здатні регулювати імунну відповідь організму, знижуючи запалення в зоні ураження, що допомагає уникнути надмірної імунної реакції та покращує процеси загоєння [5-8]. Клітини виділяють біологічно активні молекули (цитокіни, фактори росту тощо), які стимулюють регенерацію тканин і залучають інші клітини до процесу загоєння, включаючи епітелізацію та ангіогенез [9].

Мета дослідження: дослідити гістологічні зміни структурних компонентів рогівки кроля, ефективність застосування очного гелю Корнерегель та мезенхімальних стовбурових клітин при її непроникних ушкодженнях в експерименті.

Матеріал і методи. Досліди проведені на статевозрілих кролях породи «Шиншила» масою тіла 2,5-3,0 кг, відповідно до вимог Женевської конвенції «International Guiding principles for Biochemical research involving animals» (Geneva, 1990) та згідно із Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) [10]. На час проведення експерименту тварини утримувались на стандартному раціоні віварію.

Розподіл тварин у групи відбувався методом випадкової вибірки. Піддослідні тварини були розподілені на 4 групи: група № 1 – тварини без змодельованої патології (інтактні); група № 2 – тварини, яким моделювали непроникну механічну травму рогівки; група № 3 – тварини, яким моделювали непроникну травму рогівки і проводили корекцію з використанням препарату «Корнерегель»; група № 4 – тварини, яким моделювали непроникну механічну травму рогівки і проводили корекцію препаратом «Корнерегель» і стовбуровими клітинами.

Стовбурові клітини отримували із пуповини. У асептичних умовах тканина пуповини була поділена на менші фрагменти і піддана ферментації за допомогою 0,1% колагенази I (Sigma-Aldrich, USA), розведеної в середовищі DMEM/F12 Advanced (Gibco, USA). Далі суспензію клітин піпетували і центрифугували 5 хв при 1610 g. Отриману пелету резуспензували у клітинному середовищі з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки (FBS) і розсаджували на культуральні флакони. Ізольовані МСК вирощували в інкубаторі при 37 °C і концентрації CO₂ 5%. Отриману первинну культуру називали пасажем 0. Пасажування проводили за допомогою трипсинізації ферментом TrypLE (Gibco, USA) при досягненні 90-100% конфлюенту.

Отримані МСК імунофенотипували за допомогою проточної цитометрії BD Accuri™ C6 Plus

Personal проточним цитометром (Becton Dickinson, USA) та мишачими моноклональними антитілами проти CD73, CD90, CD105, CD34 і CD45 (Invitrogen, USA). МСК були характеризовані як CD73+, CD90+, CD105+, CD34-, CD45-. МСК культивували з використанням середовища Advanced DMEM/F12 medium (Gibco, USA) з додаванням 10% FBS, 1% розчину L-глутаміну-пеніциліну-стрептоміцину (Sigma, USA) і гепарину (240 мкг/л) (Sigma, USA)). Клітини вирощували при температурі 37 °C і концентрації CO₂ 5%. Для експерименту використовувалися МСК на пасажі 10. Готували суспензію з розрахунку 4,35 млн МСК в 1 мл фізіологічного розчину натрію хлориду на 1 г Корнерегелю.

Механічну травму моделювали шляхом нанесення концентричної епітеліальної насічки трепаном діаметром 7,0 мм у верхній половині рогівки, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом з переднім шаром строми рогівки (викроювали клапоть товщиною до 0,2 мм).

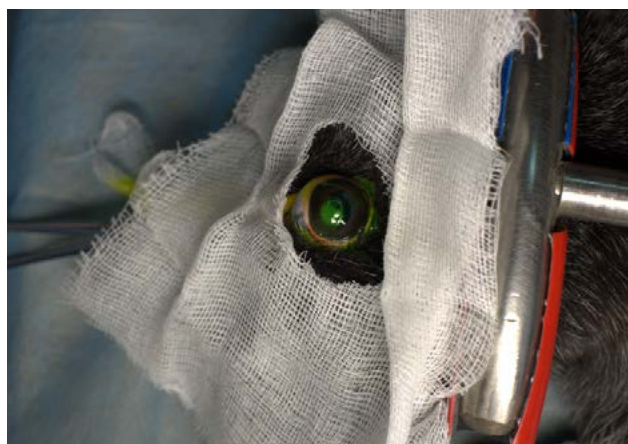
Контроль відтворення ерозії здійснювали методом фарбування рогівки 0,5% розчином флюоресцеїну. Експериментальна модель пошкодження рогівки відтворювалась на обох очах кроля під місцевою епібульбарною анестезією 0,5% розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2% розчином лідокаїну 1,0 мл (рис. 1).

Для проведення гістологічних досліджень забирали шматочки рогівки кроля, фіксували в 10% нейтральному забуференому формаліні. Подальшу обробку матеріалу з наступною заливкою в парафінові блоки здійснювали згідно загальноприйнятої методики. Отримані на роторному мікротомі AMR-400 зрізи товщиною 4-5 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином. Вивчення гістологічних препаратів здійснювали за допомогою світлооптичного мікроскопа MICROmed SEO SCAN і фотодокументували з використанням відеокамери Vision CCD Camera [11].

Результати дослідження та їх обговорення. Мікроскопічні дослідження рогівки через 3 доби після експериментальної механічної травми рогівки за умов застосування корнерегелю показали, що у серединній зоні ушкодженої ділянки відсутній передній епітелій та мембрана Боумена аналогічно другій експериментальній групі. У товщі власної речовини рогівки спостерігається набряк основної речовини із характерними просвітленнями, як результат формуються оптично-вікончасті пустоти. Порівняно із аналогічною групою без корекції колагенові волокна у складі сполучнотканинних пластинок без ознак розволокнення. Відзначається значне збільшення кератоцитів із великими гіперхромними ядрами у проміжках між пластинками строми рогівки відносно анатомічного терміну спостереження другої дослідної групи (рис. 2).



А



Б

Рис. 1. Моделювання механічної травми рогівки (А) та контроль відтворення ерозії (Б)

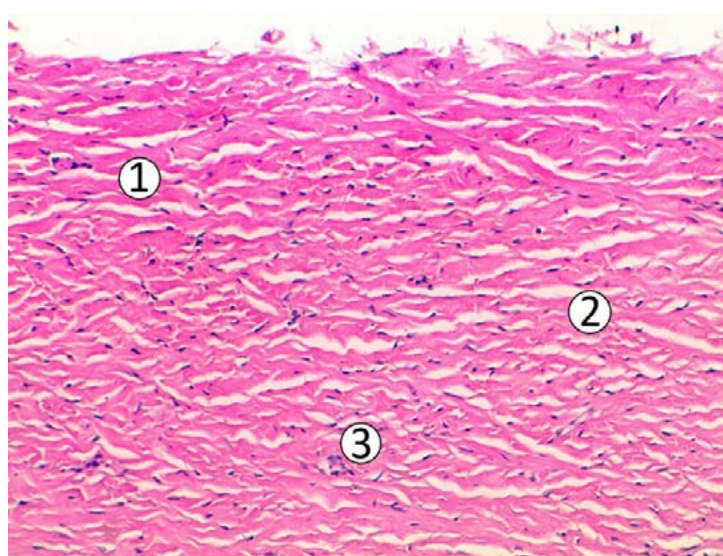


Рис. 2. Гістологічні зміни рогівки кроля через 3 доби після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем. Забарвлення гематоксином і еозином. Збільшення: $\times 100$: 1 – власна речовина; 2 – пошкоджені сполучнотканинні пластинки; 3 – кератоцити

У крайовій ділянці рани рогівки у даний термін дослідження відзначається стоншення епітеліального шару безпосередньо на межі ураження і збільшення кількості шарів епітеліоцитів на периферії. Порівняно із експериментальною групою без корекції клітини епітелію мають частково змінену структуру із переважанням у епітеліоцитів нормохромних ядер без ознак гіпертрофії. У стромі рогівки наявні скупчення фібробластів, що вказує на активний процес регенерації за рахунок синтезу колагену, еластину та інших компонентів міжклітинного матриксу. У товщі власної речовини спостерігаються частково змінені фібробласти. Відзначається помірний набряк основної речовини стромі рогівки порівняно із другою дослідною групою (рис. 3).

Через 7 діб після експериментальної механічної травми рогівки за умов застосування корнерегелю гістологічні дослідження рогівки показали, що центральна ділянка рани закривається епітеліальним регенератом. Клітини епітелію накла-

даються формуючи декілька шарів. Епітеліоцити мають чітко виражені базofilні ядра, оксифіліну цитоплазму порівняно із експериментальною групою без корекції. На периферійних ділянках клітини із ознаками набряку, у результаті чого цитоплазма стає просвітлена, слабо еозинofilна. Грануляційна тканина більш сформована із переважанням волокнистих структур у своєму складі порівняно з другою дослідною групою. Фібробласти мають неправильну форму із активними нормохромними ядрами (рис. 4). Порівняно із групою без застосування коригуючого чинника набряк основної речовини пластинок стромі незначний.

Гістологічне дослідження препаратів рогівки третьої експериментальної групи показали, що через 14 діб після механічної травми рогівки за умов застосування корнерегелю відзначається повна епітелізація ушкодженої ділянки. Епітеліоцити мають нормохромні та інтенсивно базofilні ядра округ-

лої форми. Виявляються ділянки із чітким заляганням епітеліальних клітин шарами, що не прослідковувалося у аналогічний термін дослід у другій експериментальній групі без корекції. За рахунок нерівномірного формування базального шару багат шарового плоского незроговілого епітелію мембрана Боумена погано контурована. Під переднім епітелієм чітко диференціюється світло оксифільна грануляційна тканина. У складі грануляцій присутні активні клітини фібробластичного ряду, які синтезують міжклітинну речовину та волокна. Багато дріб-

них кровоносних капілярів у складі грануляційної тканини вказує активний ангиогенез. Порівняно із групою без корекції у новоутвореній сполучній тканині відсутні скупчення гістолейкоцитарних інфільтратів. Власне строма рогівки щільно прилягає до грануляційної тканини. Пластинки власної речовини частково дезорганізовані, ступінь набряку основної речовини менший порівняно із другою групою без корекції. Більшість кератоцитів із помірними ознаками альтерації, проте виявляються поодинокі клітини із типовою витонченою будовою (рис. 5).

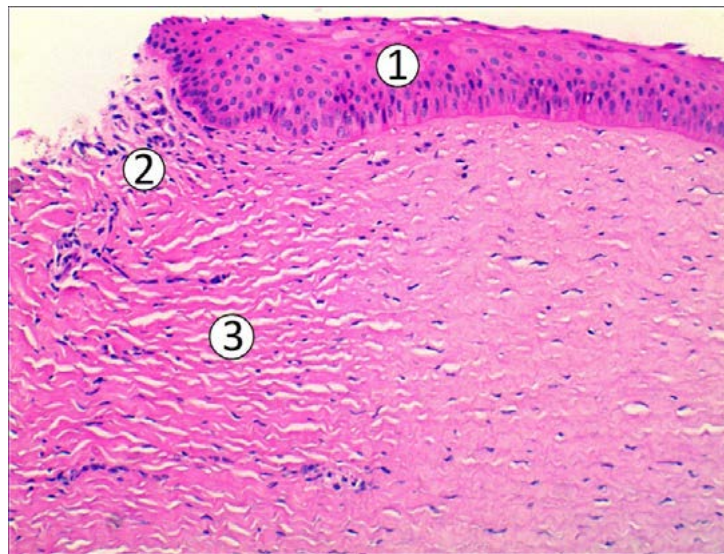


Рис. 3. Мікроскопічні зміни крайової ділянки місця ушкодження рогівки кролів через 3 доби після змодельованої механічної непроникної травми рогівки за умов корекції корнерегелем. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення: $\times 100$: 1 – збережений багат шаровий плоский незроговілий епітелій; 2 – скупчення фібробластів; 3 – строма рогівки із ознаками набряку

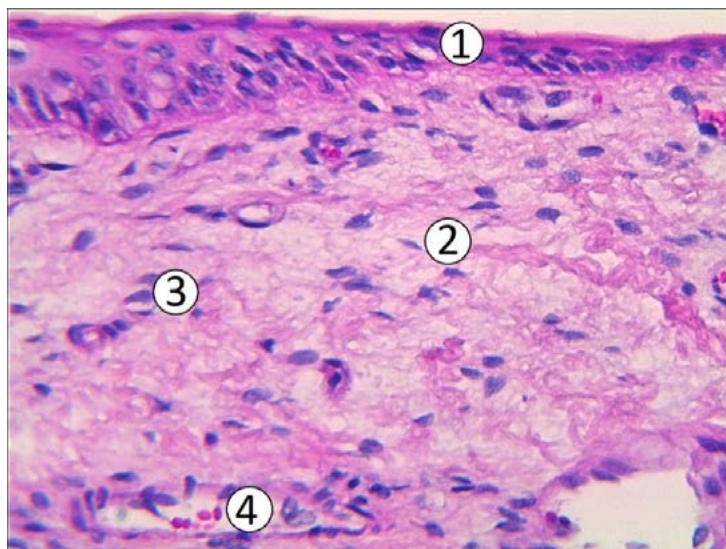


Рис. 4. Гістологічний зміни рогівки кроля через 7 діб після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення: $\times 250$: 1 – ділянка рани вкрита епітеліальним регенератом; 2 – грануляційна тканина; 3 – фібробласти; 4 – кровоносна судина



Рис. 5. Гістологічні зміни рогівки кроля через 14 доби після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем. Забарвлення гематоксилином і еозином. Збільшення: $\times 100$: 1 – регенерат багатошарового плоского незроговілого епітелію; 2 – грануляційна тканина; 3 – кровоносні капіляри; 4 – фібробласти; 5 – строма рогівки

Мікроскопічно встановлено, що через 28 діб після експериментальної механічної травми рогівки за умов застосування корнерегелем поліморфізм структурних компонентів рогівки. Відновлена епітеліальна пластинка гетерогенна, епітеліоцити у складі шару поверхневих клітин нетипові із округлими ядрами. Порівняно із другою дослідною групою без корекції передній епітелій і мембрана Боумена рівна, без зигзагоподібного ходу. Епітеліоцити залягають лише у межах епітеліального пласту, що є нехарактерним для аналогічного терміну досліду без застосування коригуючого чинника. Молода

сполучна тканина у верхньому шарі строми рогівки трансформується у типову власну речовину, проте нещільно кріпиться до мембрани Боумена. Колагенові волокна у її складі формують класичні сполучнотканинні пластинки. Відзначається багато клітин фібробластичного ряду із світлими базофільними ядрами. У власній речовині рогівки порівняно із групою без корекції незначний, на деяких ділянках локальний набряк основної речовини і оптичні пустоти мають щілиноподібний вигляд. Пластинки строми рогівки мають хвилястий хід із витонченими кератоцитами у проміжках (рис. 6).

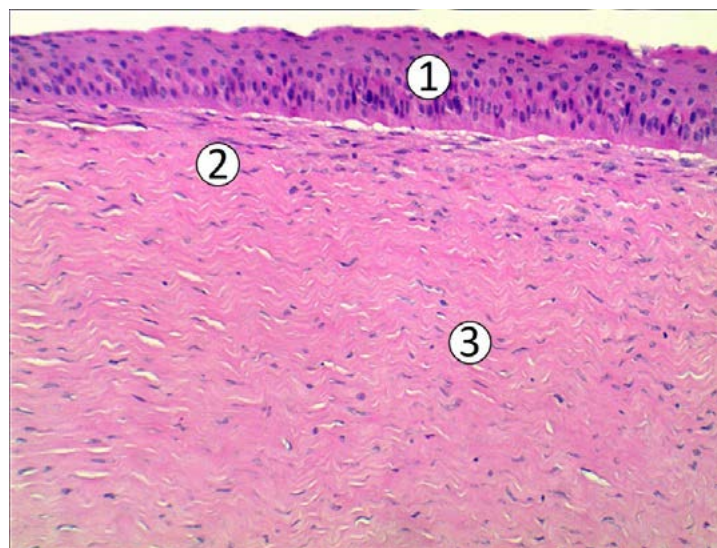


Рис. 6. Мікроскопічні зміни рогівки кроля через 28 діб після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем. Забарвлення гематоксилином і еозином. Збільшення: $\times 100$: 1 – відновлений передній епітелій; 2 – новоутворена сполучна тканина; 3 – пластинки строми із кератоцитами

Мікроскопічні дослідження встановили, що через 3 доби після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем і МСК спостерігається незначний ступінь набряку основної

речовини строми порівняно із аналогічним терміном досліду третьої групи, а особливо дослідної групи без корекції. У центральній ділянці ушкодження процес епітелізації не розпочався, тому передній

епітелій повністю відсутній. Сполучнотканинні пластинки на переважній більшості ділянок щільно контактують одна з одною і мають типову структуру, локально виявляється їх звивистий хід. У власній речовині рогівки кератоцити залягають вздовж сполучнотканинних пластинок (рис. 7).

Через 7 діб після непроникної травми рогівки за умов застосування МСК мікроскопічні дослідження гістологічних препаратів рогівки показали, що центральний локус рани повністю покритися новоутвореним епітелієм. Молоді клітини епітелію формують кілька шарів, мають інтенсивно оксифільну цитоплаз-

му та базofilні ядра. У крайовій ділянці епітеліоцити переднього епітелію дещо хаотично розташовані, із типовою морфологією. У прилеглих до епітеліального пласту ділянці стромі активно формується грануляційна тканина. У якій багато фібробластів, проте на даному етапі відсутні гістолейкоцитарні інфільтрати порівняно з другою дослідною групою без корекції. У власній речовині рогівки виявляються поодинокі ділянки із просвітленням, що вказує на незначний набряк, пластинки щільно з'єднані між собою, мають хвиляподібний хід. Кератоцити чітко контуровані, видовженої форми із базofilним ядрами (рис. 8).

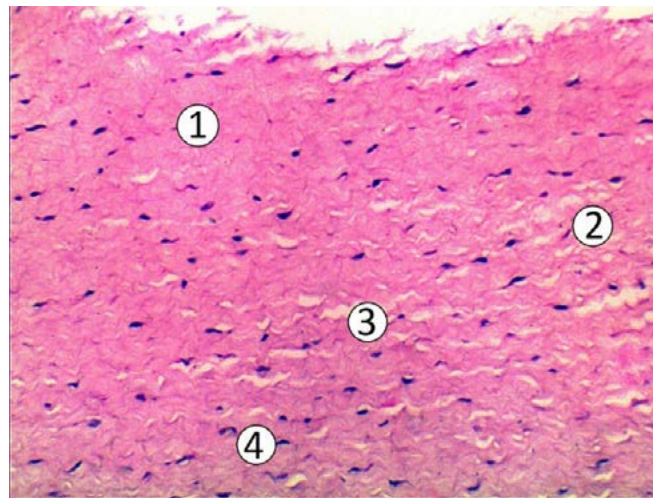


Рис. 7. Гістологічні зміни рогівки кроля через 3 доби після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем і мезенхімальними стовбуровими клітинами. Забарвлення гематоксилином і еозином. Збільшення: $\times 100$: 1 – власна речовина; 2 – пошкоджені сполучнотканинні пластинки; 3 – набряк стромі; 4 – кератоцити

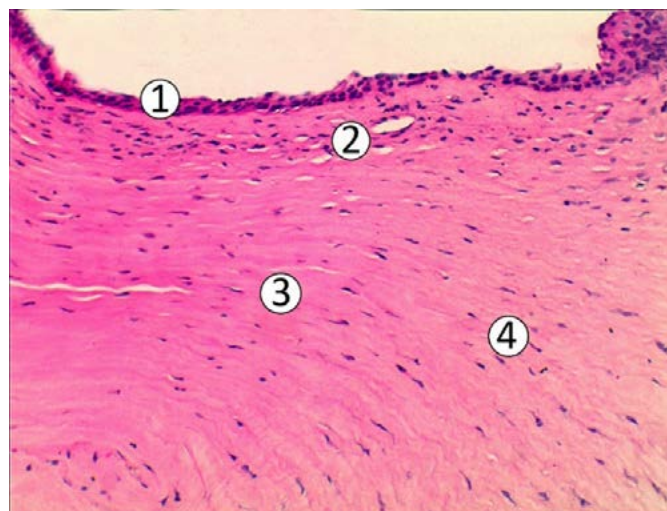


Рис. 8. Гістологічні зміни рогівки кроля через 7 діб після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем і мезенхімальними стовбуровими клітинами. Забарвлення гематоксилином і еозином. Збільшення: $\times 100$: 1 – сформований епітелій; 2 – грануляційна тканина з фібробластами; 3 – сполучнотканинні пластинки; 4 – кератоцити

Гістологічні дослідження рогівки через 14 діб після нанесення механічної непроникної травми рогівки при застосування в якості коригуючого чинника корнерегелю і МСК показали, що

процес епітелізації завершується формуванням багатошарового плоского незроговілого епітелію, проте має дещо хвиляподібний рельєф разом із мембраною Боумена. Епітеліоцити усіх шарів ма-

ють світлу оксифільну цитоплазму, тоді як їх ядра у деяких клітин інтенсивно базофільні, а інших нормохромні. Порівняно з ідентичним терміном другої дослідної групи передній епітелій, мембрана Боумена і строма щільно зрощені між собою. У власній речовині відзначається новостворена

сполучна тканина із активними клітинами фібробластичного ряду, які на певних ділянках досить багато. У грануляційній тканині наявні поодинокі судини. Пластинки строми рогівки залягають хвилеподібно, у їх проміжках наявні типові кератоцити, без ознак гіпертрофії (рис. 9).

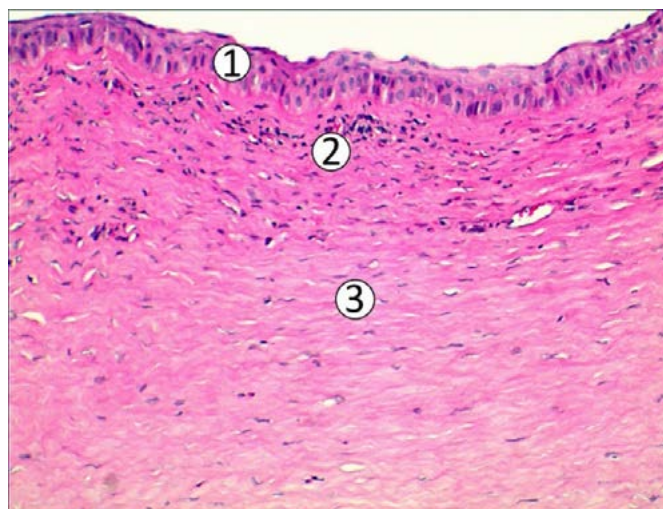


Рис. 9. Гістологічні зміни рогівки кроля через 14 діб після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем і мезенхімальними стовбуровими клітинами. Забарвлення гематоксилином і еозином. Збільшення: $\times 100$: 1 – багатошаровий плоский незроговілий епітелій; 2 – грануляційна тканина; 3 – пластинки строми разом із кератоцитами

Через 28 діб після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем і МСК гістологічні дослідження показали, що морфологічна структура рогівки наближена до норми порівняно із аналогічним терміном третьої дослідної групи. Передній епітелій складається із чітко контурованих шарів. Міжклітинні контакти між епітеліоцитами повністю збережені. Епітеліальний пласт з'єднується щільно з мембраною Боумена, яка має незначно хвилеподібний хід. У верхніх шарах

строми рогівки повністю відбувається перетворення грануляційної тканини у типову власну речовину, що невластиве на даному терміні іншим експериментальним групам. У даній ділянці відзначаються локально дрібні скупчення молодих кератоцитів, а також виявляються гемокапіляри на стадії редукування. Сполучнотканинні пластинки без ознак набряку, щільно з'єднані між собою. Нормохромні кератоцити веретеноподібної форми залягають у напрямку пластинок строми рогівки (рис. 10).

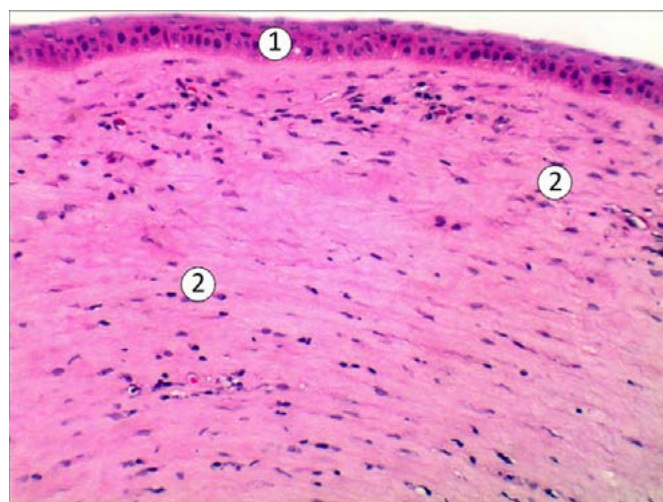


Рис. 10. Гістологічні зміни рогівки кроля через 28 діб після експериментальної механічної травми рогівки за умов корекції корнерегелем і мезенхімальними стовбуровими клітинами. Забарвлення гематоксилином і еозином. Збільшення: $\times 100$: 1 – передній епітелій; 2 – власна речовина з кератоцитами

Висновки. 1. Застосування Корнергелю як методу корекції непроникної механічної травми рогівки сприяє відновленню ушкоджених тканин рогівки, епітеліальний пласт повністю регенований, проте у стромі рогівки визначаються ознаки набряку, трансформація грануляційної тканини остаточно не відбувається. 2. Визначено, що ефективність застосування мезенхімальних стовбурових клітин в якості коригуючого чинника значно вища ніж Корнергелю, сприяє найкращому регенераторному потенціалу відновлення структурних

компонентів рогівки. Відзначається прогресивніша епітелізація ранової ділянки, незначний набряк основної речовини стромі рогівки, швидке перетворення грануляційної тканини на типову власну речовину із сполучнотканинними пластинками.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується дослідження біохімічних показників сироватки крові і внутрішньоочної рідини тварин з механічною травмою рогівки та за її корекції.

Список використаної літератури

1. Wilson SE. Corneal wound healing. *Exp Eye Res.* 2020;197:108089. doi: 10.1016/j.exer.2020.108089.
2. Mohan RR, Kempuraj D, D'Souza S, Ghosh A. Corneal stromal repair and regeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2022;91:101090. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101090.
3. Kumar A, Yun H, Funderburgh ML, Du Y. Regenerative therapy for the Cornea. *Prog Retin Eye Res.* 2022;87:101011. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.101011.
4. Sharif Z, Sharif W. Corneal neovascularization: updates on pathophysiology, investigations & management. *Rom J Ophthalmol.* 2019 Jan-Mar;63(1):15-22. PMID: 31198893.
5. Li J, Ma Y, Huang X, Xu L, Tang S. Bandage Contact Lenses versus Deproteinized Calf Blood Extract Eye Gel for Recurrent Corneal Erosion Syndrome: A Case-Control Study. *Ther Clin Risk Manag.* 2020;16:1109-15. doi: 10.2147/TCRM.S277282.
6. Silina EV, Manturova NE, Litvitskiy PF, Stupin VA. Comparative Analysis of the Effectiveness of Some Biological Injected Wound Healing Stimulators and Criteria for Its Evaluation. *Drug Des Devel Ther.* 2020;14:4869-83. doi: 10.2147/DDDT.S277047.
7. Nicula C, Szabo I, Ivan O. Stem cells treatment in the ocular surface regeneration. *Rom J Ophthalmol.* 2017 Oct-Dec;61(4):239-43.
8. Call M, Elzarka M, Kunes M, Hura N, Birk DE, Kao WW. Therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells for the treatment of congenital and acquired corneal opacity. *Mol Vis.* 2019;25:415-26.
9. Yao L, Li ZR, Su WR, Li YP, Lin ML, Zhang WX, et al. Role of mesenchymal stem cells on cornea wound healing induced by acute alkali burn. *PLoS One.* 2012;7(2): e30842. doi: 10.1371/journal.pone.0030842.
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. *European Treaty Series – No. 123.* Strasbourg; 18.III.1986.
11. Горальський ЛП, Хомич ВТ, Кононський ОІ. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Житомир: Полісся; 2011. 288 с.

References

1. Wilson SE. Corneal wound healing. *Exp Eye Res.* 2020;197:108089. doi: 10.1016/j.exer.2020.108089.
2. Mohan RR, Kempuraj D, D'Souza S, Ghosh A. Corneal stromal repair and regeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2022;91:101090. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101090.
3. Kumar A, Yun H, Funderburgh ML, Du Y. Regenerative therapy for the Cornea. *Prog Retin Eye Res.* 2022;87:101011. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.101011.
4. Sharif Z, Sharif W. Corneal neovascularization: updates on pathophysiology, investigations & management. *Rom J Ophthalmol.* 2019 Jan-Mar;63(1):15-22. PMID: 31198893.
5. Li J, Ma Y, Huang X, Xu L, Tang S. Bandage Contact Lenses versus Deproteinized Calf Blood Extract Eye Gel for Recurrent Corneal Erosion Syndrome: A Case-Control Study. *Ther Clin Risk Manag.* 2020;16:1109-15. doi: 10.2147/TCRM.S277282.
6. Silina EV, Manturova NE, Litvitskiy PF, Stupin VA. Comparative Analysis of the Effectiveness of Some Biological Injected Wound Healing Stimulators and Criteria for Its Evaluation. *Drug Des Devel Ther.* 2020;14:4869-83. doi: 10.2147/DDDT.S277047.

7. Nicula C, Szabo I, Ivan O. Stem cells treatment in the ocular surface regeneration. *Rom J Ophthalmol*. 2017 Oct-Dec;61(4):239-43.
8. Call M, Elzarka M, Kunesh M, Hura N, Birk DE, Kao WW. Therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells for the treatment of congenital and acquired corneal opacity. *Mol Vis*. 2019;25:415-26.
9. Yao L, Li ZR, Su WR, Li YP, Lin ML, Zhang WX, et al. Role of mesenchymal stem cells on cornea wound healing induced by acute alkali burn. *PLoS One*. 2012;7(2): e30842. doi: 10.1371/journal.pone.0030842.
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. *European Treaty Series – No. 123*. Strasbourg; 18.III.1986.
11. Horal's'kyi LP, Khomych VT, Konons'kyi OI. *Osnovy histolohichnoyi tekhniky i morfofunktsional'ni metody doslidzhen' u normi ta pry patolohiyi*. Zhytomyr: Polissya; 2011. 288 s. [in Ukrainian].

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE CORNEA WITH NON-PENETRATING MECHANICAL INJURY AND UNDER CONDITIONS OF CORRECTION WITH CORNEREGEL AND STEM CELLS

Abstract. This study presents the results of research on morphological changes in the cornea under the condition of non-penetrating mechanical injury and against the backdrop of correcting traumatic damage with Corneregel and stem cells.

A mechanical injury was modeled by creating a concentric epithelial notch with a 7.0 mm trephine on the upper half of the cornea. Within this area, an ophthalmic scalpel was used to remove the epithelium along with the anterior stromal layer of the cornea (flap thickness up to 0.2 mm). Control of erosion recovery was conducted by staining the cornea with a 0.5% fluorescein solution. The experimental model of corneal damage was reproduced on both eyes of a rabbit under local episcleral anesthesia with a 0.5% solution of Alcaine and retrobulbar anesthesia with 1.0 ml of a 2% lidocaine solution.

Stem cells were obtained from the umbilical cord. The mesenchymal stem cells (MSCs) were immunophenotyped using the BD Accuri™ C6 Plus flow cytometer (Becton Dickinson, USA) with murine monoclonal antibodies against CD73, CD90, CD105, CD34, and CD45 (Invitrogen, USA). MSCs were characterized as CD73+, CD90+, CD105+, CD34-, CD45-. For the experiment, MSCs at the 10th passage were used, preparing a suspension with 4.35 million MSCs per 1 ml of sodium chloride saline per gram of Corneregel.

For histological studies, corneal tissue samples were collected, fixed in 10% neutral buffered formalin, processed, and embedded in paraffin blocks following standard methodology. Sections 4-5 µm thick were prepared using a rotary microtome AMR-400 and stained with hematoxylin-eosin. Histological specimens were examined using a light optical microscope MICROMed SEO SCAN, and photo documentation was performed with a Vision CCD Camera. The results revealed that stem cells are more effective than Corneregel alone in stimulating regeneration of the anterior corneal epithelium, anterior limiting membrane, and improving the structural organization of the corneal stroma.

Key words: cornea, experimental mechanical injury, correction, Corneregel, stem cells.

Відомості про авторів:

Бідзіля Мар'яна Романівна – аспірантка очної (вечірньої) форми навчання Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-1666-7795>;

Кліщ Іван Миколайович – проректор з наукової роботи, професор кафедри функціональної і лабораторної діагностики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6226-4296>.

Information about the authors:

Bidzilya Maryana R. – full-time (evening) postgraduate student at the Ternopil National Medical University named after I. Ya. Horbachevsky, Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-1666-7795>;

Klishch Ivan M. – Vice-Rector for Scientific Work, Professor of the Department of Functional and Laboratory Diagnostics at the Ternopil National Medical University named after I. Ya. Horbachevsky, Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6226-4296>.

Надійшла 24.02.2025 р.