

## ЦИТОКІНОВИЙ СТАТУС СИРОВАТКИ КРОВІ КРОЛІВ З МЕХАНІЧНОЮ НЕПРОНИКНОЮ ТРАВМОЮ РОГІВКИ ТА КОРЕКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯМ СТРОМИ КСЕНОРОГІВКИ, ОТРИМАНОЇ МЕТОДОМ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗАЦІЇ

**Вступ.** Дослідники в галузі офтальмології довели важливу роль в імунопатогенезі захворювань очей цитокінів як активних біорегуляторів запальних і репаративних процесів.

**Мета дослідження** – встановити особливості змін цитокінового профілю крові кролів у динаміці хірургічної корекції кератоксеноімплантатом, отриманим методом децелюляризації, за умови експериментальної механічної непроникної травми рогівки.

**Методи дослідження.** Ушкодження рогівки відтворювали на кролях породи шиншила. На обох очах під місцевою епібульбарною анестезією 0,5 % розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну трепаном у верхній половині рогівки наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом з переднім шаром строми рогівки. Трансплантаційний матеріал – строма ксенорогівки свині, отримана методом децелюляризації, яку проводили шляхом її обробки 0,5 % розчином додецилсульфату натрію та, в подальшому, ультразвуком з подальшою інкубацією за наявності 0,1 % розчину папаїну. Концентрацію фактора некрозу пухлини- $\alpha$ , інтерлейкіну-1 $\beta$ , інтерлейкіну-4 й інтерлейкіну-6 визначали імуноферментним методом.

**Результати й обговорення.** Результати проведеного дослідження вказують на відмінності динаміки рівня цитокінів у кролів, яким моделювали механічну непроникну травму рогівки, і тих тварин, яким проводили хірургічну корекцію. Зокрема, при моделюванні механічної травми рогівки зростає концентрація прозапальних цитокінів – фактора некрозу пухлини- $\alpha$ , інтерлейкіну-1 $\beta$ , інтерлейкіну-6 з максимумом на 3-тю добу спостереження. До 28-ї доби вона знизилась, однак була достовірно вищою, ніж у тварин без змодельованої патології. Концентрація протизапального цитокіна – інтерлейкіну-4 зростає на 3-тю добу з подальшим зниженням до 28-ї доби. Хірургічна корекція із закриттям дефекту з використанням строми ксенорогівки свині, отриманої методом децелюляризації, супроводжувалась менш вираженими змінами показників прозапальних та протизапальних цитокінів, а до завершення терміну експерименту вони повністю нормалізувались.

**Висновок.** Одержані результати вказують на відмінність типу імунної відповіді після нанесення механічної травми рогівки: у тварин, яким моделювали механічну травму рогівки і хірургічної корекції не проводили, він був гіперреактивним, а за умов хірургічної корекції з використанням строми рогівки, отриманої методом децелюляризації, – компенсаторним.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: травма рогівки; хірургічна корекція; ксеноімплантат; імунна система; цитокіни.

ВСТУП. У структурі сучасної травми органа зору непроникні поранення рогівки становлять близько 16 % від загальної кількості хворих офтальмологічних стаціонарів [1]. У більшості випадків травми очей супроводжуються порушеннями в імунній системі на рівні як ушкодженого органа, так і організму в цілому [2–4]. Імунні порушення, у свою чергу, впливають на перебіг посттравматичного періоду і формування ускладнень [5]. Цитокіни відіграють важливу роль у патогенезі різних захворювань рогівки та при відторгненні трансплантата рогівки. Крім того,

© С. М. Шмир, І. М. Кліщ, 2023.

вони також можуть мати певне значення в підтримці цілісності нормальної рогівки [6–9].

Незважаючи на застосування сучасних методів лікування, нерідко у хворих спостерігають розвиток різноманітних ускладнень, тому є необхідність пошуку нових та вдосконалення існуючих методів корекції. Одним із перспективних у цьому напрямку є пересадження донорської рогівки [10]. Проведені експериментальні дослідження показали позитивний ефект від пересадження рогівки свині, що за своїми морфологічними й імунологічними властивостями наближена до рогівки людини. Зокрема, запропоновано

методику із застосуванням криоліофілизованого кератоксеноімплантата, що зареєстрований МОЗ України як виріб медичного призначення і використовується, головним чином, для лікування опечених хворих [11, 12]. Однак його застосування іноді супроводжується відторгненням та помутнінням, спричиненими автоімунною відповіддю організму [13]. Тому є необхідність зменшення імунної реактивності кератоксеноімплантата. Вищенаведене визначає актуальність поглибленого вивчення можливості використання при травмах рогівки строми ксенорогівки, отриманої методом децелюляризації.

Мета дослідження – встановити особливості змін цитокінового профілю крові кролів у динаміці хірургічної корекції кератоксеноімплантатом, отриманим методом децелюляризації, за умови експериментальної механічної непроникної травми рогівки.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експериментальне дослідження проводили на статевозрілих кролях породи шиншила масою від 2,5 до 3,0 кг відповідно до Женевської конвенції "International Guiding principles for Biochemical research involving animals" (Женева, 1990) та згідно із Загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) [13, 14]. Кролі отримували повноцінне збалансоване харчування і перебували в належних санітарно-гігієнічних умовах виварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Тварин поділили на три групи: 1-ша – інтактні тварини без змодельованої патології (10 кролів); 2-га – тварини, яким моделювали непроникну механічну травму рогівки (10 кролів); 3-тя – тварини, яким моделювали непроникну механічну травму рогівки і проводили хірургічну корекцію з використанням строми рогівки, отриманої методом децелюляризації (10 кролів). Дослідження

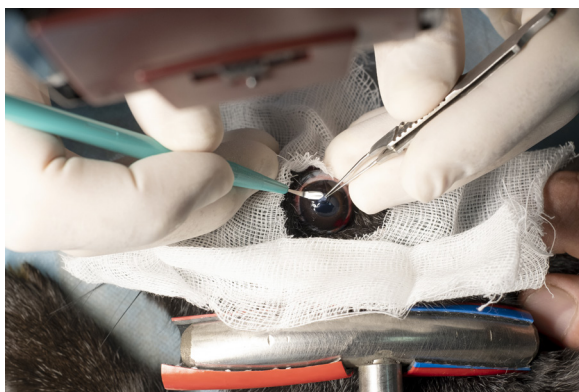


Рис. 1. Моделювання механічної непроникної травми рогівки.

проводили через 3, 7, 14 та 28 днів після нанесення травми.

Експериментальну модель ушкодження рогівки відтворювали на обох очах тварини під місцевою епібульбарною анестезією 0,5 % розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну 1,0 мл. Трепаном діаметром 7 мм у верхній половині рогівки наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом з переднім шаром строми рогівки (викроювали клапоть товщиною до 0,2 мм) (рис. 1).

Контроль за відтворенням ерозії здійснювали методом фарбування рогівки 0,5 % розчином флуоресцеїну (рис. 2).

Хірургічна корекція травми передбачала закриття дефекту рогівки з використанням строми, отриманої методом децелюляризації, шляхом пришивання його в чотирьох місцях (на 12, 15, 18 та 21 годинах) до склери через кон'юнктиву за допомогою атравматичної голки 8/0 нейлон (рис. 3). Упродовж 8 днів після операції тваринам проводили інстиляцію розчину антибіотика фторхінолонового ряду – вігамоксу (1 крапля 3 рази на день).

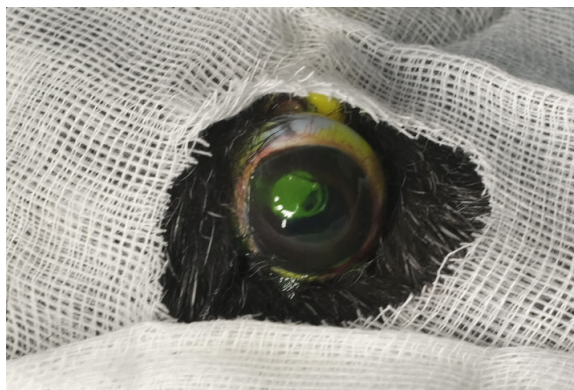


Рис. 2. Фарбування нанесеної травми рогівки флуоресцеїном.

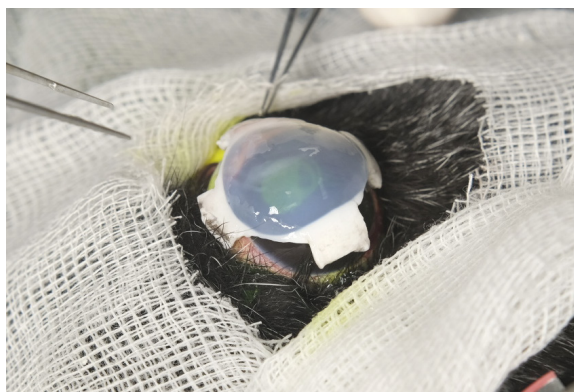


Рис. 3. Закриття дефекту рогівки з використанням строми, отриманої методом децелюляризації.

Технологія отримання донорського матеріалу була стандартною. Рогівку, отриману з видалених очей свиней, поміщали в середовище для культивування тканини, після чого проводили її децелюляризацію, а саме: обробляли 0,5 % розчином додецилсульфату натрію при постійному струшуванні за температури +4 °С, потім обробляли ультразвуком за допомогою ультразвукового диспергатора УЗДН-М 750 протягом 5 хв, інкубували за наявності 0,1 % розчину папаїну (рН 6,5) впродовж 2,5 год при +30 °С, промивали в калій-фосфатному 0,1 М буфері (рН 6,5) тричі по 5 хв. Знову обробляли ультразвуком протягом 5 хв, потім 0,5 % розчином додецилсульфату натрію двічі впродовж 3 год, промивали в калій-фосфатному 0,1 М буфері (рН 6,5) тричі по 5 хв, ще раз обробляли ультразвуком протягом 5 хв, промивали в калій-фосфатному буфері (рН 6,5) п'ятикратно по 5 хв. Центрифугували (ROTOFIX 32-A) при 3000 g 15 хв з декантацією трикратно і переносили у середовище для зберігання – 2 % розчин полівінілпіролідону за температури 0 °С (Пат. № 101707 У, 2015) [15].

Кров для дослідження забирали з крайової вени вуха. Концентрацію фактора некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкіну-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), інтерлейкіну-6 (IL-6) та інтерлейкіну-4 (IL-4) визначали імуноферментним методом на аналізаторі Multiskan FC 357 за допомогою стандартних методик на апараті Multiskan FC-357. Розраховували індекс запальної активності (ІЗА) за формулою:

$$ІЗА = ((TNF-\alpha) + (IL-1\beta) + (IL-6)) / (IL-4).$$

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Excel ("Microsoft", США) з використанням непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її

дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали методом варіаційної статистики із застосуванням критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати проведеного дослідження вказують на відмінності динаміки рівня цитокінів у кролів, яким моделювали механічну непроникну травму рогівки, і тих тварин, яким проводили хірургічну корекцію з використанням строми ксенорогівки, отриманої методом децелюляризації. Зокрема, через 3 доби після моделювання патологічного процесу вміст TNF- $\alpha$  у сироватці крові кролів, яким не виконували хірургічної корекції, перевищував аналогічний показник тварин без змодельованої патології в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ). У подальші терміни спостереження рівень зростання концентрації досліджуваного цитокіна був дещо меншим, однак на 28-му добу перевищував показник тварин без патології в 1,3 раза. У кролів, яким проводили хірургічну корекцію, збільшення концентрації TNF- $\alpha$  було менш вираженим, ніж у тварин, яким її не виконували. Зокрема, на 3-тю добу рівень становив 141 % порівняно з кролями без патології і був на 16,2 % нижчим порівняно з тваринами, яким хірургічної корекції не проводили. Ще більше зниження відносно показника кролів без корекції ми зафіксували на 7-му добу – 37,6 %. У подальші терміни спостереження концентрація TNF- $\alpha$  у кролів, яким виконували хірургічну корекцію, достовірно не відрізнялась від показника тварин, яким травми не моделювали, водночас була достовірно меншою, ніж у кролів із травмою рогівки без проведення корекції (табл.).

Аналізуючи динаміку концентрації IL-1 $\beta$  у сироватці крові, встановили, що у кролів, яким не проводили хірургічної корекції, показник був

Таблиця – Концентрація цитокінів у сироватці крові кролів у посттравматичний період при використанні різних методів корекції (M $\pm$ m)

Група тварин		Показник				
		TNF- $\alpha$ , пг/мл	IL-1 $\beta$ , пг/мл	IL-4, пг/мл	IL-6, пг/мл	ІЗА
Без змодельованої патології (n=10)		11,49 $\pm$ 0,43	1,70 $\pm$ 0,09	26,69 $\pm$ 1,34	1,64 $\pm$ 0,08	0,56 $\pm$ 0,03
Механічна травма рогівки	3-тя доба (n=10)	18,66 $\pm$ 0,20*	2,33 $\pm$ 0,08*	30,26 $\pm$ 0,93*	2,33 $\pm$ 0,10	0,77 $\pm$ 0,05*
	7-ма доба (n=10)	17,69 $\pm$ 0,51*	2,05 $\pm$ 0,07	23,87 $\pm$ 0,68*	2,07 $\pm$ 0,08	0,72 $\pm$ 0,05*
	14-та доба (n=10)	13,18 $\pm$ 0,28*	1,94 $\pm$ 0,06*	19,15 $\pm$ 0,58*	1,86 $\pm$ 0,06*	0,65 $\pm$ 0,04*
	28-ма доба (n=10)	14,63 $\pm$ 0,54*	1,85 $\pm$ 0,09*	20,52 $\pm$ 0,99*	1,94 $\pm$ 0,07*	0,68 $\pm$ 0,05*
Механічна травма рогівки + хірургічна корекція	3-тя доба (n=10)	16,05 $\pm$ 0,60 <sup>#</sup>	2,18 $\pm$ 0,13	30,56 $\pm$ 0,98*	1,97 $\pm$ 0,08	0,66 $\pm$ 0,04 <sup>#</sup>
	7-ма доба (n=10)	12,86 $\pm$ 0,66 <sup>#</sup>	1,90 $\pm$ 0,06	30,16 $\pm$ 1,00 <sup>#</sup>	1,80 $\pm$ 0,09	0,55 $\pm$ 0,03 <sup>#</sup>
	14-та доба (n=10)	11,76 $\pm$ 0,60 <sup>#</sup>	1,84 $\pm$ 0,07 <sup>#</sup>	26,06 $\pm$ 1,35 <sup>#</sup>	1,71 $\pm$ 0,09*	0,59 $\pm$ 0,04 <sup>#</sup>
	28-ма доба (n=10)	11,55 $\pm$ 0,74 <sup>#</sup>	1,78 $\pm$ 0,13 <sup>#</sup>	26,86 $\pm$ 1,35 <sup>#</sup>	1,67 $\pm$ 0,10*	0,56 $\pm$ 0,03 <sup>#</sup>

Примітки:

- \* – різниця достовірна щодо тварин, яким патологічного процесу не моделювали ( $p < 0,05$ ).
- # – різниця достовірна стосовно тварин, яким моделювали механічну травму рогівки, але хірургічної корекції не проводили.



достовірно вищим порівняно з інтактними тваринами. На 3-тю добу спостереження вона зросла на 37,1 % стосовно кролів без змодельованої патології. У подальші терміни посттравматичного періоду рівень цього цитокіна зменшувався і до 28-ї доби перевищував показник норми на 8,6 %. Хірургічна корекція з використанням строми ксенорогівки, отриманої методом децелюляризації, супроводжувалась менш інтенсивним збільшенням вмісту IL-1 $\beta$ , ніж у тварин, яким хірургічної корекції не проводили. Зокрема, на 3-тю добу спостереження рівень IL-1 $\beta$  перевищував аналогічний показник тварин без змодельованої патології на 21,1 % і був на 10,4 % нижчим, ніж у кролів із травмою рогівки, яким хірургічної корекції не виконували. На 7-му добу він зменшувався порівняно з попереднім терміном спостереження, однак на 11,8 % перевищував рівень норми та був на 7,9 % нижчим, ніж у групі тварин без хірургічної корекції. На 14-ту і 28-му доби концентрація IL-1 $\beta$  у цій групі достовірно не перевищувала показника кролів без патології і була меншою, ніж у тварин 2-ї групи (див. табл.).

Аналогічними за динамікою були зміни ще одного прозапального цитокіна – IL-6. Його концентрація також максимально зростала на 3-тю добу від моменту моделювання травми рогівки і становила 141,8 % від його рівня. Подальше зниження в наступні терміни спостереження було менш вираженим, ніж це відзначено стосовно IL-1 $\beta$ , і навіть на 28-му добу показник становив 118,3 % відносно норми. Хірургічна корекція також сприяла менш інтенсивному його зростанню, ніж це мало місце у групі тварин без корекції, до 28-ї доби достовірних змін зафіксовано не було.

Узагальнюючи отримані результати дослідження рівня прозапальних цитокінів, можна стверджувати, що хірургічна корекція із застосуванням ксенорогівки свині, отриманої методом децелюляризації, зменшує системну запальну реакцію організму порівняно з групою тварин, яким моделювали травму рогівки і корекції не проводили.

Поряд із пригніченням зростання активності прозапальних цитокінів нанесення механічної травми рогівки спричинило підвищення на 13,4 % концентрації протизапального цитокіна – IL-4 на 3-тю добу спостереження з подальшим зниженням цього показника до 28-ї доби, коли він склав 76,9 % від рівня тварин без змодельованої патології. Застосування строми ксеноро-

гівки мало нормалізуючий вплив на вміст цього цитокіна. Зокрема, на 3-тю добу показник також зростав аналогічно до показника тварин, яким хірургічної корекції не проводили. Однак із 7-ї доби спостереження відзначили суттєву різницю: якщо у кролів без хірургічної корекції концентрація IL-4 знижувалась, то при її виконанні цього не відбувалось. Відповідно, на 7-му добу показник був на 13,1 % вищим, ніж у тварин без корекції, на 14-ту – на 13,6 %, на 28-му – на 10,9 %, перебуваючи фактично на рівні кролів без змодельованої патології. Таке зростання рівня протизапального IL-4 свідчить, на нашу думку, про активацію гуморального імунітету.

Аналіз IЗА показав гіперреактивний тип імунної реакції протягом усього експерименту в кролів, яким хірургічної корекції не проводили, з дисбалансом цитокінової продукції в бік переважання рівня прозапальних інтерлейкінів. При цьому максимальні зміни зафіксовано на 3-тю і 7-му доби – зростання, відповідно, в 1,4 та 1,3 раза порівняно з тваринами, яким хірургічної корекції не виконували. Хірургічна корекція супроводжувалась активацією компенсаторних механізмів, про що свідчила позитивна динаміка IЗА. Так, уже із 7-ї доби він достовірно не відрізнявся від показника тварин без змодельованої патології, досягаючи максимально наближених до норми значень через 28 дів спостереження. Одержані результати вказують на відмінність типу імунної відповіді після нанесення механічної травми рогівки: у тварин, яким моделювали механічну травму рогівки і хірургічної корекції не проводили, він був гіперреактивним, а за умов хірургічної корекції з використанням строми рогівки, отриманої методом децелюляризації, – компенсаторним (див. табл.).

**ВИСНОВКИ.** 1. За умови експериментальної непроникної механічної травми рогівки зростає концентрація прозапальних цитокінів з максимумом на 3-тю добу після нанесення травми. Поряд із цим спостерігають фазові зміни вмісту протизапального цитокіна – інтерлейкіну-4: збільшення на 3-тю добу та зменшення в інші терміни спостереження.

2. У тварин, яким моделювали механічну травму рогівки і корекції не проводили, має місце гіперреактивний тип імунної відповіді, а за умов хірургічної корекції з використанням строми рогівки, отриманої методом децелюляризації, – компенсаторний.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Хадикіна Т. О. Соціальні основи зниження очного травматизму / Т. О. Хадикіна // Мед. перспективи. – 2004. – 9, № 3. – С. 141–145.
2. Pleyer U. Corneal immunology and transplantation. General aspects. In: Keizer R. J. W., Jager M., Kijlstra A., editors. *Handbook of Ocular Immunology*. Buren: Aeolus Press, 1998. – P. 73–94.
3. Острікова Т. О. Оцінка індивідуальної реакції тканин рогівки на травму шляхом дослідження сльозової рідини / Т. О. Острікова, І. Л. Мунтян // Медицина транспорту України. – 2012. – № 2. – С. 78–81.
4. Турчин М. В. Особливості імунологічної реактивності за умови експериментальної механічної непроникаючої травми рогівки при консервативному і хірургічному лікуванні / М. В. Турчин, І. М. Кліщ // *Journal of Health Sciences*. – 2014. – 4, No. 11. – P. 397–402.
5. Салдан Й. Р. Особливості клініки та ефективність лікування травматичних катаракт / Й. Р. Салдан, О. О. Андрушкова, Д. А. Алі // *Офтальмол. журн.* – 2003. – № 3. – С. 59–61.
6. Stephen C. T-helper cytokines in dry eye disease / C. Pflugfelder, R. Corrales, C. de Paiva // *Experimental Eye Research*. – 2013. – 117. – P. 118-125.
7. Torres P. The role of cytokines in corneal immunopathology / P. Torres, A. Kijlstra // *Ocular Immunology and Inflammation*. – P. 9–24. Published online: 2009
8. Boehm N. Proinflammatory cytokine profiling of tears from dry eye patients by means of antibody microarrays / N. Boehm // *Investig. Ophthalmol.* – 2011. – 52. – P. 7725–7730.
9. Sotozono C. Second Injury in the Cornea: The role of inflammatory cytokines in corneal damage and repair / C. Sotozono // *Cornea*. – 2000. – 19 (6). – P. 155–159.
10. Експериментальне обґрунтування і перший досвід використання ксенорогівки при лікувально-тектонічній кератопластиці у хворих із виразками рогівки різної етіології [Електронний ресурс] / Н. В. Пасечнікова, С. А. Якименко, В. В. Бігуняк, М. В. Турчин // *Новости медицины и фармации. Офтальмология*. – 2012. – № 417. – Режим доступу : <http://www.mif-ua.com/archive/article/28928> (дата звернення: 16.11.2014).
11. Пат. 52278 Україна, МПК А61К35/36, А61К35/44. Біоімплантат / Пасечнікова Н. В., Турчин М. В., Бігуняк В. В., Якименко С. А., Будник О. І., Насінник І. О. – № u 2010 00349 ; заявл. 15.01.10 ; опубл. 25.08.10, Бюл. № 16.
12. Herasymets Yu. Reaction of the humoral immunity link on the impermeable corneal injury at the conservative and surgical treatment method / A. Yu. Herasymets, A. A. Gudima, I. I. Herasymets // *Journal of Health Sciences*. – 2013. – 3 (11). – P. 289–296.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – 123. – P. 52.
14. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 155 с.
15. Деклараційний патент на корисну модель № 101707, 25.09.2015 МПК(2006.01) А61F9/01, А61P27/02, А61N7/02 (2006.01). Спосіб отримання еквівалента строми рогівки для кератопластики / Коган Б. М., Пасечнікова Н. В., Насінник І. О., Коломійчук С. Г. ; власник Державна установа "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України". – № u2015032153 ; заявл. 06.04.15 ; опубл. 25.09.15, Бюл. № 18/2015.

## REFERENCES

1. Khadykina, T.O. (2004). Social foundations of eye injury reduction. *Med. Perspektyvy*, 3. 141-145 [in Ukrainian].
2. Pleyer, U., Keyzer, R.J.W., Jager, M., Kijlstra, A. (1998). Corneal immunology and transplantation. General prospects. *Handbook of Ocular Immunology*. Buren: Aeolus Press, 73-94 [in Ukrainian].
3. Ostriкова, T.O., Muntyan, I.L. (2012). Evaluation of the individual reaction of the tissue cornea based on the study of tear fluid. *Transport Medicine of Ukraine*, 2, 78-81 [in Ukrainian].
4. Turchyn, M.V., & Klishch, I.M. (2014). Peculiarities of the conditions of the immunological reaction for experimental-mechanical non penetrating corneal injury during conservative and surgical treatment. *Journal of Health Sciences*. 4, (11), 397-402 [in Ukrainian].
5. Saldan, Y.R., & Andrushkova, D.A.Ali. (2003). Features of the clinic and effectiveness of treatment of traumatic cataracts. *Ophthalmological Journal*, 3, 59-61 [in Ukrainian].
6. Stephen C. Pflugfelder, Rosa M. Corrales, & Cintia S. de Paiva. (2013). T helper cytokines in dry eye disease. *Experimental Eye Research*, 117, 118-125.
7. Paulo F. Torres, & Aize Kijlstra. (2009). The role of cytokines in corneal immunopathology. *Ocular Immunology and Inflammation*, 9-24. Published online
8. Boehm, N. (2011). Proinflammatory cytokine profiling of tears from dry eye patients by means of antibody microarrays. *Investig. Ophthalmol.*, 52, 7725-7730
9. Sotozono, C. (2000). Second injury in the Cornea: The role of inflammatory cytokines in corneal damage and repair. *Cornea*, 19 (6), 155-159.
10. Pasychnikova, N.M., Yakymenko, S.A., Bihunyak, V.V., & Turchyn, M.V. (2012). Experimental justification and the first experience of using a xenocornea during therapeutic tectonic keratoplasty in patients with corneal ulcers of various etiologies. *News of Medicine in Pharmacy. Ophthalmology*. 417. URL <http://www.mif-ua.com/archive/article/28928>
11. Pasichnykova, N.V., Turchyn, M.V., Bihunyak, V.V., Yakymenko, S.A., Budnyk, O.I., & Nasinnyk, I.O. Bio-implant : pat. 52278 Ukraine, МПК А61К35/36, А61К35/44. № u 2010 00349 ; zayavl. 15.01.2010 ; opubl. 25.08.2010. Byul. № 16. 6 s [in Ukrainian].
12. Herasymets, Yu., Gudima, A.A., & Herasymets, I.I. (2013). Reaction of the humoral immunity link on the

impermeable corneal injury at the conservative and surgical treatment method. *Journal of Health Sciences*, 3 (11), 289-296.

13. (1986). *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Council of Europe. Strasbourg.

14. Kozhemyakin, Yu.V., Khromov, O.S., Filonenko, M.A. & Sayfetdinova, H.A. (2002). *Scientific and practical recommendations for keeping laboratory animals and working with them*. *Avitsena*, 155 .

15. Kohan, B.M., Pasychnikova, N.V., Nasinnyk I.O., Kolomyichuk S.H. Declaratory patent for a utility model No. 101707, 25.09.2015 MPK(2006.01) A61F9/01, A61R27/02, A61N7/02 (2006.01). The method of obtaining the equivalent stroma of the cornea during keratoplasty. Owner: Derzhavna ustanova "Institute of the eye diseases and tissue therapy named after. V. P. Filatova NAMN Ukraine". – № u2015032153 ; zayavl. 06.04.15 ; opubl. 25.09.15, Byul. № 18/2015 [in Ukrainian].

S. M. Shmyr, I. M. Klishch

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## CYTOKINE STATUS OF THE BLOOD SERUM OF RABBITS WITH MECHANICAL NON-PENETRATING CORNEA INJURY AND CORRECTION WITH THE USE OF XENORNEAL STROMA OBTAINED BY THE DECELLULARIZATION METHOD

### Summary

**Introduction.** Researchers in the field of ophthalmology have proven the important role of cytokines in the immunopathogenesis of eye diseases as active bioregulators of inflammatory and reparative processes.

**The aim of the study** – to establish the peculiarities of changes in the cytokine profile of the blood of rabbits in the dynamics of surgical correction with a kerat Xenoinplant obtained by the decellularization method, under the condition of experimental mechanical non-penetrating corneal injury.

**Research Methods.** Corneal damage was reproduced on Chinchilla rabbits. In both eyes, under local epibulbar anesthesia with a 0.5 % alkaine solution and retrobulbar anesthesia with a 2 % lidocaine solution, a concentric epithelial incision was made in the upper half of the cornea with a trephine, within which the epithelium was removed together with the anterior layer of the corneal stroma with a disposable ophthalmic scalpel. The transplant material is the stroma of the pig xenocornea, obtained by the decellularization method, which was carried out by treating it with a 0.5 % solution of sodium dodecyl sulfate and, subsequently, with ultrasound followed by incubation in the presence of a 0.1 % papain solution. Determination of the concentration of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-4 (IL-4) and interleukin-6 (IL-6) was carried out by the immunoenzymatic method.

**Results and Discussion.** Our research indicates differences in the dynamics of cytokine levels in groups of animals that were simulated mechanical non-penetrating corneal injury and those that underwent surgical correction. In particular, the concentration of pro-inflammatory cytokines – TNF- $\alpha$  – increases when simulating mechanical trauma to the cornea. IL-1 $\beta$ , IL-6 with a maximum on the 3rd day of observation. By the 28th day, their concentration decreases, but is significantly higher than in animals without simulated pathology. The concentration of the anti-inflammatory cytokine IL-4 increases on the 3rd day with a further decrease until the 28th day. Surgical correction with closure of the defect using porcine xenocorneal stroma obtained by the decellularization method was accompanied by less pronounced changes in pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, and they completely normalized by the end of the experiment.

**Conclusion.** The obtained results indicate a difference in the type of immune response after mechanical corneal injury: in animals that were simulated mechanical corneal injury and no surgical correction was performed, it was hyperreactive, and under the conditions of surgical correction using the corneal stroma obtained by the decellularization method, it was compensatory.

KEY WORDS: corneal injury; surgical correction; xenoinplant; cytokines.

Отримано 12.05.23

Адреса для листування: С. М. Шмир, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: shmyr@tdmu.edu.ua.