

Субмікроскопічні зміни рогівки при її змодельованій механічній непроникаючій травмі

Мета роботи: встановити субмікроскопічні зміни рогівки за умов нанесення механічної непроникаючої травми рогівки.

Матеріали і методи. Експеримент моделювали на статевозрілих кролях породи шиншила. Тварин поділили на дві дослідні групи: перша – інтактна група тварин, друга – тварини із змодельованою непроникаючою механічною травмою рогівки. Кролям другої групи у верхній половині рогівки обох очей під місцевою анестезією наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли передній епітелій разом із верхнім шаром строми рогівки. Піддослідних тварин виводили із експерименту на 3, 7, 14 і 28 доби. Забір матеріалу для електронномікроскопічних досліджень проводили відповідно до загальноприйнятої методики. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікроскопі LKB 4801 A, контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю відповідно до методу Рейнольдса і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ – 125 К.

Результати досліджень та їх обговорення. Субмікроскопічні дослідження показали, що через 3 доби після змодельованої механічної непроникаючої травми рогівки спостерігається поліморфізм епітеліоцитів переднього епітелію із різним ступенем альтеративних змін. У деструктивно зміненій власній речовині рогівки спостерігалися розволокнення, фрагментація колагенових фібрил у складі сполучнотканинних пластинок. Через 7 діб досліду встановлено, що у периферійних ділянках епітеліоцити втратили своє поширене розташування, але у цитоплазмі клітин виявлялися помірно дистрофічно змінені органели. Сполучнотканинні пластинки строми рогівки дезорганізовані, виявляються ділянки фрагментації колагенових волокон. Через 14 діб після змодельованої травми рогівки у епітеліоцитах проявлялися ознаки деструктивних та регенераторних процесів. У власній речовині у даний термін експерименту відзначається формування грануляції. Через 28 діб після моделювання механічної непроникаючої травми рогівки встановлено, що епітеліоцити багатозарового плоского незроговілого епітелію розташовані невпорядковано, міжклітинні простори значно розширені, електроннопросвітлені. Власна речовина рогівки підлягає деструктивним і дегенеративним змінам, що проявляються значним розволокненням, фрагментацією колагенових волокон.

Ключові слова: рогівка; механічна травма; електронномікроскопічні дослідження.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Орган зору виконує низку складних функцій, спрямованих на сприйняття, обробку візуальної інформації, забезпечує сприйняття навколишнього світу і життєдіяльність людини [1–4]. Структурні компоненти первинночутливого органа чуття дуже часто ушкоджуються, особливо рогівка, яка бере участь у проходженні світла і фокусуванні зображення на сітківці, що забезпечує зір. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, на світі понад 2,2 мільярда людей мають проблеми зі зором або є сліпими [5]. У структурі травм органа зору розрізняють ушкодження, спричинені механічними (проникаючі та непроникаючі поранення, контузії очного яблука), хімічними та термічними (опіки) факторами, а також комбіновані ушкодження, зумовлені впливом кількох факторів. Основну частину становлять мікротравми – 60 %, на частку тупих травм припадає близько 30 %, проникаючих поранень – близько 2 %, опіків – 8 % від усіх випадків очних травм [6, 7]. Лікування ушкоджень рогівки залежить від їхнього характеру та тяжкості. Це може включати медикаментозну терапію, хірургічні втручання, трансплантацію рогівки та інші методи відновлення та лікування [8].

Мета роботи: встановити субмікроскопічні зміни рогівки за умов нанесення механічної непроникаючої травми рогівки.

Матеріали і методи. Експеримент моделювали на статевозрілих кролях породи шиншила. Тварин утримували у стандартних умовах віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України на загальному харчовому раціоні. Догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили із дотриманням правил “Європейської конвенції про захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986), а також відповідно до положень “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [9].

Тварин поділили на дві дослідні групи: перша – інтактна група тварин, друга – тварини із змодельованою непроникаючою механічною травмою рогівки. Кролям другої групи у верхній половині рогівки обох очей під місцевою анестезією наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем

видаляли передній епітелій разом із верхнім шаром строми рогівки. Піддослідних тварин виводили із експерименту на 3, 7, 14 і 28 доби.

Забір матеріалу для електронномікроскопічних досліджень проводили відповідно до загальноприйнятої методики [10]. Маленькі шматочки рогівки фіксували у 2,5 % розчині глютаральдегіду. Постфіксацію здійснювали у 1 % розчині тетраоксиду осмію, після проводили його дегідратацію у пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамикротомі LKB 4801 A, контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю відповідно до методу Рейнольдса і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ – 125 К.

Результати досліджень та їх обговорення.

Субмікроскопічні дослідження інтактної групи тварин показали, що передній епітелій рогівки утворений багатошаровим плоским незроговілим епітелієм, клітини якого формують різні за морфологією шари. Епітеліоцити поверхневого шару мають витягнуту, плоску форму. У електроннощільній цитоплазмі спостерігаються дрібні мітохондрії із чітко контурованими мембранами, світлим мітохондріальним матриксом та нечисельними кристами. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки добре структуровані, на їх поверхні знаходяться осміофільні рибосоми. Також у цитоплазмі відзначаються вільні рибосоми та тонкі щільні тонофіламенти. Ядра мають овальну форму із чіткою рівною каріолемою, яка на деяких ділянках формує неглибокі інвагінації. Перинуклеарний просвіт рівномірний, неширокий. Каріоплазма електронносвітла із еухроматином та осміофільними ядерцями, які ексцентрично зміщені. Епітеліоцити поверхневого шару з'єднані між собою за допомогою чисельних щільних, осміофільних десмосомальних контактів, у склад яких входять пластинки прикріплення та компоненти цитоскелету клітин.

Проміжний шар переднього епітелію рогівки представлений епітеліоцитами неправильної, остистої форми. У плазмолемі виявляються багато електроннощільних десмосом із світлими нерозширеними міжклітинними просторами (рис. 1).

У цитоплазмі наявні мембранні та немембранні органи загального та спеціального призначення. Ядра епітеліоцитів округлі із чітко контурованою двомембранною каріолемою та вузьким перинуклеарним простором (рис. 2). У світлій каріоплазмі наявний функціонально активний еухроматин, гетерохроматин розташовується локально щільними грудками, наявні одне або два

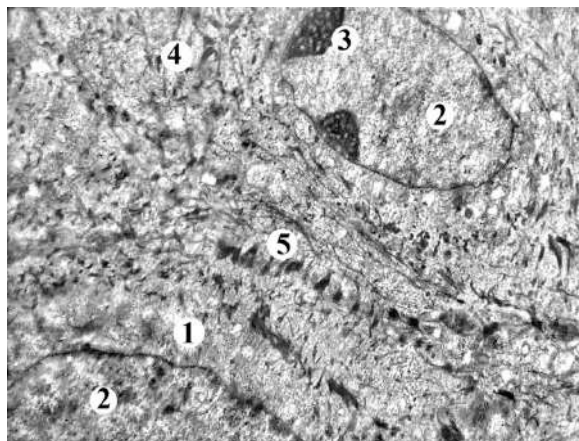


Рис. 1. Субмікроскопічний стан клітин переднього епітелію рогівки тварин інтактної групи: 1 – цитоплазма епітеліоцита, 2 – ядро, 3 – ядерце, 4 – тонофіламенти, 5 – десмосомальні міжклітинні контакти. × 7000.

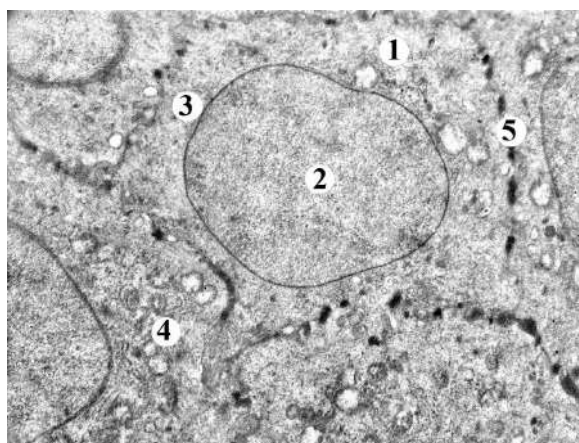


Рис. 2. Ультраструктурний стан епітеліоцитів переднього епітелію рогівки тварин інтактної групи: 1 – цитоплазма, 2 – ядро, 3 – каріолема, 4 – мітохондрії, 5 – десмосоми. × 8 000.

осміофільні ядерця із фібрилярною та аморфною частинами.

Глибокий базальний шар переднього епітелію рогівки складається із одного шару епітеліоцитів, які з'єднуються із базальною мембраною за допомогою осміофільних гемідесмосом, що розташовані на базальній частині плазмолемі клітин. На латеральних сторонах та апікальній частині плазмолемі наявні чисельні зв'язувальні міжклітинні контакти. У цитоплазмі спостерігаються короткі, чітко контуровані канальця гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі, багато невеликих, дрібних мітохондрій із електроннонещільним матриксом та типовими кристами. Виявляються поодинокі осміофільні рибосоми, вільні рибосоми та тонофіламенти.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Округлі ядра розташовані ближче до базального полюсу, містять добре структуровану каріолему та світлу каріоплазму із переважанням еухроматину, відзначається одне, два осміюфільних ядерця. У базальному шарі часто спостерігаються епітеліоцити у різних фазах мітозу. Субмікроскопічно, базальна мембрана представлена електронноосвітлою та темною пластинкою і переходить у передню пограничну пластинку – мембрану Боумена.

Строма рогівки сформована сполучнотканинними пластинками, які розташовані паралельно відносно поверхні рогівки. Пластинки побудовані із помірно електроннощільних колагенових фібрил і можуть мати вигляд чисельних ниток або крапок залежно від площі перерізу. У проміжках між сполучнотканинними пластинками відзначаються сплюснені відростчасті фіброцити – кератиноцити, відростки клітин повторюють шлях залягання пластинок (рис. 3). Клітини характеризуються вузьким обідком цитоплазми навколо подовгастого ядра. У електроннощільній цитоплазмі спостерігаються поодинокі каналця гранулярної ендоплазматичної сітки із рибосомами на поверхні, дрібні мітохондрії, багато вільних осміюфільних рибосом. Ядро має добре контуровану каріолему із нечисельними ядерними порами. У каріоплазмі переважає помірно електроннощільний гетерохроматин, над локально розташованим еухроматином.

У власній речовині рогівки виявляються популяція кератиноцитів із більшими об'ємами цитоплазми і активним продукуванням компонентів міжклітинної речовини – зрілі фібробласти (рис. 4). Дані клітини характеризуються добре роз-

виною мережею каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, на поверхні яких багато фіксованих рибосом, виявляється комплекс Гольджі із цистернами і впорядкованими пухирцями. Мітохондрії мають чітко контуровану зовнішню мембрану та внутрішню мембрану, яка утворює вгинання – кристи, матрикс частково просвітлений. У еухроматиновому ядрі наявна чітка каріолема із чисельними ядерними порами, перинуклеарний простір нерозширений. По всій площі зрілих фібробластів відзначаються скупчення колагенових фібрил, які продукуються даними клітинами. Сполучнотканинні пластинки у стромі рогівки оточені електронноосвітлою основною аморфною речовиною, яка закономірно чергується із ними.

Власна речовина рогівки межує із задньою граничною пластинкою – мембраною Десцеме і складається із фібрилярного, гранулярного та аморфного компонентів. Задній епітелій рогівки представлений одношаровим плоским епітелієм. У базальному полюсі епітеліоцитів відзначаються чисельні осміюфільні напівдесмосоми, які скріплюють епітеліальний пласт із базальною мембраною. Міжклітинні простори вузькі, нерозширені. У цитоплазмі наявні невеликі мітохондрії із чіткими кристами та світлим мітохондріальним матриксом. Наявні каналця гранулярної ендоплазматичної сітки, цистерни комплексу Гольджі. Виявляються поодинокі електроннощільні лізосоми. Еліпсоподібної форми ядра мають чітку каріолему, в каріоплазмі наявний функціонально активний світлий хроматин та осміюфільний маргінально розташований гетерохроматин.

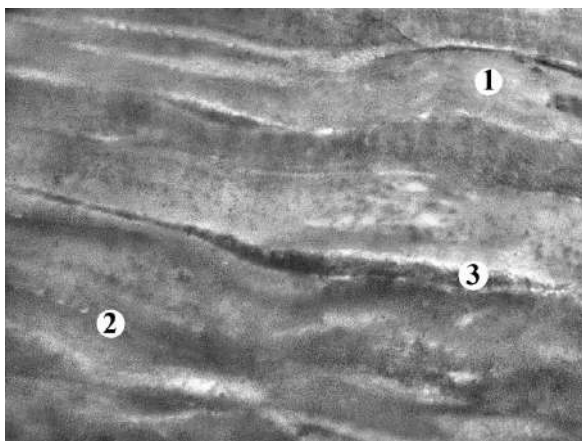


Рис. 3. Субмікроскопічний стан стромы рогівки тварин інтактної групи: 1 – світла сполучнотканинна пластинка, 2 – темна сполучнотканинна пластинка, 3 – відросток кератиноцита. $\times 7\ 000$.

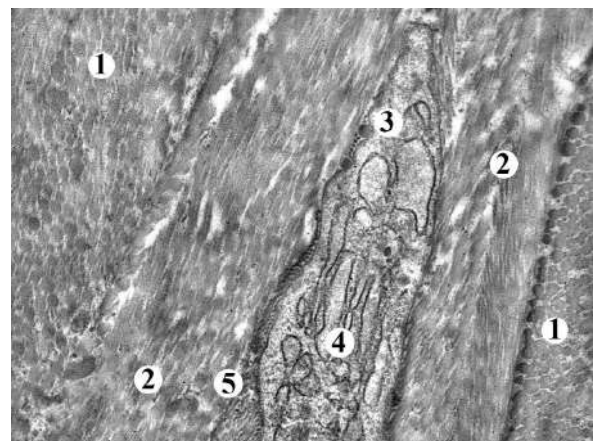


Рис. 4. Субмікроскопічний стан власної речовини рогівки тварин інтактної групи: 1 – поперечний переріз колагенових волокон, 2 – повздовжній зріз сполучнотканинних пластинок, 3 – фрагмент зрілого фібробласта, 4 – каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, 5 – синтез волокнистих компонентів міжклітинної речовини. $\times 12\ 000$.

Субмікроскопічні дослідження показали, що через 3 доби після змодельованої механічної непроникаючої травми рогівки спостерігається поліморфізм епітеліоцитів переднього епітелію із різним ступенем альтеративних змін. Виявлялися епітеліоцити із гомогенною осміофільною цитоплазмою із фрагментами мембранних та немембранних органел. Плазмолема нечітко контурована, на деяких ділянках якої відзначається відсутність десмосом або їх складові значно ушкоджені, міжклітинні простори розширені, просвітлені (рис. 5). Гетерохроматинове ядро розташовується ексцентрично, воно електроннощільне, осміофільне із деформованою, на деяких ділянках гомогенною каріолемою, яка формує значні інвагінації. У поодиноких епітеліоцитів наявні осміофільні ядерця.

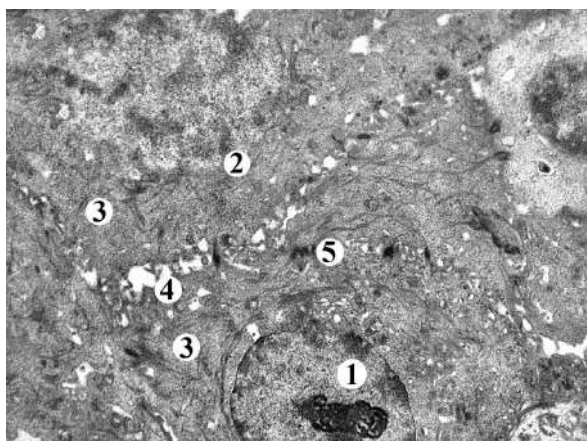


Рис. 5. Ультраструктурні зміни епітеліоцитів рогівки кроля через 3 доби після змодельованої механічної непроникаючої травми: 1 – осміофільне ядро з ядерцем, 2 – нечітка каріолема, 3 – гомогенна цитоплазма, 4 – розширені міжклітинні простори, 5 – десмосоми. × 7000.

У деструктивно зміненій власній речовині рогівки спостерігалися розволокнення, фрагментація колагенових фібрил у складі сполучнотканинних пластинок. Виявлялися електроннопросвітлені ділянки аморфної речовини, що вказувало на значний набряк. Хвилеподібна структура пластинок втрачалася і набувала більш звивистого розташування (рис. 6). У проміжках між ушкодженими помірно осміофільними колагеновими волокнами розташовані електроннощільні тіла кератиноцитів із гетерохроматинним ядром і однорідною осміофільною цитоплазмою. У деструктивно зміненій власній речовині рогівки спостерігалися розволокнення, фрагментація колагенових фібрил у складі сполучнотканинних пластинок.

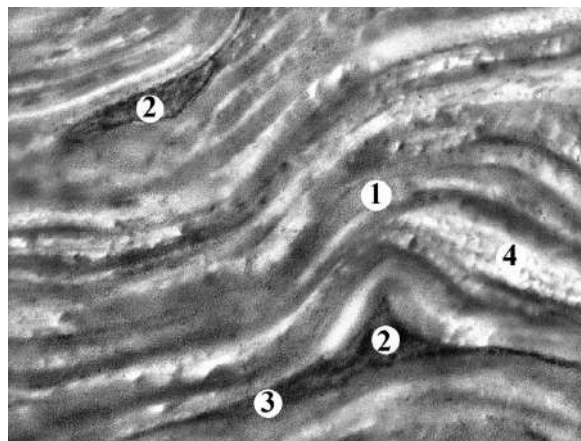


Рис. 6. Субмікроскопічні зміни власної речовини рогівки кроля через 3 доби після змодельованої механічної непроникаючої травми: 1 – хвилеподібний хід сполучнотканинних пластинок, 2 – ядра кератиноцитів, 3 – осміофільні відростки кератиноцитів, 4 – набряк аморфної речовини. × 7000.

На субмікроскопічному рівні через 7 діб після моделювання механічної непроникаючої травми рогівки встановлено, що у периферійних ділянках епітеліоцити втратили своє пошарове розташування, але у цитоплазмі клітин виявлялися помірно дистрофічно змінені органели (рис. 7). Мітохондрії мали просвітлений мітохондріальний матрикс, фрагментовані кристи і локально гомогенну мембрану. Поодинокі канальця гранулярної ендоплазматичної сітки потовщені, набрякли або значно стоншені, дезорганізовані. У ядрах епітеліоцитів каріоплазма електроннощільна за рахунок переважання осміофільного гетерохроматину, ка-

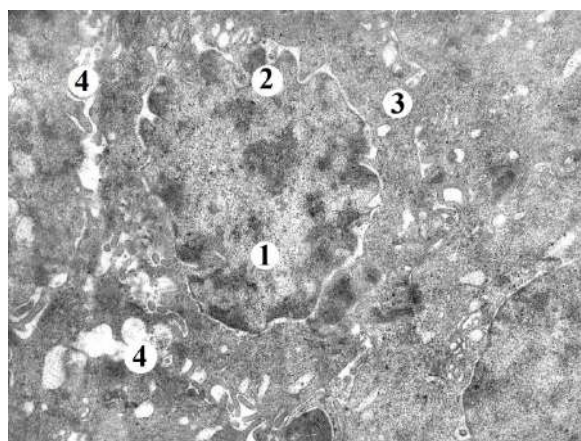


Рис. 7. Субмікроскопічні зміни епітеліального пласта рогівки кроля через 7 діб після змодельованої механічної непроникаючої травми: 1 – ядро епітеліоцита, 2 – інвагінації каріолеми, 3 – осміофільна цитоплазма, 4 – розширені міжклітинні простори. × 8000.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ріолема формує глибокі інвагінації, перинуклеарний простір розширений.

Сполучнотканинні пластинки строми рогівки через 7 днів експерименту дезорганізовані, виявляються ділянки фрагментації колагенових волокон. У проміжках між якими розташований набряклий, електроннопросвітлений аморфний компонент власної речовини рогівки. Кератиноцити перебувають у стані значної деструкції, що проявляється нечіткими, часто гомогенними контурами плазмолем, цитоплазма осміюфільна із uszkodженими органелами загального призначення. Продуктування компонентів міжклітинного матриксу здійснюється локально. Ядра фіброцитів мають погано структуровану каріолему, перинуклеарний простір локально розширений, у каріоплазмі розташований електроннощільний, конденсований хроматин (рис. 8).

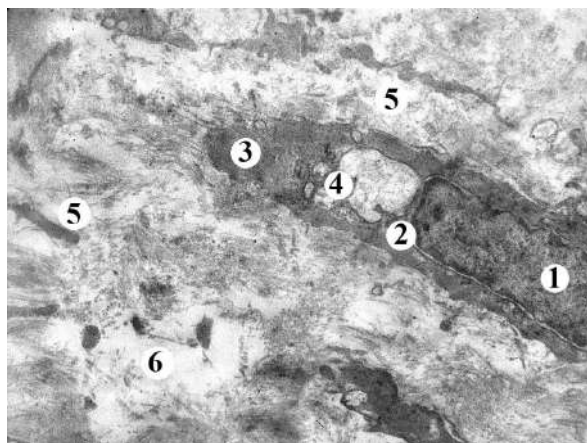


Рис. 8. Ультраструктурні зміни власної речовини рогівки кроля через 7 днів після змодельованої механічної непроникаючої травми: 1 – ядро фібробласта, 2 – інвагінації каріолем, 3 – електроннощільна цитоплазма, 4 – деструктивно змінені каналці ендоплазматичної сітки, 5 – фрагментовані колагенові фібрили, 6 – аморфний матрикс. $\times 10\ 000$.

Субмікроскопічно через 14 днів після змодельованої травми рогівки у епітеліоцитах проявлялися ознаки деструктивних та регенераторних процесів. На плазмолемі клітин виявлялися багато осміюфільних десмосомальних контактів, проте міжклітинні проміжки були розширені. У цитоплазмі відзначалися дрібні мітохондрії із помірно електроннощільним мітохондріальним матриксом, кристи мали порушену будову, зовнішня і внутрішня оболонка на деяких ділянках гомогенна, нечітка. Виявлялися потовщені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, які містили небагато фіксованих рибосом. Спостерігалися поодинокі, дрібні, осміюфільні лі-

зосоми. Ядро епітеліоцитів деформоване, але у каріоплазмі відзначаються електроннощільні осередки еухроматину, проте щільний конденсований хроматин займає більшу частину, інколи виявляються осміюфільні ядерця (рис. 9).

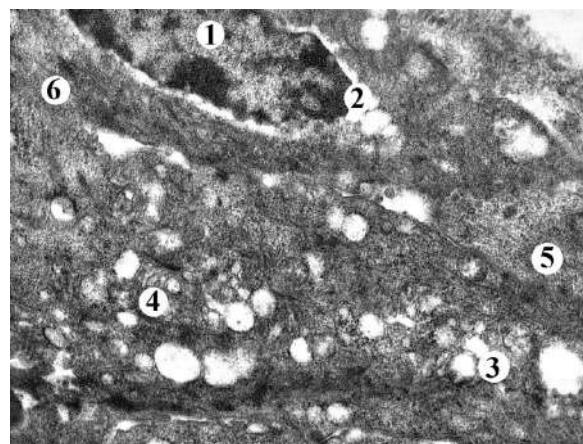


Рис. 9. Субмікроскопічні зміни епітеліоцитів рогівки через 14 днів після змодельованої механічної непроникаючої травми: 1 – пікнотичне ядро, 2 – нечітка каріолема із інвагінаціями, 3 – вакуолізована цитоплазма, 4 – uszkodжені мітохондрії, 5 – фрагментовані тонофіламенти, 6 – гомогенна плазмолема. $\times 9000$.

У власні речовини у даний термін експерименту відзначається формування грануляцій. Виявляються місця формування гемокапілярів, кератиноцити мають дещо просвітлену цитоплазму, в навколядерній зоні якої відзначаються фрагменти мітохондрій, каналців гранулярної ендоплазматичної сітки. Сполучнотканинні пластинки на деяких ділянках значно звивисті або розташовуються паралельними рядами. Проміжки між колагеновими фібрилами значно просвітлені, що вказує на набряк аморфного компоненту строми рогівки. Зрілі фібробласти мають нечітко контуровану плазмолему, місцями гомогенну (рис. 10).

На субмікроскопічному рівні через 28 днів після моделювання механічної непроникаючої травми рогівки встановлено, що епітеліоцити багатощарового плоского незроговілого епітелію розташовані невпорядковано, міжклітинні простори значно розширені, електроннопросвітлені (рис. 11). Локально спостерігається значне порушення будови у десмосомальних міжклітинних контактів. У електроннощільній, вакуолізованій цитоплазмі епітеліоцитів виявляються набряклі мітохондрії із просвітленим мітохондріальним матриксом, редукованими кристами, подекуди нечіткою зовнішньою і внутрішньою мембраною. Канальці ендоплазматичної сітки і цистерни комплексу Гольджі

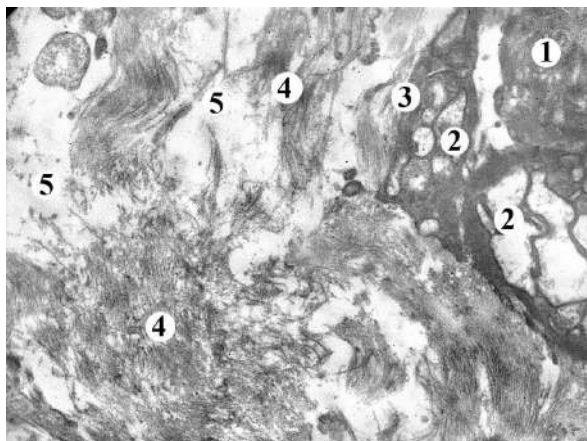


Рис. 10. Субмікроскопічні зміни строми рогівки через 14 днів після змодельованої механічної непроникаючої травми: 1 – осміофільне ядро фібробласта, 2 – розширені, деструктивно змінені каналця ендоплазматичної сітки, 3 – нечітка плазмолема, 4 – окремі колагенові мікрофібрили, 5 – набрякла аморфна речовина. × 8000.

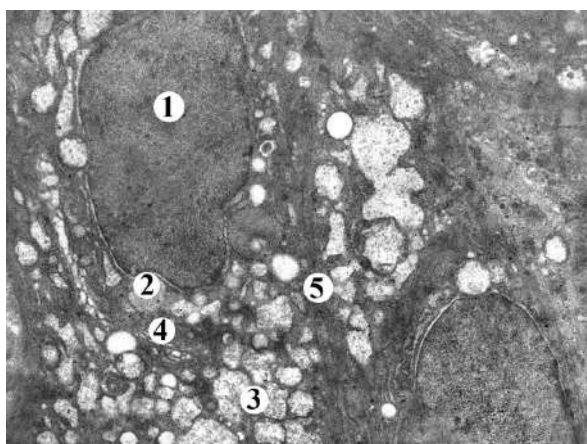


Рис. 11. Субмікроскопічні зміни епітелію рогівки через 28 днів після змодельованої механічної непроникаючої травми: 1 – ядро епітеліоцита, 2 – розширений перинуклеарний простір, 3 – вакуолізована цитоплазма, 4 – комплекс Гольджі, 5 – нечітка плазмолема. × 8000.

потовщені або значно стоншені. Гетерохроматинні ядра епітеліоцитів осміофільні із гомогенною на окремих ділянках каріолемою, яка утворює інвагінації, перинуклеарний простір розширений.

Власна речовина рогівки підлягає деструктивним і дегенеративним змінам, що проявляються значним розволокненням, фрагментацією колагенових волокон. Сполучнотканинні пластинки дезорганізовані, втрачають паралельне розташу-

вання. Аморфна речовина набрякла, електронно-просвітлена. Зрілі фібробласти характеризуються електронно-світлою цитоплазмою із ушкодженою мережею поодиноких, стоншених каналців ендоплазматичної сітки, мітохондрії вакуолізовані із нечіткими мембранами. Ядро у стадії каріопікнозу із гомогенною на деяких ділянках каріолемою, перинуклеарний простір розширений нерівномірно (рис. 12).

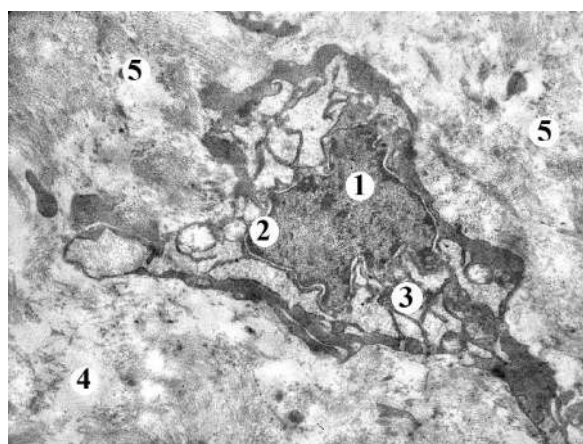


Рис. 12. Субмікроскопічні зміни власної речовини рогівки через 28 днів після змодельованої механічної непроникаючої травми: 1 – каріопікноз ядра фібробласта, 2 – розширений перинуклеарний простір, 3 – деструктивно змінені цитоплазма, 4 – аморфний матрикс, 5 – фрагментовані колагенові волокна. × 8000.

Каріоплазма фібробласта заповнена осміофільним, електроннощільним функціонально неактивним хроматином. Дані порушення у структурі ядра, мембранних і немембранних органел вказують на значне сповільнення та інактивацію продукування колагенових фібрил.

Висновки. Електронномікроскопічні дослідження рогівки показали, що за умов змодельованої механічної непроникаючої травми спостерігаються зміни у складових частинах рогівки, які проявляються порушенням електронної щільності в епітеліоцитах, ушкодженням і подальшим руйнуванням міжклітинних контактів, прогресуванням некротичних змін. Відбуваються значні дегенеративні зміни у власній речовині рогівки, що проявляються деструкцією колагенових волокон у складі сполучнотканинних пластинок, значних дистрофічних змін зазнають фібробласти, кератиноцити.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Apoptosis in Rat Cornea After In Vivo Exposure to Ultraviolet Radiation at 300 nm / M. N. Kronschläger, Yu. Z. Talebizadeh, L. M. Meyer, S. Löfgren // *Cornea*. – 2015. – Vol. 34 (8). – P. 945–949. DOI: 10.1097/ICO.0000000000000498.
2. Wilson S. E. Corneal wound healing / S. E. Wilson. – *Exp. Eye Res.* – 2020. – Vol. 197. – P. 108089. DOI: 10.1016/j.exer.2020.108089.
3. Finite element analysis and experimental evaluation of penetrating injury through the cornea / S. T. Lovald, A. Rau, S. Nissman [et al.] // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* – 2017. – Vol. 66. – P. 104–110. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2016.11.001.
4. Belknap E. B. Corneal Emergencies / E. B. Belknap // *Top Companion Anim. Med.* – 2015. – Vol. 30 (3). – P. 74–80. DOI: 10.1053/j.tcam.2015.07.006.
5. Морфофункціональні особливості структурних компонентів очного яблука в порівняльно-видовому аспекті та при різних патологічних процесах (оглядова стаття) / Слободян О. М., Вовк О. Ю., Челпанова І. В., Гнідик Ю. В. // *Морфологія*. – 2022. – Т. 16, № 3. – С. 7–14. DOI: 10.26641/1997-9665.2022.3.7-14
6. Corneal injury: Clinical and molecular aspects / B. Barrientez, S. E. Nicholas, A. Whelchel [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2019. – P. 186. DOI: 10.1016/j.exer.2019.107709.
7. Ocular injury progression and cornea histopathology from chloropicrin vapor exposure: Relevant clinical biomarkers in mice / O. O. Ebenezar, A. Roney, D. G. Goswami [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2023. – 230. – 109440. DOI: 10.1016/j.exer.2023.109440.
8. Гістологічне і електронно-мікроскопічне дослідження кератоксеноімплантата при різних видах консервації / Турчин М. В., Волков К. С., Кліщ І. М., Борис Р. М. // *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. – 2016. – 25 (1). – С. 73-77. DOI: 10.11603/1811-2471.2016.v25.i1.6033
9. Кожемякін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін. – Київ, 2002. – 155 с.
10. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2011. – 288 с.

REFERENCES

1. Kronschläger, M.N., Talebizadeh, Yu, Z., Meyer, L.M., & Löfgren, S. (2015). Apoptosis in rat cornea after in vivo exposure to ultraviolet radiation at 300 nm. *Cornea*, 34(8), 945-949.
2. Wilson, S.E. (2020). Corneal wound healing. *Exp Eye Res.*
3. Lovald, S. T., Rau, A., Nissman, S., Ames, N., McNulty, J., Ochoa, J. A., & Baldwinson, M. (2017). Finite element analysis and experimental evaluation of penetrating injury through the cornea. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 66, 104-110.
4. Belknap, E. B. (2015). Corneal emergencies. *Topics in Companion Animal Medicine*, 30 (3), 74-80.
5. Slobodian, O.M., Vovk, O.Iu., Chelpanova, I.V., Hnidyk, Yu.V. (2022). Morfofunktsionalni osoblyvosti strukturnykh komponentiv ochnoho yabluka v porivnialno-vydovomu aspekti ta pry riznykh patolohichnykh protsesakh (ohliadova stattia) [Morpho-functional features of the structural components of the eyeball in a comparative-species aspect and in various pathological processes (review article)]. *Morfolohiia – Morphology*, 16 (3), 7-14 [in Ukrainian].
6. Barrientez, B., Nicholas, S. E., Whelchel, A., Sharif, R., Hjortdal, J., & Karamichos, D. (2019). Corneal injury: Clinical and molecular aspects. *Experimental Eye Research*, 186, 107709.
7. Ebenezar, O.O., Roney, A., Goswami, D.G., Petrash, J.M., Sledge, D., Komáromy, A.M., ... & Tewari-Singh, N. (2023). Ocular injury progression and cornea histopathology from chloropicrin vapor exposure: Relevant clinical biomarkers in mice. *Experimental Eye Research*, 230, 109440.
8. Turchyn, M.V., Volkov, K.S., Klishch, I.M., & Borys, R.M. (2016). Histolohichne i elektronno-mikroskopichne doslidzhenia keratoksenoimplantata pry riznykh vydakh konservatsii [Histological and electron microscopic examination of keratoxenoimplant with different types of preservation]. *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyny – Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, 25 (1), 73-77 [in Ukrainian].
9. Kozhemiakin, Yu.M. (2002). *Naukovo-praktychni rekomendatsii z utrymannia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy* [Scientific and practical recommendations for keeping laboratory animals and working with them]. Kyiv [in Ukrainian].
10. Goralskiy, L.P., Homich, V.T., & Kononskiy, O.I. (2011). *Fundamentals of histological technique and morphofunctional methods of research in norm and in pathology*. Zhytomyr: Polissia [in Ukrainian]

Отримано 03.05.2023

Електронна адреса для листування: shmyr@tdmu.edu.ua

S. M. SHMYR, N. V. OHINSKA

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

SUBMICROSCOPIC CHANGES OF THE CORNEA DURING ITS SIMULATED MECHANICAL NON-PENETRATING INJURY

The aim of the work: to establish submicroscopic changes of the cornea under the conditions of inflicting mechanical non-penetrating trauma to the cornea.

Materials and Methods. The experiment was modeled on sexually mature chinchilla rabbits. The animals were divided into two research groups: the first – an intact group of animals, the second – animals with a simulated non-penetrating mechanical injury of the cornea. The rabbits of the second group were subjected to a concentric epithelial incision in the upper half of the cornea of both eyes under local anesthesia, within which the anterior epithelium was removed together with the upper layer of the corneal stroma with a disposable ophthalmic scalpel. Experimental animals were withdrawn from the experiment on 3, 7, 14 and 28 days. The collection of material for electron microscopic studies was carried out in accordance with the generally accepted methodology. Ultrathin sections made on an LKB 4801 A ultramicrotome were contrasted with uranium acetate and lead citrate according to the Reynolds method and studied in a TEM electron microscope at 125 K.

Results and Discussion. Submicroscopic studies showed that 3 days after the simulated mechanical non-penetrating injury of the cornea, polymorphism of the epitheliocytes of the anterior epithelium with varying degrees of alterative changes is observed. Defibrillation and fragmentation of collagen fibrils in the composition of the connective tissue plates were observed in the destructively changed corneal substance. After 7 days of the experiment, it was established that the epitheliocytes lost their layered arrangement in the peripheral areas, but moderately dystrophically altered organelles were found in the cytoplasm of the cells. The connective tissue plates of the corneal stroma are disorganized, areas of fragmentation of collagen fibers are revealed. 14 days after simulated corneal injury, epitheliocytes showed signs of destructive and regenerative processes. The formation of granulations is noted in the substance itself during this period of the experiment. 28 days after simulation of a mechanical non-penetrating corneal injury, it was established that the epitheliocytes of the multi-layered flat non-keratinized epithelium are arranged in a disorderly manner, the intercellular spaces are significantly expanded, and electron-illuminated. The cornea's own substance is subject to destructive and degenerative changes, manifested by significant fibrinization and fragmentation of collagen fibers.

Key words: cornea; mechanical injury; electron microscopic studies.