

ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УВЕЇТУ У КРОЛІВ НА ФОНІ ВВЕДЕННЯ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

*Р. Р. Бокотько¹, канд. вет. наук,
Т. Л. Савчук¹, канд. вет. наук,
О. В. Шурик¹, здобувач,
В. Б. Данілов¹, канд. вет. наук, доцент,
Л. В. Кладницька¹, д-р вет. наук, доцент,
О. С. Пасніченко², канд. вет. наук,
Р. С. Благий³, викладач, завідувач відділенням ветеринарної медицини,
Ю. М. Кристиняк⁴, лікар ветеринарної медицини*

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ-41, 03041, Україна
t_sav4uk@ukr.net

²Одеський державний аграрний університет
вул. Пантелеймонівська, 13, м. Одеса, 65000 Україна

³Рогатинський державний аграрний коледж
вул. М. Шашкевича, 61, м. Рогатин, Івано-Франківська обл., 77001, Україна

⁴Соколівська ветеринарна лікарня
вул. І. Франка, 33, м. Косів, Івано-Франківської обл., 78604, Україна

У статті висвітлено результати гістологічного дослідження експериментального увеїту у кролів за введення аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин. Ці результати досліджень дають можливість аналізувати та в подальшому вивчати вплив аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин за клінічних випадків увеїту в тварин.

Увеїт є симптомом багатьох хвороб, які призводять до повільної функціональної і анатомічної загибелі ока. За увеїту виникає запалення середньої (судинної) оболонки ока, яка складається з хоріоїдеї, циліарного тіла і райдужної оболонки. Використання комплексної терапії часто згладжує клінічну картину прогресуючого внутрішньо очного запалення, сприяючи збільшенню його латентного періоду. Все це з особливою актуальністю вказує на необхідність дослідження використання стовбурових клітин при хворобах очей у тварин.

Проведені нами гістологічні дослідження, з відновлення тканин ока за введених аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин, свідчать про їх ефективне використання за увеїту у тварин. Стовбурові клітини діють як регулятор проліферації в пошкоджені тканини ока і викликають цитодиференціацію в процесі регенерації клітин, активують синтез протизапальних медіаторів та підсилюють власні антиоксидантні властивості.

Встановлено, що за допомогою аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин, вже на 7 добу експерименту відмічали зменшення потовщення стромы рогівки, а на 14 добу – відновлення переднього поверхневого епітелію. Також, на 30 добу експерименту, відмічали практично повне відновлення ушкоджених тканинних структур ока та закінчення запального процесу. Тобто, гістологічні дослідження свідчать не тільки про відновлювальну функцію ушкоджених тканинних структур за допомогою аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин, але й про вплив на інтенсивність запального процесу, що значно зменшує терміни репарації тканин ока на рівні клітин і тканин.

Отримані дані з використанням стовбурових клітин, можуть бути використані для нових сучасних методів лікування багатьох патологій ока в офтальмології.

Ключові слова: УВЕЇТ, КРОЛІ, АЛОГЕННІ МЕЗЕНХІМАЛЬНІ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ, ОКО, ТЕНЕТИЙОВИЙ ПРОСТІР, РОГІВКА, ЛІМБА, ЕПІТЕЛІЙ.

HISTOLOGICAL CHANGES IN EXPERIMENTAL UVEITIS IN RABBITS WITH STEM CELL INJECTIONS

*R. R. Bokotko¹, T. L. Savchuk¹, O. V. Shupyk¹, V. B. Danilov¹, L. V. Kladnytska¹,
O. S. Pasnichenko², R. S. Blahyi³, Y. M. Krystyniak⁴*

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
15, Herois Oborony str., Kyiv-41, 03041, Ukraine
t_sav4uk@ukr.net

²Odessa state Agrarian University
13, Panteleimonovskaya str., Odessa, 65000, Ukraine

³Rohatyn State Agricultural College
61, M. Shashkevycha str., Rohatyn, Ivano-Frankivsk region, 77001, Ukraine

⁴Sokolivska veterinary hospital
33, I. Franko str., Kosiv, Ivano-Frankivsk region, 78604, Ukraine

The article presents the results of histological examination of experimental uveitis in rabbits with the introduction of allogeneic mesenchymal stem cells. These research results make it possible to analyze and further study the effects of allogeneic mesenchymal stem cells in clinical cases of uveitis in animals.

Uveitis is a symptom of many diseases that lead to slow functional and anatomical death of the eye. Uveitis causes inflammation of the middle (vascular) membrane of the eye, which consists of the choroid, ciliary body and iris. The use of complex therapy often smooths out the clinical picture of progressive intraocular inflammation, contributing to an increase in its latent period. All this with particular relevance points to the need to study the use of stem cells in eye diseases in animals.

Our histological studies on the restoration of eye tissues from the introduced allogeneic mesenchymal stem cells indicate their effective use for uveitis in animals. Stem cells act as a regulator of proliferation in damaged eye tissues and cause cyto-differentiation during cell regeneration, activate the synthesis of anti-inflammatory mediators and enhance their own antioxidant properties.

It was found that with the help of allogeneic mesenchymal stem cells, already on the 7th day of the experiment, a decrease in corneal stroma thickening was noted, and on the 14th day, restoration of the anterior surface epithelium was noted. Also on the 30th day of the experiment, almost complete restoration of damaged tissue structures of the eye and the end of the inflammatory process were noted. That is, histological studies indicate not only the recovery function of damaged tissue structures with the help of allogeneic mesenchymal stem cells, but also the effect on the intensity of the inflammatory process, which significantly reduces the time of repair of eye tissues at the level of cells and tissues.

The obtained data using stem cells can be used for new modern methods of treating many eye pathologies in ophthalmology.

Keywords: UVEITIS, RABBITS, ALLOGENEIC MESENCHYMAL STEM CELLS, EYE, TENITUM SPACE, CORNEA, LIMB, EPITHELIUM.

Офтальмологічна патологія продовжує залишатися актуальною в науковому та клінічному аспектах, оскільки займає одне з провідних місць у структурі загальних хвороб очей серед тварин. Слід зазначити, що кінцевим результатом більшості хвороб очей є сліпота (Foster & Michel, 2013).

У 80 % випадків причин хвороб ока є пошкодження самої рогівки ока та виникнення увеїту (Calonge & Portero, 2013). Увеїт – це рецидивуюче мляво-протікаюче інфекційне запалення циліарного тіла і райдужки з утворенням преципітатів і спайок в передньому відрізку ока і ексудативною реакцією в склоподібному тілі (Dinning, 1981).

Розвивається увеїт внаслідок ураження самої тканини ока та має властивість зменшувати кількість функціонуючої тканини ока. Це найбільш частий варіант. В етіології увеїту розрізняють цілий ряд різних причин: гострі і хронічні запальні процеси в паренхімі ока, іонізуюче випромінення (пострадіаційний увеїт), непластичний (рак, аденома, саркома) і дегенеративний процеси в оці (ендемичний і спорадичний, кісти, крововиливи, фіброз), токсична дія (тиреостатики й інші медикаменти, калію перхлорат), хірургічні операції (післяопераційний увеїт та кератит) (Barry et al., 2009; Jones, 2013).

В останній час в літературі як ветеринарній, так і медичній широко обговорюється проблема післяопераційного увеїту, який виникає в результаті операційного втручання або хірургічного корегування, де є системне захворювання і розвивається внаслідок вироблення антитіл до рецепторів тканин ока. При цьому око представляє собою один із органів-мішеней для антитіл імунної системи (Maalouf et al., 2012; Foster & Michel, 2013).

Особливістю увеїту в собак та котів являється ще й те, що клінічна картина хвороби не завжди має рішуче значення для постановки більш детального діагнозу захворювання і залежить від вираженості і тривалості функціонального дефіциту патологічного ока, а також і від віку тварини і наявності в неї супутніх захворювань очей. Існуючий на сьогоднішній день дефіцит спеціальних лабораторних тестів і низька інформованість клініцистів не сприяє ранній і точній діагностики синдрому увеїту та кератиту у собак, котів та інших тварин (Weyenberg & Vermeire, 2004; Calonge & Portero, 2013).

Визначне значення має трансплантація тканин алогенного походження, отриманих при операціях, або заготовлених від трупів. При цьому всі дослідження зв'язаних з тканинною алотрансплантацією ока розроблялись як в експериментальних, так і в клінічних умовах на тваринах (Dimarino et al., 2013; Savchuk et al., 2020; Shupuk et al., 2020). За дослідженнями багатьох авторів при пересадці фрагментів алогенної тканини ока були життєздатними протягом 15–20 діб. При всіх дослідженнях і сучасних методиках основним методом лікування всіх форм патологій ока на даний час є заміна терапія препаратами як в людини, так і в тварин. З цією метою використовується ряд препаратів, основним діючим компонентом яких є фармакологічна стимулююча активність на ріст тканин ока (Barry et al., 2009; Maalouf et al., 2012; Jones, 2013; Shupuk et al., 2020).

На даний час велику роль здійснила в світі клітинна технологія, як революційний метод в сучасній біології і медицині, в тому числі і ветеринарній медицині, та послужила основою для розуміння багатьох механізмів, контролюючих основні біологічні процеси в нормі і патогенезі хвороб. Ряд наукових видань все частіше публікують успішне використання стовбурових клітин при різних патологіях (Savchuk et al., 2020; Shupuk et al., 2020).

Тому дослідження впливу стовбурових клітин на патологію ока представляє великий науковий і практичний інтерес.

Мета роботи – провести аналіз динаміки результатів гістологічних досліджень за експериментального увеїту у кролів та введенні алогенних мезенхімальних стовбурових клітин.

Матеріали і методи. Експериментальне дослідження проводили на очах кролів чотиримісячного віку, породи Шиншила, вагою 2–2,5 кг. Оперативні втручання виконували

на базі кафедри хірургії і патофізіології імені акад. І. О. Поваженка НУБіП України. Всі процедури, передбачені протоколом дослідження, виконували у відповідності до вимог Європейської конвенції про захист домашніх та лабораторних тварин, (конвенцію ратифіковано Законом України, N 578–VII (578–18) від 18.09.2013).

Моделювання експериментального бактеріального увеїту середнього ступеня тяжкості, проводили за такою поетапною схемою: вводили тварин в стан медикаментозного сну, застосувавши змішаний наркоз (ксилазин в/м для премедикації 0.15 мл/кг маси тіла тварини, та в/в Золетіл 40 мг/кг) і місцевою анестезією (інстиляції в кон'юнктивальну порожнину 0,5 % Sol. Alcaini). Після цього кролів клали під ртутну лампу ДРТ–240, яка використовується в медичних установах, як апарат для стерилізації приміщень і інструментів, та при лікуванні шкірних захворювань, і тримали під довгохвильовим променем (UVA, довжина якого 320 нм.), протягом 3 хвилин. Через 12 годин зараження пошкодженої поверхні рогівки та кон'юнктиви проводили методом інстиляції патогенного штаму *Staphylococcus aureus* 105 КУО в 1 мл, отриманого методом виділення чистої культури. Через 24 години після інфікування клітинною культурою у 100 % кроликів діагностували кератит та передній увеїт середнього ступеня тяжкості.

Для оцінки прояву увеїту у тварин фіксували характерні клінічні ознаки (виділення у кон'юнктивальній порожнині, її набряк, та наслідки запальної інфільтрації, васкуляризація та помутніння рогівки, в деяких гіпопійон та гіфема).

Мезенхімні стовбурові клітин отримували із кісткового мозку, взятого від кролів-донорів. Після отримання кісткового мозку з нього виділяли моноклеарні клітини з високою проліферативною активністю, переносили в чашки Петрі (d=30; 60; 100) з культуральним середовищем та ставили на культивування (Shupryk et al., 2020).

Культивування клітин здійснювали в одноразових пластикових чашках Петрі (d=30; 60 та 100 мм), а також пластикових флаконах з площею 25 см² (Corning, США) за стандартною методикою шляхом періодичного їх пасажування після формування моношару на 90–100 %. Для цього з культурального посуду видаляли поживне середовище, моношар промивали фосфатно-буферним розчином, до культури клітин додавали 0,25 % розчин трипсину/версену і залишали в термостаті при +37 °C на 1–3 хв (Savchuk et al., 2020). Процес округлення та відкріплення клітин спостерігали в мікроскоп. Для досягнення необхідного ефекту дію розчину трипсину/версену нейтралізували ембріонального сироваткою теляти, вносячи її в чашку Петрі у співвідношенні 1:30 до загального об'єму суміші (рис. 1).

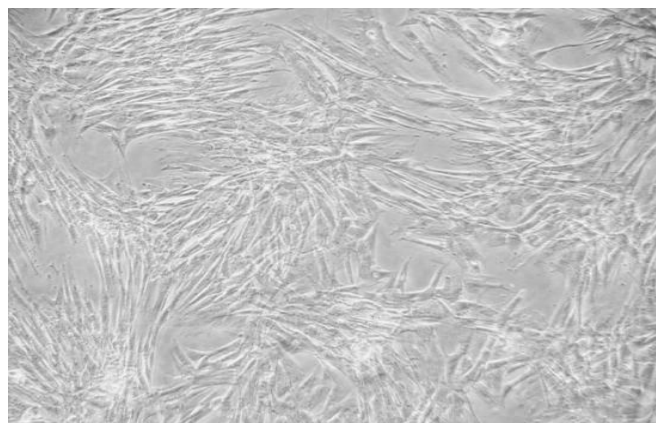


Рис. 1. Алогенні мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку кроля I пасаж, x 100

Знімали клітини та дезагрегували клітинні конгломерати шляхом піпетування. Клітини центрифугували, видаляли надосадову рідину, додавали поживне середовище, ретельно піпетували осад та здійснювали підрахунок кількості клітин за стандартною методикою. Пасажування клітин здійснювали у співвідношенні 1:2, а саме: з однієї чашки Петрі пересівали

у дві. Підрахунок кількості клітин проводили під мікроскопом при збільшенні у 200 разів в усіх квадратах (Dimarino et al., 2013).

Проводили введення стовбурових клітин в тенетійовий простір (рис. 2). Вводили через малий розріз кон'юнктиви і капсули уздовж склери в нижньо-внутрішній області очного яблука, в трикутнику, де склера переходить у пухкий сполучнотканинний шар, оточений щільною сполучнотканинною фіброзною піхвою і капсулою тенона (вводили 1 мл підготовлених мезенхімальних стовбурових клітин, де містилося 1,5 млн клітин).



Рис. 2. Введення в тенетійовий простір аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин

Дослідження проводили на 7, 14 та 30 добу експерименту, після введення їм мезенхімальних стовбурових клітин у тенетійовий простір. По 5 тварин виводили з дослідження шляхом евтаназії (внутрішньовенного введення летальної дози натрію тіопенталу в дозі 90 мг/кг) і отримували зразки тканин ока для гістологічних досліджень.

Дослідження очного яблука проводили шляхом фіксації енуклеації зразу після евтаназії, що дозволяло мінімізувати аутоліз. На 1 частину обсягу очного яблука використовували 10 частин фіксатора (приблизно 0,15–0,3 мл фіксатора). Для введення фіксатора в очне яблуко використовували голку невеликого розміру. Фіксатор вводили позаду лімба рогівки в напрямку до товстої частини очного яблука, щоб не пошкодити кришталік. Тримавши очне яблуко однією рукою, повільно вводили фіксатор в склоподібне тіло. Далі поміщали очне яблука у 10 % водний розчин нейтрального формаліну і протягом 24 годин доставляли на дослідження (Horalskyi et al., 2020).

Зневоднення та заливку зразків у парафін виконували за загальноприйнятою методикою. Одержані з парафінових блоків зрізи, завтовшки 3–6 мкм, забарвлювали гематоксиліном і еозином для отримання оглядових мікропрепаратів. Проводили мікроскопію гістопрепаратів, де оцінювали морфологічні зміни у оці тварин під час регенерації, а саме: розміри відновлення запального процесу, наявність розростання та набряк сполучної тканини, наявність запальних процесів. Вказані зміни фіксували фотографічно.

Результати й обговорення. При гістологічному дослідженні рогівки інтактних кролів (рис. 3), виявлено передній епітелій, власну речовину, задню межову пластинку десцеметової оболонки заднього епітелію. Клітини переднього епітелію утворили шар клітин різної форми. Нижній базальний шар призматичної форми. До нього прилягали два ряди остистих (шипуватих) клітин. Над шаром шипуватих клітин спостерігали 5 рядів плоских клітин, розташованих паралельно поверхні рогівки. Передній епітелій на периферії рогівки в ділянці лімба мав келихоподібні клітини. Під епітелієм чітко виділена строма рогівки, яка складалась з пучків колагенових волокон, які утворювали гомогенні пластинки.

Між пластинками були і клітини кератоцити. Їхні ядра витягнутої форми під поверхнею рогівки. У нижньому відділі строма переходила у дисцеметову оболонку. Вона складалась з

колагенових волокон. З внутрішнього боку до задньої межової пластинки прилягав один шар плоских клітин ендотелію.

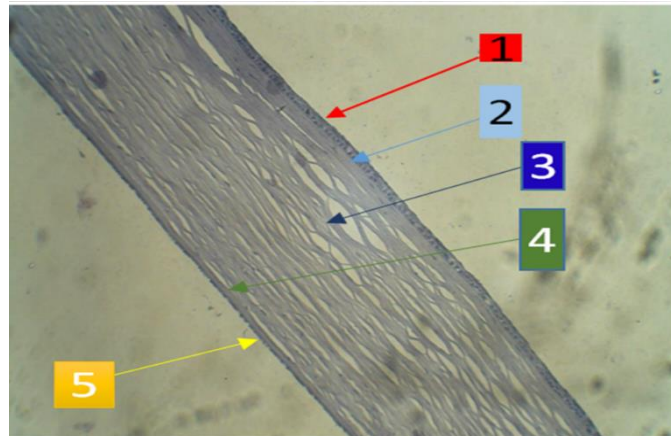


Рис. 3. Інтактне око: 1 – передній (покривний) епітелій; 2 – боуменова мембрана; 3 – строма (основна речовина); 4 – десцетова оболонка; 5 – задній епітелій (ендотелій). Гематоксилін-еозин, х 100.

У результаті проведених гістологічних досліджень очей кролів, за експериментального увеїту, встановлено (рис. 4), велику активність фібропластичних процесів, викликаних опіком та секундарною інфекцією, що викликали дистрофічні і деструктивні зміни, а саме руйнування переднього епітелію, нерівномірне тяжіння по всій довжині боуменової мембрани, потовщення строми рогівки з нерівномірним розшаровуванням колагенових фібрил, між якими містилась велика кількість змінених за формою і хаотично розміщених фіброblastів і лімфоїдних клітин.

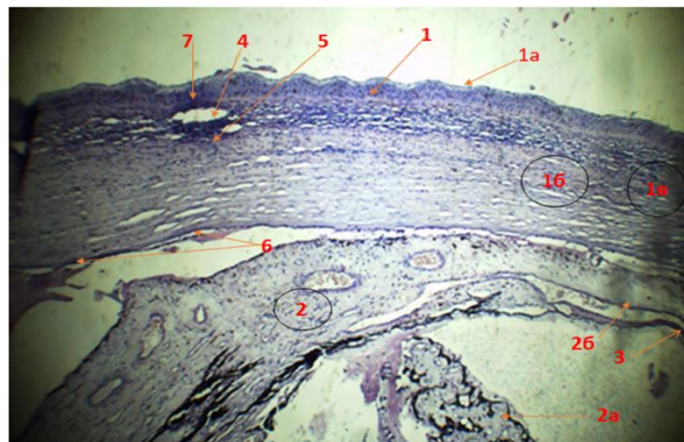


Рис. 4. Око кроля за експериментального увеїту, до введення мезенхімальних алогенних стовбурових клітин: 1 – рогівка (зовнішня фіброзна оболонка); 1а – хвилеподібний передній епітелій; 1б – лімба; 1в – склера; 2 – райдужка, середня судинна оболонка (звуження кута ока); 2а – целіарне тіло; 2б – власне судинна оболонка; 3 – внутрішня оболонка сітківки; 4 – гіперплазія епітелію запальний інфільтрат та збільшення кількості фіброblastів; 5 – дифузне розсіяння еритроцитів, що вказують на васкуляризацію; 6 – відшаровування та руйнування десциментової оболонки; 7 – руйнування боуменової мембрани.

Гематоксилін-еозин, х 50

Також, виявлялась велика кількість еритроцитів та нейтрофільних лейкоцитів. Десциментова мембрана мала нерівну форму зубчастої лінії яка переривалась в декількох місцях і місця відшаровування від щільної структури строми. Ендотелій рогівки та його ворсинки були повністю зруйновані, призматичні клітини атипової форми невпорядковано розкидані па всій довжині. Райдужна оболонка має зруйновану структуру, ушкодження клітин рогівки епітелію по вираженості лімбальної ішемії в місці опіку, значний набряк та

розшарування строми рогівки, хвилеподібний з пошкодженою поверхнею передній епітелій так і ендотелій розміщений на базальній мембрані з пошкодженою апікальною поверхнею епітеліальних клітин рогівки з відсутніми мікрворсинками.

На 7 добу експерименту (рис. 5) у гістологічних зрізах відмічали поверхневий епітелій без частин деепітелізації, але з потовщеною стромою рогівки, має дифузне розміщення клітин запального інфільтрату та збільшення кількості фібробластів по всій стромі, містить невелику кількість еритроцитів, що вказує на васкуляризацію. Було видно, що волога передньої камери була опалесційована (помутніння внаслідок запалення). Найбільш вираженим був набряк в поверхневих шарах строми рогівки, який проявлявся формуванням її сітчастої структури. Виявлявся значний набряк строми рогової оболонки. У стромі кератоцити розподілені нерівномірно. Місцями відмічався фокальний мукоїдний набряк колагенових стромальних пластин. Ознаки запальної інфільтрації в центральних ділянках рогівки і поблизу лімба.

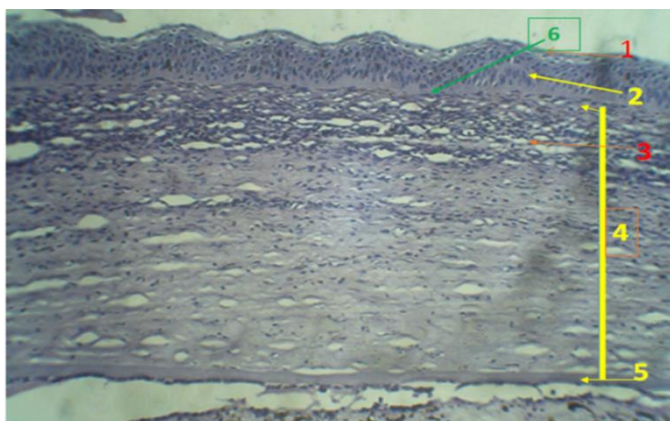


Рис. 5. Око кроля на 7 добу експериментальну: 1 – хвилеподібний з пошкодженою поверхнею передній епітелій; 2 – налагоджена диференціація епітеліоцитів по шарах; 3 – сітка колагенових фібрил в стромі по шарах; 4 – зменшення товщини строми рогівки; 5 – вирівнювання колагенових фібрил, десцеметової оболонки; 6 – відроджена бауменова мембрана. Гематоксилін-еозин x 100

На 14 добу експерименту (рис. 6) на гістологічному препараті видно передній поверхневий епітелій, який вже був відновлений, але мав не рівну хвилясту поверхню. В стромі значного набряку не спостерігалось, зроговіння верхнього шару не відмічалось, але зустрічались сегментоядерні лейкоцити, ближче до лімбу видно колагенові волокна, макрофаги та поодинокі лімфоцити, трохи нижче лімбу зібрані в пучок колагенові волокна між якими містились фіброласти. У деяких місцях пошкоджений ендотелій, десцеметової оболонки.

На 30 добу експерименту (рис. 7) на гістологічного зрізу помітне зменшення товщини строми рогівки, відсутність нейтрофільних лейкоцитів між ендотелієм та райдужкою, але помітне скупчення еритроцитів верхньому шарі колагенових волокон строми рогівки, помітні рубці в місцях опіку але повністю вирівняні по шарах колагенові волокна строми, клітини базального шару прилягали один до одного рівномірно по всій товщині. В нижньому відділі строма чітко переходила в десцеметову оболонку. Клітини ендотелію прилягали до задньої межі пластинки щільним шаром плоских клітин.

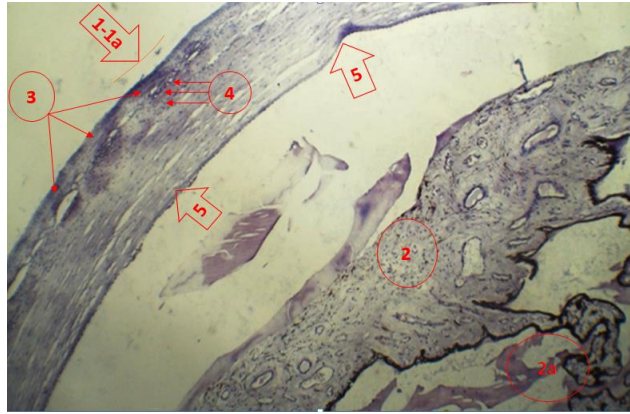


Рис. 6. Око кроля на 14 добу експерименту: 1 – рогівка, зовнішня фіброзна оболонка; 1а – хвилеподібний передній епітелій; 2 – райдужка, середня судинна оболонка (звуження кута ока); 2а – целіарне тіло; 3 – гіперплазія епітелію запальний інфільтрат; 4 – дифузне розсіяння еритроцитів, що вказують на васкуляризацію; 5 – відшаровування та руйнування десцеметової оболонки. Гематоксилін еозин. х 50

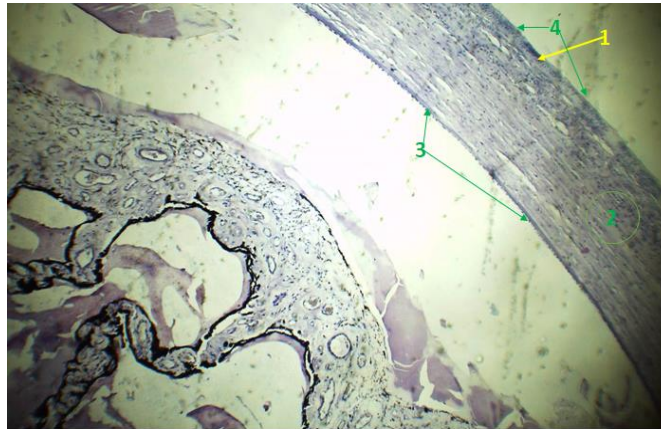


Рис. 7. Око кроля на 30 добу експерименту: 1 – субепітеліальні рубці; 2 – зменшення набряку строми; 3 – відновлення десцеметової оболонки і шару колагенових фібрил; 4 – відновлений поверхневий передній епітелій. Гематоксилін еозин. х 50

Тобто, як видно з досліджень, введення аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин є дуже ефективними при увеїтах, що допомагає швидкому закінченню запального процесу і репарації тканин ока. Стовбурові клітини діють, як регулятор проліферації в пошкоджені тканини ока і викликають цитодиференціацію в процесі регенерації клітин, активують синтез протизапальних медіаторів та підсилюють власні антиоксидантні властивості.

ВИСНОВКИ

1. Результати відновлення тканин ока, за введених аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин, свідчать не тільки про відновлювальну функцію ушкоджених тканинних структур, але й про вплив на інтенсивність запального процесу, що значно зменшує терміни репарації тканин ока на рівні клітин і тканин.

2. За введених аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин, вже: на 7 добу – відмічали зменшення потовщення строми рогівки, на 14 добу – відновлення переднього поверхневого епітелію, на 30 добу – практично повне відновлення ушкоджених тканинних структур ока та закінчення запального процесу.

3. Результати мікроскопічних досліджень з відновлення тканин ока, за введених аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин, свідчать про їх ефективне використання за увеїту.

Перспективи досліджень. У подальших дослідженнях планується провести випробування впливу стовбурових клітин на клінічних випадках увеїту.

References

Barry, P., Gardner, S., Seal, D., Gettinby, G., Lees, F., Peterson, M., Revie, C. (2009). Clinical observations associated with proven and unproven cases in the ESCRS study of prophylaxis of postoperative endophthalmitis after cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 35 (9). 1523–1531.

Calonge, M. & Portero, A. (2013). Medication-Induced Uveitis. *Diagnosis and Treatment of Uveitis.* 1189–1189.

Dimarino, A.M., Caplan, A.I., Bonfield, T.L. (2013). Mesenchymal Stem Cells in Tissue Repair. *Front Immunol.* 4. 201.

Dinning, W. J. (1981). The Visual Prognosis in Chronic Uveitis. *Uveitis,* 259-260.

Foster, C., & Michel, S. (2013). Lens-Induced Uveitis. *Diagnosis and Treatment of Uveitis,* 1130–1140.

Horalskyi, L. P., Khomych, V. T., Kononskyi, O. I. (2005). Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii. navch. posib. Zhytomyr «Polissia». 228 [in Ukrainian].

Jones. N. (2013). Diagnosing uveitis. *Uveitis,* 67–67.

Maalouf, F., Abdulaal, M., Hamam, R.N. (2012). Chronic Postoperative Endophthalmitis: A Review of Clinical Characteristics, Microbiology, Treatment Strategies, and Out comes. *Int J Inflamm.* 313-248.

Savchuk, T.L., Bokotko, R.R., Kharkevych, Yu.O., Mazurkevych, A.Y., Maliuk, M.O., Danilov, V.B., Blahyi, R.S., Braha, O.V. (2020). Makroskopichni zminy v eksperymentalno uskodzhenii velykohomilkovii kisttsi kroliv za vvedennia alohennykh mезenkhimalnykh stovburovykh klityn riznymi sposobamy. *NTB Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu vetpreparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biolohii tvaryn* 21. 1. 168-174. [in Ukrainian].

Shupyk, O.V., Bokotko, R.R., Savchuk, T.L., Danilov, V.B., Kladnytska, L.V., Kharkevych, Ya.O., Pasnichenko, O.S., Blahyi, R.S., Hraborenko, N.I., Krystyniak, Y.M (2020). Effectiveness of mesenchymal stem cells in uveitis in dogs, depending on the method of their administration. *NTB Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu vetpreparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biolohii tvaryn* 21. 2. 219-229. [in Ukrainian].

Shupyk, O.V., Masurkevych, A.Y., Bokotko, R.R., Savchuk, T.L., Pasnichenko, O.S., Krystyniak, Y.M. (2020). The effectiveness of amniotic membrane depending on the cause of corneal damage in dogs. *Ukrainian journal of veterinary sciences.* 11. 4. 48-60.

Weyenberg, W. & Vermeire, A. (2004). Effect of different sterilization method on the properties of bioadhesive powders and ocular minitables, and clinical evaluation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 23. 1. 68-71.