

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПЕРЕДНЕГО ОТРЕЗКА ГЛАЗНОГО ЯБЛОКА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ КЕРАТОПАТИЙ У ЛОШАДЕЙ

А. В. ГОНЧАРОВА, кандидат ветеринарных наук,
Л. Ф. СОТНИКОВА, доктор ветеринарных наук, профессор,
Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии –
МВА имени К. И. Скрябина
(109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23)

Ключевые слова: кератопатии, кератоцит, васкуляризация, прекорнеальная слезная пленка, лошадь, слеза, фибробласты, воспаление.

Проводилось изучение целого ряда признаков, характеризующих больных лошадей с кератопатиями. Учитывая что патология органа зрения встречается у животных различных возрастных групп, принадлежащих к обоим полам, для проведения исследования была отобрана группа животных (40 лошадей), находящихся на частных конюшнях Москвы и Московской области. Работа представляет клинко-морфологическое исследование, в котором наряду с офтальмологическими методами использован комплекс цитологического исследования. Нами выявлено, что кератопатии у лошадей развиваются либо после незначительных повреждений роговицы и дальнейшего присоединения гнойной инфекции, либо при инфицировании дистрофически измененной роговицы при нарушении в ней микроциркуляторных процессов и снижении функции физиологических барьеров глазного яблока. К факторам риска повреждения роговицы и возникновения язвенного кератита мы отнесли нарушение эволюционно сложившихся механизмов врожденного и приобретенного иммунитета, функционирующих на уровне слизистых оболочек глаза, выполняющих роль физиологических барьеров глазного яблока. Во всех случаях воспалительный процесс в роговице развивался в ответ на воздействие различных первичных и вторичных повреждающих факторов. К первичным повреждающим факторам можно отнести микроорганизмы, их экзо- и эндотоксины, компоненты бактериальной клеточной стенки. В качестве вторичных факторов, способствующих воспалению при попадании инфекции, могут выступать метаболические нарушения, острая и хроническая тканевая гипоксия. Установленная корреляционная зависимость между изменениями в роговице при язвенном кератите, результатами цитологических исследований, данных анамнеза позволила выявить критерии оценки первичной и вторичной форм кератопатий. На основании выявленных клинко-морфологических параллелей определены дифференциально-диагностические клинические критерии течения воспаления роговицы.

CYTOMORPHOLOGICAL PICTURE OF THE ANTERIOR SEGMENT OF THE EYEBALL AT DIFFERENT TYPES OF KERATOPATHY IN HORSES

A. V. GONCHAROVA, candidate of veterinary sciences,
L. F. SOTNIKOVA, doctor of veterinary sciences,
Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin
(23 academician Scriabin str., 109472, Moscow)

Keywords: keratopathies, corneal cells, vascularization, tear film, horse, tear, fibroblasts, inflammation.

A number of typical symptoms of ulcerative keratitis in sick horses was investigated in current research. It was found that pathology of the eyes can be observed in animals of different age groups belonging to both genders. A group of 40 horses owned by private stables of Moscow and Moscow region was selected to conduct the study. Current research was a clinical and morphological investigation, which included both ophthalmic method and a set of cytological and bacteriological examinations. Ulcerative keratitis in horses can be either a result of a minor injury of the cornea caused by awn grasses, seed hulls, leaves, sawdust and further bacterial infection development (coccal flora, *Escherichia coli*, *Proteus*, fungi), prolonged use of antibiotics or corticosteroids or when dystrophic cornea is infected due to the microcirculatory processes disorder. Malfunction of the evolutionally formed mechanisms of innate and acquired eye mucosa immunity, which play the role of the physiologic barrier of the eyeball, should also be considered risk factors of the damage of the cornea and the occurrence of ulcerative keratitis. In all cases the inflammatory process in the cornea developed in response to the impact of various primary (microorganisms, their exo- and endotoxins, components of the bacterial cell wall) and secondary damaging factors (metabolic disorders, acute and chronic tissue hypoxia). Based on established correlation between changes in the cornea, the results of cytological and bacteriological analyses, anamnesis data, the evaluation criteria for primary and secondary forms of the disease were established. Identified clinical and morphological parallels allowed to define diagnostic criteria of the cornea inflammation.

Положительная рецензия представлена Л. И. Дроздовой, доктором ветеринарных наук, профессором, заведующим кафедрой Уральского государственного аграрного университета.

Цель и методика исследований

Патологические процессы, протекающие в роговице, отличаются сложностью и разнообразием проявления, что привело к возникновению большого количества клинических форм кератопатий [1, 2, 3, 4, 5]. В настоящей работе с использованием клинически больных животных установлена связь между клиническими признаками заболеваний переднего отрезка глазного яблока (язвенный кератит (первичный и вторичный), абсцесс роговицы, буллезная кератопатия, краевой сосудистый кератит) и цитоморфологической картиной переднего отрезка глаза.

Представленная классификация кератопатий базируется на клинически обоснованных факторах риска возникновения и развития патологий роговицы, а также показателей функциональных тестов (тест Ширмера, проба по Норну) и витальных красителей, характеризующих степень выраженности и характер патологических изменений поверхности роговицы и конъюнктивы, что свидетельствует о наличии двух основных клинических форм течения кератопатий: первичной, характеризующейся травматическим повреждением роговицы с дальнейшим развитием микрофлоры, и вторичной, основанной на разрушении физиологических барьеров глазного яблока (таблица 1) [2, 6, 7, 8].

Первичная форма индуцирована посттравматическим инфицированием роговицы, в то время как вторичная форма развивается на фоне присутствующих деструктивных изменений изучаемой оболочки глазного яблока.

Язвенный кератит лошадей, неязвенный кератит, аутоиммунный кератолитизис, стромальный абсцесс и микроабсцессы развиваются либо после незначительных повреждений роговицы (остью злаков, шелухой семян, опилками и др.) и дальнейшего присоединения гнойной инфекции, кокковой флоры, си-

негнойной палочки, протея, грибов, либо после проникающих ранений роговицы с дальнейшей эпителизацией и локализации очага инфекции в строме роговицы, а также в результате длительного применения антибиотиков, кортикостероидов [2]. Особая роль в возникновении вторичных кератопатий принадлежит снижению физиологических барьеров глазного яблока при инфицировании дистрофически измененной роговицы. Анатомо-физиологические особенности расположения роговицы, находящейся под постоянным воздействием на нее самых разнообразных и агрессивных факторов, позволили определить высокий риск ее повреждения и опасность развития в ней гнойно-язвенных процессов [9]. Тем более что в начале заболевания не всегда присутствуют клинические признаки увеита. Заболевание прогрессирует медленно, в этом заключается основная опасность. Восстановление многослойного плоского эпителия может привести к изоляции микроорганизмов в строме и образованию глубокого интерстициального кератита. Следуют за этим глубокая и поверхностная васкуляризация, обширные интрастромальные поражения, воспаление конъюнктивы, отек роговицы. Осложнением являются абсцессы роговицы (микроабсцессы), прободение стромы и перфорация роговицы [5].

Для диагностических исследований применяли комплекс методов, включающих общее клиническое обследование повреждения, гематологические исследования, бактериологическое исследование смыва из конъюнктивальной полости, цитоморфологическое исследование мазков-отпечатков с поверхности роговицы. Клинический статус животного оценивали по общепринятым методикам. При исследовании зоны патологического процесса проводили офтальмологическое обследование, включающее клинические методы структурного состояния органа зрения, осмотр

Таблица 1
Классификация кератопатий у лошадей

Первичные кератопатии	Первичная язва роговицы
	Неязвенный кератит
	Аутоиммунный кератолитизис
	Стромальный абсцесс или микроабсцессы
Вторичные кератопатии	Вторичная (ползучая) язва роговицы
	Буллезная кератопатия
	Краевой сосудистый кератит

Table 1
Classification the keratophaty in horse

Primary keratophaty	Primary ulcerative keratitis
	Non-ulcerative keratouveitis
	Autoimmune keratolysis
	Stromal abscess or microabscess
Secondary keratophaty	Secondary ulcerative keratitis
	Bullous keratopathy
	Regional vessels keratitis

при боковом фокальном освещении и офтальмоскопии. Критериями при этом служили форма и положения век, состояние кожных покровов, функция мышечного аппарата, форма и величина глазной щели. При исследовании конъюнктивы оценивали ее цвет, влажность, количество и характер выделяемого из конъюнктивальной полости. При осмотре роговицы определяли ее форму (сферичность), прозрачность, влажность, зеркальность, наличие васкуляризации, пигментации, рубцовых изменений и изъязвлений. Дополнительную информацию о состоянии роговицы получали при использовании витальных красителей (1 %-й раствор флюоресцина, 1 %-й раствор бенгальского розового, 3 %-й лиссаминового зеленого). Флюоресциновой пробой определяли дефекты в эпителиальном слое роговицы, 1 %-м бенгальским розовым и 3 %-м лиссаминовым зеленым выявляли лишенные муцинового покрытия, погибшие и дегенерировавшие, но еще присутствующие на поверхности роговицы клетки. Для определения суммарной слезопродукции использовали функциональный тест Ширмера. С этой целью рабочий конец тест-полоски (5 мм) сгибали на маркированном конце под углом 40–45 градусов и помещали в нижний конъюнктивальный свод в наружной трети глазной щели. При этом перегиб лежал на краю века, а загнутая часть полоски не касалась конъюнктивы. Лошади закрывали глаз, через минуту извлекали тест-полоску и сразу же учитывали результат, измеряя длину увлажненного участка от линии изгиба. Оценку состояния прекорнеальной слезной пленки проводили с помощью пробы по Норну. В нижний свод конъюнктивальной полости вводили одну каплю флюоресцина натрия, после чего определяли время от последнего моргания до появления в подкрашенной слезной пленке разрыва, имеющего вид черного пятна или щели на поверхности роговицы [10, 11]. Цитоморфологическое исследование мазков-отпечатков осуществляли по А. Н. Голикову. Для этого мазок-отпечаток с поверхности роговицы фиксировали раствором эозин метиленового по Май – Грюнвальду в течение 90 мин. Фиксированный препарат окрашивали раствором азур-эозина по Романовскому – Гимзе в течение 90 мин. Светооптическое исследование проводили при увеличении 10×90 (масляная иммерсия). Клеточный состав выражали в процентах, подсчитывая до 100 клеток для более точного представления о динамике процесса в дефекте роговицы.

Результаты исследования

Результаты анализа факторов риска возникновения и развития кератопатий свидетельствовали, что заболеванию подвержены лошади разного возраста. Клинические признаки и развитие воспалительного процесса в переднем отрезке глаза не зависели от возрастной характеристики животных. Установлено, что болели лошади обоих полов и различной цветно-

сти. При этом выявлено, что первичной язвой роговицы болело 27 % лошадей, неязвенным кератоувеитом – 4,6 %, аутоиммунным кератолизисом – 12,7 %, стромальный абсцесс или микроабсцесс зафиксированы у 17,3 %, вторичная (ползучая) язва роговицы встречалась в 22,4 % случаев, буллезная кератопатия – в 7 % случаев, краевой сосудистый кератит – в 9 % случаев. Важно также подчеркнуть, что устойчивость передней поверхности глазного яблока к повреждению зависела от состояния физиологических барьеров глаза, выполняющих защитную функцию.

Установлено, что клинические формы кератопатий у лошадей характеризуются полиморфизмом, при этом установлены патогномоничные признаки, затрагивающие передний отрезок глаза и характеризующиеся нарушением целостности, гладкости и сферичности, прозрачности, блеска и зеркальности роговицы.

При первичной форме кератопатий течение воспаления переднего отрезка глаза острое, в патологический процесс, как правило, вовлекается радужная оболочка, что проявляется миозом и ее отеком. У животных наблюдали блефароспазм (100 % случаев), гиперемию и отек век (60 %), перикорнеальную инъекцию сосудов вокруг роговой оболочки (50 %), смешанную инъекцию сосудов глазного яблока (75%), обильное выделение серозно-слизистого экссудата (41 %), слизисто-гнойного (50 %) и гнойного (5 %) из конъюнктивальной полости. У 100 % лошадей развивалась поверхностная или глубокая васкуляризация.

При вторичных кератопатиях течение воспаления переднего отрезка глаза было подострым или хроническим. У животных наблюдали незначительное выделение из конъюнктивальной полости серозного экссудата с налипанием его на ресницах.

Таким образом, объективными диагностическими признаками первичной формы являются острое воспаление переднего отрезка глаза с нарушением целостности роговицы и вовлечением в процесс радужной оболочки; диагностическими клиническими признаками при вторичной форме служат подострое или хроническое течение воспаления переднего отрезка глаза со снижением общей слезопродукции, нарушением зеркальности, блеска и влажности роговицы [12, 13].

Анализ результатов цитоморфологического исследования мазков-отпечатков с поверхности роговицы при первичной форме свидетельствовал о наличии в I фазе воспаления (1-я и 2-я стадии) воспалительного типа цитограммы, с доминированием в ней нейтрофилов (84–90 %), из них 10 % клеток находились в состоянии деструкции и аутолиза; моноциты составляли 5–16 %; лимфоциты – 5–8 %. Анализ цитоархитектоники клеток в мазках-отпечатках свидетельствовал об остром воспалительном процессе.

В конце воспалительной фазы в очаге воспаления роговицы количество нейтрофилов уменьшилось до

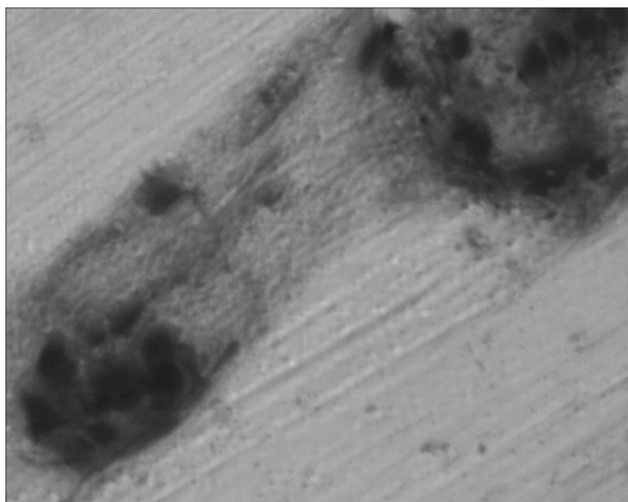


Рис. 1. Микрофото мазка-отпечатка поверхности роговицы при первичной форме. Преобладание нейтрофилов среди клеточных элементов в мазке (воспалительный тип)
Fig. 1. Microphoto smear-prints the surface of the cornea in the primary form. Prevalence of neutrophils among cellular elements in the smear (inflammatory type)

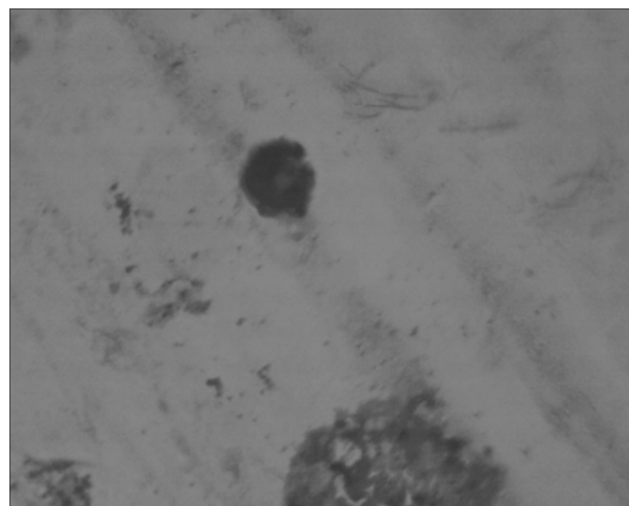


Рис. 2. Микрофото мазка-отпечатка поверхности роговицы при первичной форме. Преобладание нейтрофилов среди клеточных элементов в мазке (воспалительный тип), а также дистрофически измененные клеточные элементы
Fig. 2. Microphoto smear-prints the surface of the cornea in the primary form. The predominance of neutrophils among cellular elements in the smear (inflammatory type) and dystrophic modified cells

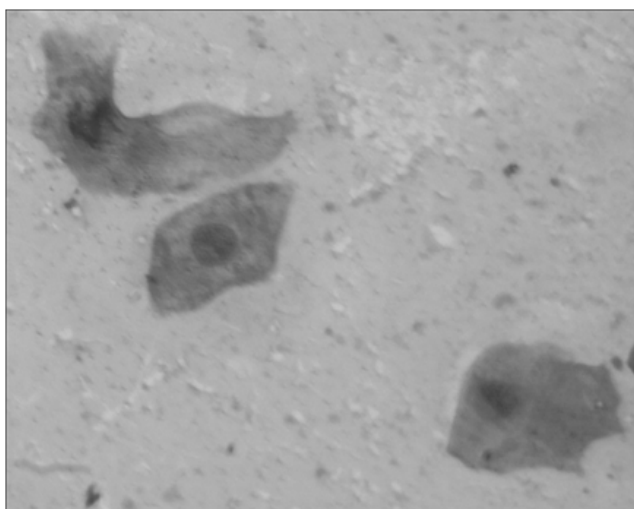


Рис. 3. Микрофото мазка-отпечатка поверхности роговицы при первичной форме. В мазке появились клетки фибробластического ряда
Fig. 3. Microphoto smear-prints the surface of the cornea in the primary form. Appeared in the smear cells of fibroblastic series



Рис. 4. Микрофото мазка-отпечатка поверхности роговицы при первичной форме. В мазке-отпечатке появились пласты эпителия
Fig. 4. Microphoto smear-prints the surface of the cornea in the primary form. In the smear-imprint appeared epithelial layers

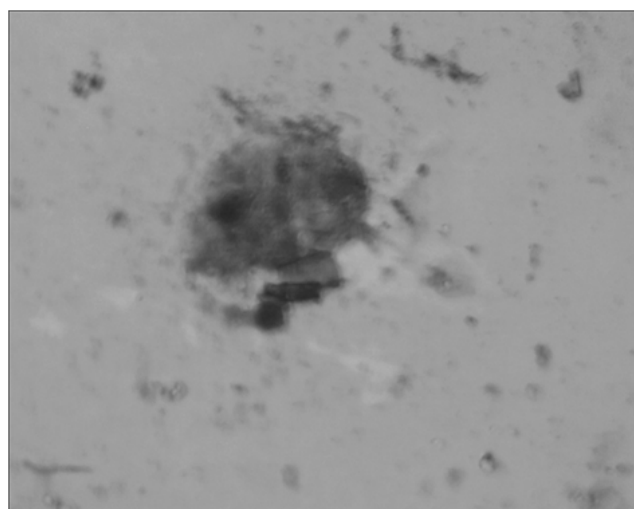


Рис. 5. Микрофото мазка-отпечатка поверхности роговицы при вторичной форме. Дистрофически измененные клеточные элементы
Fig. 5. Micro photos of smears of the corneal surface when the secondary form. Dystrophic modified cells

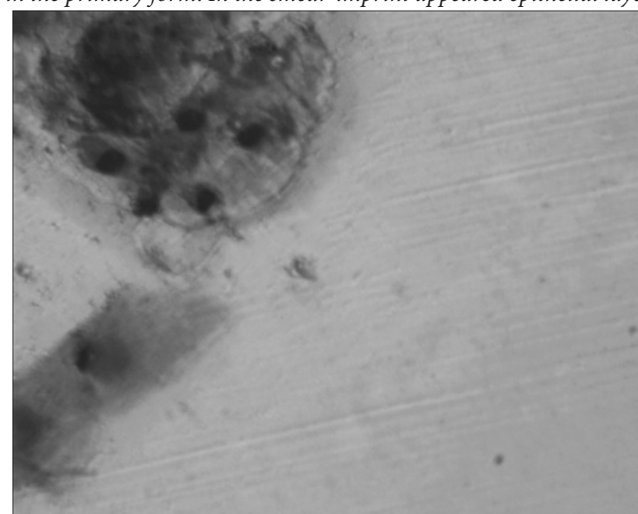


Рис. 6. Микрофото мазка-отпечатка поверхности роговицы при вторичной форме. Среди остатков нейтрофилов группа клеток фибробластического ряда (регенераторно-воспалительный тип)
Fig. 6. Micro photos of smears of the corneal surface when the secondary form. Among the remains of neutrophils, a group of fibroblastic cells (regenerative-inflammatory type)

65–80 %, вместе с тем возросло представительство макрофагов до 5–10 %, в мазках-отпечатках появились фибробласты и плазматические клетки.

Анализ мазков-отпечатков очага поражения роговицы выявил регенераторно-воспалительный тип цитограммы, который характеризовался уменьшением количества нейтрофилов до 58–70 %, появлением макрофагов (5–10 %), фибробластов (15–20 %), плазматических (2–7 %), единичных эпителиальных клеток.

После организации грануляционной ткани во время II фазы 1-й стадии процесс переходил во II фазу (2-я и 3-я стадии). У всех лошадей при этом был выявлен регенераторный тип цитограммы, который характеризовался уменьшением содержания нейтрофилов до 36–40 %, увеличением фибробластов (36–47 %), плазматических клеток (3–8 %), гигантских многоядерных клеток (3–5 %), пласты эпителиальных клеток.

Цитоморфологическое исследование мазков-отпечатков очага поражения роговицы в I фазе 1-й и 2-й стадий при вторичной форме показало преобладание дегенеративно-воспалительного типа цитограммы, характеризующегося следующим клеточным составом: нейтрофилы – 65–70 %, при этом 50 % клеток из них находится в состоянии деструкции и аутолиза; моноциты – 4–9 %, лимфоциты – 5–10 %.

В конце воспалительной фазы течения цитоморфологическая картина изменялась в направлении возрастания количества нейтрофилов до 70–75 %, причем клетки с деструкцией и аутолизом наблюдались у 25 % животных.

В период перехода с I фазы 3-й стадии и II фазы 1-й стадии течения у большинства лошадей (78 %) был обнаружен регенераторно-воспалительный тип цитограммы: нейтрофилы – 75–80 %, макрофаги – 4–8 %, фибробласты – 12–18 %, плазматические клетки – 2–5 %, реже (22 %) – дегенеративно-воспалительный тип цитограммы.

Формирование грануляционной ткани способствовало переходу воспалительного процесса в стадии биологического самоочищения и реорганизации рубца и эпителизации поверхности роговицы (2-я и 3-я стадии II фазы воспаления). На этих стадиях для всех лошадей был характерен регенераторный тип цитограммы: нейтрофилов – 32–40 %, фибробластов – 38–45 %, плазматических клеток – 4–9 %, гигантских многоядерных клеток – 4–6 % и наличие пластов эпителиальных клеток [2, 5].

Выводы

Симптомы при возникновении первичных форм кератопатий были острыми, с быстрой сменой стадий и фаз воспалительного процесса, с более благоприятным течением, меньшим количеством осложнений. При вторичной форме начало заболевания было подострым или хроническим, с более длительной продолжительностью воспалительной стадии, стадии биологического самоочищения и рубцевания и большим количеством осложнений в виде рецидивов патологического процесса. В результате проведенного исследования установлена корреляция между клинической картиной кератопатий и цитоморфологической характеристикой переднего отрезка глазного яблока.

Литература

1. Corneal ulcers in horses / L. B. Williams, C. L. Pinard. *Compend Contin Educ Vet.* 2013 Jan; 35(1):E4. Review.
2. Гончарова А. В. Диагностика, клинико-морфологическая характеристика и лечение язвенного кератита у лошадей : дис. ... канд. вет. наук. М., 2011. 126 с.
3. Treatment of nonhealing corneal ulcers in 60 horses with diamond burr debridement (2010–2013) / M. Lassaline-Utter, T. J. Cutler, T. M. Michau, C. M. Nunnery. *Vet Ophthalmol.* 2014 Jul.
4. Posterior Amorphous Corneal Dystrophy Associated With Keratoglobus: A Case Report / J. Fay, A. A. Herzlich, G. J. Florakis. *Cornea.* 2017 Sep 8. doi: 10.1097.
5. 360 Degree Deep Corneal Vascularization In A Case Of Endophthalmitis With Corneal Abscess / A. U. Naik, S. B. Gadewar. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2017 Apr-Jun; 29(2):368.
6. Histopathological features of equine superficial, nonhealing, corneal ulcers / J. E. Hempstead, A. B. Clode, L. B. Borst, B. C. Gilger. *Vet Ophthalmol.* 2014 Jul; 17 Suppl 1:46-52.
7. Corneal cross-linking in 9 horses with ulcerative keratitis / A. Hellander-Edman, K. Makdoui, J. Mortensen, B. Ekesten. *BMC Vet Res.* 2013 Jun 26; 9:128.
8. Evaluation of various compounds to inhibit activity of matrix metalloproteinases in the tear film of horses with ulcerative keratitis / F. J. Ollivier, D. E. Brooks, M. E. Kallberg, A. M. Komaromy, M. E. Lassaline, S. E. Andrew, K. N. Gelatt, G. R. Stevens, T. D. Blalock, G. B. van Setten, G. S. Schultz. *Am J Vet Res.* 2013 Sep; 64(9):1081-7.
9. Гончарова А. В. Клиническая картина, диагностика и лечение язвенного кератита у лошадей / А. В. Гончарова, Л. Ф. Сотникова // Методические рекомендации. М. : ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина, 2011. 23 с.
10. Сотникова Л. Ф. Использование объективных и субъективных методов исследования органа зрения в предпродажном осмотре лошади / Л. Ф. Сотникова, А. В. Гончарова // *Ветеринария, зоотехния, биотехнология.* 2014. № 2. С. 12–19.

11. Diagnostic ophthalmology / L. S. Sandmeyer, B. S. Bauer, B. H. Grahn. Can Vet J. 2014 Jan; 55(1):1263-4.
12. Гончарова А. В. Клинико-морфологическое обоснование классификации язвенного кератита у лошадей / А. В. Гончарова, Л. Ф. Сотникова // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. 2017. № 1. С. 309–319.
13. Histopathological features of equine superficial, nonhealing, corneal ulcers / J. E. Hempstead, A. B. Clode, L. B. Borst, B. C. Gilger. Vet Ophthalmol. 2014 Jul; 17 Suppl 1:46-52.

References

1. Corneal ulcers in horses / L. B. Williams, C. L. Pinard. Compend Contin Educ Vet. 2013 Jan; 35(1):E4. Review.
2. Goncharova A. V. Diagnostics, clinical and morphological characteristics and treatment of ulcerative keratitis in horses : dis. ... cand. vet. sciences. M., 2011. 126 p.
3. Treatment of nonhealing corneal ulcers in 60 horses with diamond burr debridement (2010–2013) / M. Lassaline-Utter, T. J. Cutler, T. M. Michau, C. M. Nunnery. Vet Ophthalmol. 2014 Jul.
4. Posterior Amorphous Corneal Dystrophy Associated With Keratoglobus: A Case Report / J. Fay, A. A. Herzlich, G. J. Florakis. Cornea. 2017 Sep 8. doi: 10.1097.
5. 360 Degree Deep Corneal Vascularization In A Case Of Endophthalmitis With Corneal Abscess / A. U. Naik, S. B. Gadewar. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2017 Apr-Jun; 29(2):368.
6. Histopathological features of equine superficial, nonhealing, corneal ulcers / J. E. Hempstead, A. B. Clode, L. B. Borst, B. C. Gilger. Vet Ophthalmol. 2014 Jul; 17 Suppl 1:46-52.
7. Corneal cross-linking in 9 horses with ulcerative keratitis / A. Hellander-Edman, K. Makdoui, J. Mortensen, B. Ekesten. BMC Vet Res. 2013 Jun 26; 9:128.
8. Evaluation of various compounds to inhibit activity of matrix metalloproteinases in the tear film of horses with ulcerative keratitis / F. J. Ollivier, D. E. Brooks, M. E. Kallberg, A. M. Komaromy, M. E. Lassaline, S. E. Andrew, K. N. Gelatt, G. R. Stevens, T. D. Blalock, G. B. van Setten, G. S. Schultz. Am J Vet Res. 2013 Sep; 64(9):1081-7.
9. Goncharova A. V. The Clinical picture, diagnosis and treatment of ulcerative keratitis in horses / A. V. Goncharova, L. F. Sotnikova // Recommendations. M. : MVA named after K. I. Skryabin, 2011. 23 p.
10. Sotnikova L. F. The use of objective and subjective methods of examining the eye in a pre-sale inspection of horses / L. F. Sotnikova, A. V. Goncharova // Veterinary medicine, animal science, biotechnology. 2014. No. 2. P. 12–19.
11. Diagnostic ophthalmology / L. S. Sandmeyer, B. S. Bauer, B. H. Grahn. Can Vet J. 2014 Jan; 55(1):1263-4.
12. Goncharova A. V. Clinico-morphological substantiation of the classification of ulcerative keratitis in horses / A. V. Goncharova, L. F. Sotnikova // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. 2017. № 1. P. 309–319.
13. Histopathological features of equine superficial, nonhealing, corneal ulcers / J. E. Hempstead, A. B. Clode, L. B. Borst, B. C. Gilger. Vet Ophthalmol. 2014 Jul; 17 Suppl 1:46-52.