

На правах рукописи

Гончарова Анна Витальевна

**КЛИНИКО-ОФТАЛЬМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ,
ПАТОГЕНЕЗА И СПОСОБОВ ЛЕЧЕНИЯ ЛОШАДЕЙ С
ПЕРВИЧНЫМИ И ВТОРИЧНЫМИ КЕРАТОПАТИЯМИ**

06.02.04 – ветеринарная хирургия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора
ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена на кафедре общей и частной хирургии имени К.И. Шакалова федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Научный консультант — Стекольников Анатолий Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой общей и частной хирургии имени К.И. Шакалова федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Официальные оппоненты:

Безрук Елена Львовна - доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет имени Н.Ф. Катанова»;

Концевая Светлана Юрьевна – доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры Управления АПК и сельскими территориями ФГБОУ ДПО «Российская академия кадрового обеспечения агропромышленного комплекса»;

Лебедева Анна Ивановна – доктор биологических наук, доцент кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России.

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет».

Защита диссертации состоится «16» декабря 2021 года в 11.00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.05 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургская государственная ветеринарная академия» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, тел/факс (812)388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СПбГУВМ по адресу: 196084, Санкт-Петербург, Черниговская улица, д. 5, и на официальном сайте <http://spbguvm.ru>.

Автореферат размещён на сайтах: ВАК Министерства науки и высшего образования РФ: <https://vak.minobrnauki.gov.ru> «14» сентября 2021 г. и ФГБОУ ВО СПбГУВМ: <http://spbguvm.ru> «14» сентября 2021 г.

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова Татьяна Шамильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследований. Стратегия развития коневодства Российской Федерации на период до 2025 года предусматривает системное решение вопросов развития отечественного коневодства, ресурсное и финансовое обеспечение, а также показатели и механизмы их реализующие. Она разработана в соответствии с Конституцией Российской Федерации, с учетом Указов Президента Российской Федерации от 30.01.2010 № 120 «Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации», от 01.12.2016 № 642 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации». Одной из задач реализации Стратегии является создание региональных ветеринарных центров по оказанию ветеринарной помощи лошадям с участием научно-исследовательских и высших учебных заведений аграрного профиля, формирование комплексного плана научных исследований по коневодству и проведение научно-исследовательских работ по актуальным тематикам, среди которых особое место занимают болезни зрительного анализатора, наносящие значительный ущерб из-за снижения работоспособности лошади.

Среди большого количества заболеваний глаз у лошадей самый большой процент занимают кератопатии, сопровождающиеся поражением одного или нескольких слоев роговицы (Brooks, D.E., 1999; Monk, C.S., Jeong, S.Y., Gibson, D.J., Plummer, C., 2017; Gilger, V.C., 2017; Knickelbein, K., 2017; Стекольников, А.А., Сотникова, Л.Ф., 2017; Джелатт, К.Н., и Пламмер, К.Э., 2019). Исследования, проведенные нами ранее, позволили представить классификацию кератопатий на примере первичного и вторичного язвенного кератита, основанную на состоянии физиологических барьеров глазного яблока. В тоже время, такие заболевания роговицы как кератолизис, абсцесс роговицы, микроабсцессы, неязвенный кератопатит, краевой сосудистый кератит, буллезная кератопатия требуют дальнейшего изучения. Полиэтиологичность кератопатий, роль системных механизмов и воздействие внешней среды (неправильная эксплуатация и кормление) в развитии и течении кератопатий определяют комплексный характер и сложность проблемы. Последняя непосредственно связана с недостаточной изученностью предрасполагающих пусковых факторов и механизмов в развитии кератопатий. Несмотря на большую повторяемость данной патологии у лошадей не определены распространение, факторы риска возникновения и развития осложнений, связанных с образованием передних синехий, субатрофией, геморрагическим увеитом в раннем периоде заболевания и развитием хронического воспаления, возникновению вялотекущих торпидных к проводимому лечению форм воспаления (Безрук, Е.Л., 2019; Концевая, С.Ю., 2018; Plummer, C., 2017, 2019; Gilger, V.C., 2017; Knickelbein, K., 2017; Стекольников, А.А., Сотникова, Л.Ф., 2017; Джелатт, К.Н., 2019).

В настоящее время в литературе практически отсутствуют обобщенные представления о клинической картине, лечении и профилактике кератопатий, между тем, диагностика представляет значительные трудности при стертой клинической картине хронического течения. Не проведен анализ клинических особенностей воспалительного процесса переднего отрезка глаза при кератопатиях различных форм, не представлены клинические формы течения в зависимости от патологоанатомических изменений в тканях и характера экссудата в конъюнктивальной полости, не описаны механизмы репаративной регенерации роговицы в совокупности с цитоморфологической картиной в мазках-отпечатках. В плане ранней диагностики важное значение имеет изучение начальных клинических проявлений, динамики воспалительного процесса переднего отрезка глаза, которые остаются малоизученными.

В связи с этим большой интерес представляет изучение влияния защитных факторов роговицы на процессы ее повреждения и регенерации среди которых ведущее значение отводится антиоксидантной активности слезной жидкости, так как развитие окислительного стресса инициирует локальные воспалительные процессы, что может

привести к повреждению роговицы (Безрук, Е.Л., 2019; Концевая, С.Ю., 2018; Лебедева, А.И., 2018; Seen, S., Tong, L., 2017; Zernii, E.Y., Baksheeva, V.E., Yani, E.V., Philippov, P.P., Sotnikova, L.F., Senin, I.I., 2017).

Отсутствует концепция патогенеза: не обозначена роль состояния физиологических барьеров глазного яблока, определяющих форму течения заболевания, механизмы репаративной регенерации, а также отражающие роль биохимических реакций.

Лечение кератопатий до настоящего времени основано на отдельных наблюдениях, не определены схемы, дозы, длительность применения препаратов. Свидетельством этому являются неудовлетворительные результаты лечения, приводящие к слепоте животного из-за потери биомеханических свойств роговицы (Безрук, Е.Л., 2019; Концевая, С.Ю., 2018; Иомдина, Е.Н., Бауэр, С.М., Котляр, К.Е., 2015; Brooks, D.E., Matthews, A.G., 2007; Джелатт, К.Н., Пламмер, К.Э., 2019, Barnett, K., Crispin, S., Matthews, A.G., 2004).

Терапия воспалительных заболеваний роговицы не приводит к успеху из-за бесконтрольного применения антибиотиков, нестероидных и стероидных противовоспалительных препаратов, что приводит к замедлению репаративной регенерации или полному ее прекращению. В настоящее время в ветеринарии для лечения воспаления переднего отрезка глаза, в том числе роговицы, используют антибиотики, в некоторых случаях без определения чувствительности микрофлоры. Распространенной ошибкой является системное использование нестероидных противовоспалительных препаратов. Применение кератопротекторов зачастую способствует удержанию инфекции в роговице. Острая боль и длительное по времени воспаление приводят к развитию местных аутоиммунных реакций, сопровождающихся кератолизисом или перфорацией роговицы. Быстрая адаптация микроорганизмов диктует необходимость выбора новых лекарственных средств, одним из которых является использование коктейлей бактериофагов (Майчук, Ю.Ф., 1990; Ватченко, А.А., 2002; Johns, I.C., Baxter, K., Booler, H., Hicks, C., Menzies-Gow, N., 2011; Пименов, Н.В., 2020).

Основной задачей лечения кератопатий является восстановление оптических свойств роговой оболочки глаза, сокращение сроков регенерации и минимизация осложнений, таких как перфорация роговицы, иридоциклит и кератомалиция. В связи с этим, важным представляется поиск новых способов терапии нарушений биомеханических свойств роговицы у лошадей, подразумевающих восстановление волокон стромального коллагена и межколлагеновых связей от которых зависит состояние ее биомеханических и прочностных свойств. Одним из таких способов является процедура кросслинкинга роговичного коллагена (КЛРК), основанного на сшивании коллагеновых волокон под воздействием фотосенсибилизирующего вещества рибофлавин (Berman, M.B., 1975; Spoerl, E., Wollensak, G., Seiler, T., 2004; Dana, R., 2005; Gilger, B., 2008; Иомдина, Е.Н., Сотникова, Л.Ф., 2019).

Таким образом, избранное направление исследования является актуальным, недостаточно изученным и требующим дальнейшей разработки.

Степень разработанности темы. Известные российские ветеринарные офтальмологи занимались изучением этиологии, патогенеза, совершенствованием диагностики и лечения заболеваний роговицы у лошадей (Безрук, Е.Л., 2019; Концевая, С.Ю., 2018; Сотникова, Л.Ф., 2002 – 2020; Безрук, Е.Л., 2018; Копенкин, Е.П., 2004, Стекольников, А.А., 2017).

За последние 30 лет заболевания роговицы у лошадей остаются острой и актуальной проблемой для коневодства. Так, повреждение роговицы у спортивных лошадей вызывает острые признаки воспаления с потерей зрительной функции и работоспособности, а постоянные рецидивы хронических кератопатий приводят к необратимым изменениям поверхности роговицы и не позволяют использовать лошадь в работе в полном объеме, что создает предпосылки к ее выбраковке (Безрук, Е.Л., 2019; Концевая, С.Ю., 2018; Сотникова, Л.Ф., 2017, Копенкин, Е.П., 2004, Стекольников, А.А., 2017, Brooks, D.E., Matthews, A.G.,

2007, Джелатт, К.Н., Пламмер, К.Э., 2019, Barnett, K., Crispin, S., Matthews, A.G., 2004, Matthews, A., 2009, Gilger, B.C., 2011, Monk, C., 2014).

Особенно эта проблема стала актуальной в настоящее время, что связано с активной эксплуатацией лошадей. Возникающие в результате травматизации и развития патогенных микроорганизмов тяжелые осложнения приводят к изъязвлению роговицы, кератолизису или абсцессу и потере ее физических (в частности, оптических) и биомеханических свойств (Сотникова, Л.Ф., 2017, 2020, Копенкин, Е.П., 2002 – 2004, Стекольников, А.А., 2017, 2020, Brooks, D.E., Matthews, A.G., 2007, Джелатт, К.Н., Пламмер, К.Э., 2015, 2017, 2019, Brooks, D., Andrew, S., 2000).

В настоящее время в доступной отечественной и зарубежной литературе имеется незначительное количество данных, касающихся как травматических повреждений роговицы у спортивных лошадей, так и спонтанно возникающих кератопатий различной степени тяжести, характеризующихся рецидивирующим течением. В большинстве из них представлены фрагментарные сведения, малоизученными остаются вопросы факторов риска возникновения и развития патологий, клинической картины, не разработаны эффективные методики комплексного лечения и диагностики заболеваний.

На сегодняшний день не разработаны эффективные способы лечения кератопатий, которые учитывали бы разнообразие этиологических факторов и их роль в патогенезе заболеваний, сокращали бы период лечения, минимизировали осложнения, такие как перфорация роговицы, иридоциклит и кератомалация, а также восстанавливали оптические свойства роговой оболочки глаза.

Цель исследования: представить научно-обоснованный подход к диагностике, патогенезу и лечению первичных и вторичных кератопатий у лошадей.

Задачи исследования:

1. Изучить распространение и факторы риска возникновения и развития первичных и вторичных кератопатий у лошадей;
2. Установить клинические дифференциально-диагностические критерии первичных и вторичных кератопатий и изменения гематологических показателей;
3. Установить цитоморфологические критерии динамики заживления с обоснованием стадии репаративного процесса в мазках-отпечатках с поверхности роговицы в зависимости от формы течения кератопатии;
4. Дать характеристику микробному пейзажу переднего отрезка глазного яблока в зоне повреждения с целью определить характер течения патологического процесса и его прогноз в зависимости от формы течения кератопатии;
5. Установить роль антиоксидантной активности слезной жидкости в патогенезе первичных и вторичных кератопатий и представить концепцию патогенеза;
6. Дать клинико-офтальмическое обоснование и разработать метод лечения первичных и вторичных кератопатий у лошадей с использованием коктейлей бактериофагов;
7. Дать клинико-офтальмическое обоснование и разработать метод лечения первичных и вторичных кератопатий с использованием кросслинкинга роговичного коллагена, основанного на сшивании коллагеновых волокон под воздействием фотосенсибилизирующего вещества рибофлавин;
8. Представить алгоритм терапевтического подхода ведения лошадей с первичными и вторичными кератопатиями.

Научная новизна исследования. Впервые на основании разработанных научных положений, полученных в результате клинических, офтальмических, цитоморфологических, микробиологических, гематологических и хемилюминесцентных исследований разработана научная концепция патогенеза, разработаны способы диагностики и лечения первичных и вторичных кератопатий у лошадей. Установлен комплекс факторов, позволяющий обосновать две клинические формы, основанные на

состоянии физиологических барьеров глазного яблока: первичная форма течения – первичный язвенный кератит, кератолизис, абсцесс роговицы, возникающая на фоне травматизации роговицы и последующей прогрессии за счет размножения патогенной микрофлоры, и, вторичная форма течения – вторичная язва роговицы, буллезная кератопатия, неязвенный кератоувеит, краевой сосудистый кератит, инициируемая окислительным стрессом и разрушением физиологических барьеров глазного яблока, что вызывает деструктивные изменения роговицы и запуск патологического процесса.

Выявлено, что вариации клинических признаков определялись тяжестью течения, характером микрофлоры и коррелировали с цитоморфологическими изменениями в мазках-отпечатках. Характер микрофлоры определял полиморфизм клинических признаков, патоморфологические изменения и особенности репаративной регенерации роговицы. Впервые, на основе систематизации клинических форм течения кератопатий, определены диагностически-целесообразные критерии и клинические факторы риска развития слепоты у животных, к которым отнесены: десцеметоцеле, перфорация роговицы, геморрагический иридоциклит, передние синехии, панофтальмит – при первичной форме и, кальцификацию роговицы, пигментацию, гиполакримию, субатрофию глазного яблока, рецидивирующее течение при вторичной форме. При отдаленных исследованиях (более 10 лет) впервые обнаружено поражение заднего отдела увеального тракта с вовлечением в патологический процесс хрусталика и стекловидного тела при вторичных формах кератопатий.

Показана эффективность применения коктейлей бактериофагов в случае наличия антибиотико-резистентных микроорганизмов. Показано, что применение бактериофагового препарата позволяет купировать острый процесс в короткие сроки (3-5 дней), контролировать процесс кератомалиции и вовлечение в патологический процесс всей площади роговицы.

Разработан способ лечения с использованием локального кросслинкинга, основанный на сшивании коллагеновых волокон и уплотнении ткани стромы, способствующий заживлению роговицы без формирования новообразованных сосудов, с восстановлением прозрачности роговой оболочки. При этом, применение кросслинкинга роговичного коллагена позволяет значительно сократить срок лечения (Патенты: № 2707792, 2019 г.; № 199825, 2020 г.).

Теоретическая и практическая значимость работы. Представлен научно-обоснованный подход к оценке форм течения кератопатий, базирующийся на подробном анализе факторов риска возникновения и развития заболеваний, выявленных особенностей клинического течения, патогенеза и патоморфоза. Показано, что характер выделяемой микрофлоры из конъюнктивальной полости во многом определяет течение патологического процесса и его прогноз.

Усовершенствован алгоритм клинической оценки органа зрения с применением функциональных тестов (тест Ширмера, проба по Норну), с использованием витальных красителей, щелевой биомикроскопии, офтальмоскопии, микробиологического и цитоморфологического исследования мазков-отпечатков с поверхности поврежденной роговицы.

В результате проведенных исследований повышается эффективность ветеринарных мероприятий при первичных и вторичных кератопатиях у лошадей, в том числе спортивных, увеличивается период ремиссии, снижаются затраты на ветеринарные манипуляции. Использование кросслинкинга роговичного коллагена позволяет в кратчайшие сроки получить положительные результаты при лечении таких заболеваний, как первичный и вторичный язвенный кератит, кератолизис, буллезная кератопатия. Кроме того, кросслинкинг предотвращает распространение патологического процесса, минимизирует поствоспалительное рубцовое изменение роговицы, является эффективным и неинвазивным способом лечения. Полученные в результате исследований данные способствуют расширению и углублению уже имеющихся сведений об этиологии, патогенезе, симптоматике и лечении первичных и вторичных кератопатий у лошадей.

Результаты исследований вошли в учебник для вузов «Ветеринарная офтальмология» (2017 г.), «Болезни глаз животных» (2020 г.), монографию «Практическое руководство по клинической офтальмологии лошадей» (2021 г.). Основные положения и результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс профильных аграрных вузов России: ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана», ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова», ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет», учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» (Республика Беларусь).

Результаты научных исследований награждены Золотой медалью XX Российской агропромышленной выставки «Золотая осень» за «За инновационные разработки в области ветеринарии» (Москва, 2018); диплом 1 степени на Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 2018); диплом 2 степени Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 2020).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Область научных исследований, представленных в диссертационной работе, соответствует паспорту специальности 06.02.04 – ветеринарная хирургия в плане: п. 1. Исследование закономерностей и механизмов развития хирургической патологии (патогенез); п. 2. Изучение общих и специфических признаков хирургических заболеваний (семиотика); п. 3. Исследование принципов и методов диагностики хирургических заболеваний; п. 4. Исследование процессов воспаления, регенерации, трансплантации и выздоровления; п. 7. Разработка методов и обобщение опыта профилактики и лечения хирургических болезней; п. 10. Изучение клинических, гематологических, морфологических. Биохимических и физиологических показателей, объективно характеризующих общее состояние организма и обмена веществ при разных видах патологии.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают цели и задачам работы, логично вытекают из представленного фактического материала. Достоверность полученных данных подтверждена большим объемом исследований, проведенных на сертифицированном оборудовании с использованием современных методик сбора и обработки информации, а также статистических данных. Математическая обработка полученных результатов исследований выполнена с помощью пакета программ Statistika. Материалы диссертации доложены и обсуждены на II и III Всероссийской межвузовской конференции по ветеринарной хирургии (Москва, 2012, 2013), Международный молодежный форум научного аграрного образования «Наука, инновации и бизнес-проекты молодых ученых» (Барнаул, 2015), 5-ой всероссийской межвузовской конференции по ветеринарной хирургии (Москва, 2015), Международная молодежная научно-практическая конференция «Наука молодых – инновационному развитию АПК» (Уфа, 2016), Международная научно-практическая конференция, посвященная 90-летию кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО ВГАВМ «Современные проблемы ветеринарной хирургии» (Витебск, 2016), IV научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии», проводимой в рамках VIII всероссийского фестиваля науки (Москва, 2017), Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания

молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 2018, 2020), Международном молодежном аграрном форуме «Аграрная наука в инновационном развитии АПК» (Белгород, 2018), Национальной научно-практической конференции Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения (Москва, 2019), IX Международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии, посвященной 100-летию Московской ветеринарной академии (Москва, 2019), Международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора Э.И. Веремея «Актуальные вопросы и пути их решения в ветеринарной хирургии» (Витебск, 2019), IV International conference AGRITECH IV – 2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies (Красноярск, 2020).

Публикации результатов исследования. По материалам диссертации опубликована 41 научная работа: 19 – в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 3 статьи – в журналах, индексируемых в международной базе Scopus. Опубликовано 1 монография, 2 учебно-методических пособия, 1 рекомендация, утвержденные на секции «Зоотехния и Ветеринария» ОСХН РАН, 2 патента (№ 2707792, 2019 г.; № 199825, 2020 г.) и 1 положительная заявка на патент (№ 2020138229, дата приоритета 20.11.2020).

Структура и объем диссертации. Диссертация включает следующие разделы: введение, обзор литературы, результаты собственных исследований, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы, заключение, библиографический список. Список использованной литературы включает в себя 159 источников. Работа изложена на 362 страницах компьютерного текста, содержит 65 таблиц и 258 рисунков.

Методология и методы исследования. Для достижения основной цели диссертационной работы, решения поставленных задач, а также обоснования применения полученных результатов использованы актуальные методологические приемы и доступные методы исследования. Методология исследования в процессе выполнения диссертации включает следующие методы: клинические, офтальмические, гематологические, хемилюминесцентные, цитологические, бактериологические, статистические методы анализа. Объектом исследования являются лошади, больные различными кератопатиями. В процессе выполнения работы обоснована этиология, классификация, патогенез, клиническая картина первичных и вторичных кератопатий, усовершенствована диагностика и разработано эффективное лечение, обеспечивающее стойкое купирование воспалительного процесса, сокращение периода лечения, минимизацию поствоспалительных осложнений.

Основные положения, выносимые на защиту:

- алгоритм клинического исследования органа зрения с применением теста Ширмера, пробы по Норну, использованием витальных красителей, целевой биомикроскопии, офтальмоскопии, микробиологического и цитоморфологического исследования мазков-отпечатков, являющихся легко выполнимыми и высокоинформативными методами дифференциальной диагностики первичной и вторичной форм кератопатий;
- репаративная регенерация переднего отрезка глазного яблока, основанная на клинических формах течения воспаления переднего отрезка глазного яблока в зависимости от характеристики физиологических барьеров глаза;
- изменение антиоксидантной активности слезы у лошадей с различными формами кератопатий как показатель ответной реакции переднего отрезка глаза на воспалительный процесс в роговице;
- концепция патогенеза первичных и вторичных кератопатий у лошадей, основанная на анализе результатов клинических, офтальмических, гематологических, микробиологических, цитологических, хемилюминесцентных исследований, отражает роль биохимических реакций, происходящих в роговице;

- клинико-офтальмическое обоснование и метод лечения первичных и вторичных кератопатий у лошадей с использованием коктейлей бактериофагов, основанный на специфическом антибактериальном действии;
- клинико-офтальмическое обоснование и метод лечения первичных и вторичных кератопатий с использованием кросслинкинга роговичного коллагена, основанного на сшивании коллагеновых волокон под воздействием фотосенсибилизирующего вещества рибофлавин;
- критерии оценки эффективности проводимого лечения, сравнительная характеристика рубцовых поствоспалительных помутнений, основанные на различных типах эпителизации и рубцевания.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы исследования

Диссертационная работа выполнена на базе кафедры общей и частной хирургии имени К.И. Шакалова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», конноспортивных комплексах и клубах Москвы, Московской области, Ленинградской области, Краснодарского края, Ставропольского края, Ленинградской и Калужской областей и т.д. в период с 2011 года по 2021 годы. Исследование общей антиоксидантной активности проведены в отделе сигнальных систем клетки МГУ имени М. И. Ломоносова. Работа основана на анализе результатов изучения 188 лошадей разных породных, половых групп с клиническими признаками воспаления роговицы, направление использования животных – спортивное.

Материалом исследования, полученным от больных лошадей, служили: сыворотка крови, кровь, стабилизированная антикоагулянтом, смывы из конъюнктивальной полости, мазки-отпечатки с поверхности роговицы и слеза.

Методы исследования

В работе использовали комплексный методический подход, включающий: сбор анамнестических данных, клинический осмотр животного, исследование зоны патологического процесса, гематологические исследования, цитоморфологические исследования, бактериологические исследования, биохимические исследования слезной жидкости.

Для исследования глазного яблока использовали налобную лупу Heine, щелевую лампу Швабе, офтальмоскоп Heine, тонометр Tonovet фирмы iCare, набор витальных красителей (флюоресцеин натрия, лиссаминовый зеленый и бенгальский розовый), мидриатики для исследования хрусталика, стекловидного тела и глазного дна (тропикамид 1,0%) - если позволяла прозрачность роговицы проводили функциональные тесты: тест Ширмера и пробу по Норну, для обезболивания глаза использовали препарат «Алкаин», а также мануально оценивали болезненность глазного яблока.

С помощью налобной лупы оценивали реакцию зрачков на свет, их форму, поверхность век, их целостность, наличие блефароспазма, положение ресниц, цвет конъюнктивы, наличие истечений из конъюнктивальной полости, их характер и количество.

С помощью щелевой биомикроскопии выявляли изменения в роговице: нарушение ее прозрачности, наличие инфильтрата, пигмента или гноя в ее ткани, потерю зеркальности и влажности, направление роста, количество и длину сосудов, наличие дефектов ткани роговицы, оценивали глубину передней камеры, наличие в ней содержимого, его количество и характер, исследовали поверхность радужной оболочки, определяли ее цвет, однородность структуры, наличие гроздевидных телец и синехий.

С помощью витального красителя флюоресцеина натрия обнаруживали дефекты в ткани роговицы: интилировали раствор флюоресцеина в конъюнктивальную полость, а затем промывали глазное яблоко физиологическим раствором NaCl 0,9%. В случае

отсутствия эпителия на поверхности роговицы краситель задерживался в ее ткани. По величине, интенсивности и характеру краев окрашенного участка определяли тип изъязвления. Лиссаминовым зеленым и бенгальским розовым обнаруживали дегенерировавшие, лишенные гликокаликса клетки в эпителии роговицы и конъюнктивы.

Пробу по Норну выполняли для оценки стабильности прекорнеальной слезной пленки следующим образом: в конъюнктивальную полость инстиллировали раствор флюоресцеина, затем лошади давали моргнуть, чтобы краситель смешался со слезой, после этого мануально фиксировали веки и засекали время до момента появления в подкрашенной слезе разрыва или пятна темного цвета.

Ключевым являлось определить наличие окулярной боли у лошади, после чего оценивали наличие отека роговицы, его глубину и диаметр, при неоваскуляризации определяли длину и глубину залегания сосудов, воспалительную реакцию со стороны конъюнктивы и участие в воспалении переднего увеального тракта.

Гематологические исследования. Клинический анализ крови и биохимический анализ сыворотки крови проводили на автоматическом анализаторе Mindray BC-6800.

Цитоморфологические исследования мазков-отпечатков с поверхности роговицы выполняли на стерильном предметном стекле, поверхность стекла подносили к дефекту на роговице и выполняли отпечаток, затем сушили на воздухе в течение 10 минут с последующей окраской по Романовскому (Diff Quick) (Dunn J., 2016). После окрашивания препарат промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе. Светооптическое исследование препаратов проводили на микроскопе «MicroOptix» с использованием увеличения 900х.

Бактериологические исследования выполняли с использованием универсальных питательных (мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА)), специальных (кровяной, сывороточный агар, сывороточный бульон, среда Эндо, среда Сабуро), избирательных (щелочная пептонная вода, щелочной мясопептонный агар) и дифференциально-диагностических (среда Левина, Плоскирева) сред. Культивирование бактерий проводили при t° 35 – 37 $^{\circ}$ C в течение 24 часов, грибов при t° 25 – 28 $^{\circ}$ C дрожжеподобных – в течение 1 – 4 суток, плесневых – 3 – 10 дней. После культивирования из выросших колоний делали мазки, окрашивали по Граму и Романовскому – Гимза, микроскопировали с использованием увеличения 900х. Плесневые грибы микроскопировали в препарате «раздавленная капля» при увеличении 400х с опущенным конденсором.

Общую антиоксидантную активность в полученных образцах определяли в системе гемоглобин-Н₂O₂-люминол использованием в качестве стандартов растворов, содержащих 1, 2, 4, 5 или 8 мкМ Тролокса в PBS. Хемилюминесценцию образцов измеряли при помощи люменометра Glomax-Multi Detection System (“Promega”, США). Полученные данные анализировали в программе SigmaPlot11 (“SYSTAT Software”, США). Общую антиоксидантную активность слезы выражали в эквиваленте Тролокса.

Статистическую обработку результатов исследований проводили вручную с помощью программы Statistica. Определяли коэффициенты достоверности исследований и величины погрешностей измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ АНАЛИЗ

Распространение и факторы риска возникновения и развития кератопатий у лошадей

Результаты исследования факторов риска возникновения и развития кератопатий свидетельствуют, что заболеванию подвержены лошади не зависимо от пола, породы и масти.

При всех заболеваниях, по разработанной нами методике, проводили комплексную оценку состояния физиологических барьеров глазного яблока, а именно конъюнктивы и ее слизи, слезы, прекорнеальной слезной пленки, эндотелиально-эпителиального барьера, при

помощи: набора витальных красителей (флюоресцеин натрия, лиссаминовый зеленый), функциональных тестов: тест Ширмера и проба по Норну (таблица 1).

Таблица 1 – Диагностические исследования для оценки состояния физиологических барьеров глаза

Физиологический барьер	Диагностический тест	Материал
Конъюнктив и ее слизь (n=564)	Тест с лиссаминовым зеленым для оценки муцино-дефицита	Лиссаминовый зеленый
Слез (n=564)	Тест Ширмера для оценки слезопродукции и антиоксидантная активность для оценки окислительного стресса	Тест полоски Ширмера
Прекорнеальная слезная пленка (n=150)	Проба по Норну для оценки стабильности прекорнеальной слезной пленки	Флюоресцеин натрия 1%
Эндотелий и эпителий (n=851)	Флюоресцеиновый тест	Флюоресцеин натрия 1%

Всего для оценки муцино-дефицита конъюнктивы проведено 564 теста с лиссаминовым зеленым, для оценки слезопродукции проведено 564 теста Ширмера, для оценки стабильности прекорнеальной слезной пленки проведено 150 исследований, для подтверждения дисфункции эндотелия или эпителия флюоресцеиновый тест выполняли многократно. Оценку состояния конъюнктивального барьера проводили трижды: до начала лечения, через 10 и 30 дней после начала лечения. Согласно полученным данным самые обширные участки погибших клеток выявлены у лошадей с вторичной язвой роговицы и краевым сосудистым кератитом (таблица 2).

Таблица 2 – Оценка состояния конъюнктивального барьера при определении муцино-дефицита у лошадей с кератопатиями (окрашивание лиссаминовым зеленым)

Количество окрашенных участков	Первичный язвенный кератит	Абсцесс роговицы или микроабсцессы	Кератолиты	Вторичный язвенный кератит	Буллезная кератопатия	Неязвенный кератит	Краевой сосудистый кератит	Контроль
До лечения, мм	0,50±0,15*	0,75±0,10*	1,11±0,10*	10,21±0,70*	2,52±0,51*	1,22±0,31*	4,70±0,30*	0,31±0,10
Через 10 дней после начала лечения, мм	0,43±0,20*	0,50±0,21*	0,70±0,11*	10,40±0,61*	2,11±0,32*	1,15±0,14*	3,23±0,10*	0,30±0,10
Через 30 дней после начала лечения, мм	0,52±0,11	0,52±0,10	0,90±0,10*	7,62±0,52*	1,73±0,21*	0,88±0,31*	3,17±0,12	0,36±0,10

Примечание: * – Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0,05$

Оценку состояния слезного барьера также проводили трижды. Установлено, что гиполакрия наблюдалась у лошадей с вторичной язвой роговицы, краевым сосудистым кератитом, буллезной кератопатией и неязвенным кератитом, количество отделяемой слезы восстанавливалось через 30 дней после начала лечения (таблица 3).

Таблица 3 - Оценка состояния слезного барьера у лошадей с кератопатиями (тест Ширмера)

Длина увлажненного участка тест-полоски	Первичный язвенный кератит	Стромальный абсцесс или микроабсцессы	Кератолизис	Вторичный язвенный кератит	Буллезная кератопатия	Неязвенный кератоувеит	Краевой сосудистый кератит	Контроль
До начала лечения, мм	23,50±1,10*	25,77±0,80*	16,41±1,00*	13,99±0,10*	13,51±1,00*	12,42±0,90*	12,88±0,10*	16,2±0,60
Через 10 дней после начала лечения, мм	16,22±0,20*	15,21±0,10*	15,10±0,20*	14,88±0,60*	15,21±0,30*	15,72±0,30*	13,25±0,30*	16,48±0,20
Через 30 дней после начала лечения, мм	16,40±0,99*	14,99±0,33*	15,71±1,01*	13,90±0,88*	15,30±0,33*	15,77±0,50*	15,60±0,45*	16,20±0,22

Примечание: * – Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0,05$

Выполнение теста для оценки состояния прекорнеальной слезной пленки у лошадей с первичной язвой роговицы, кератолизисом и вторичной язвой роговицы было нецелесообразным из-за нарушения целостности роговицы, у лошадей с краевым сосудистым кератитом и неязвенным кератоувеитом выявляли снижение времени разрыва прекорнеальной слезной пленки (таблица 4).

Таблица 4 – Оценка состояния прекорнеальной слезной пленки у лошадей с кератопатиями (проба по Норну)

Время разрыва прекорнеальной слезной пленки	Первичный язвенный кератит	Абсцесс роговицы или микроабсцессы	Кератолизис	Вторичный язвенный кератит	Буллезная кератопатия	Неязвенный кератоувеит	Краевой сосудистый кератит
До начала лечения, сек	-	10,11±0,50*	-	-	10,65±0,77*	8,20±0,11*	6,44±0,20*
Через 10 дней после начала лечения, сек	-	11,55±0,70*	-	-	9,80±0,12*	8,66±0,10*	6,77±0,11*
Через 30 дней после начала лечения, сек	-	10,33±0,21*	-	-	10,80±0,22*	9,40±0,21*	9,10±0,11*

Примечание: * – Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0,05$

Флюоресцеиновый тест был направлен на выявление дисфункции эпителия роговицы и дифференциации эпителиально-эндотелиального отека. Тест выполняли всем заболевшим животным многократно с целью мониторинга проводимого лечения (таблица 5).

Таблица 5 – Оценка состояния эпителиально-эндотелиального барьера у лошадей с кератопатиями (флюоресцеиновый тест)

Кератопатия	Первичный язвенный кератит	Абсцесс роговицы или микроабсцессы	Кератолизис	Вторичный язвенный кератит	Буллезная кератопатия	Неязвенный кератоувеит	Краевой сосудистый кератит
Значение теста	+	-	+	+	-	-	-

У 47 лошадей (25,00%) при офтальмологическом обследовании диагностировали первичную язву роговицы, 22 лошади (11,70%) – кератолизис, стромальный абсцесс или микроабсцессы диагностировали у 30 лошадей (16,00%); среди лошадей с вторичными кератопатиями у 39 (20,70%) лошадей диагностировали вторичную (ползучую) язву роговицы, 13 лошадей (6,90%) имели клиническую картину неязвенного кератоувеита, 20 лошадей (10,60%) с диагнозом буллезная кератопатия, и 17 лошадей (9,00%) – с краевым сосудистым кератитом.

Проведенный анализ состояния физиологических барьеров глазного яблока показал наличие двух форм течения воспаления конъюнктивы и роговицы: у 99 лошадей (52,60%) первичные кератопатии, и у 89 лошадей (47,40%) вторичные кератопатии. Разработанная классификация основывалась на результатах оценки состояния физиологических барьеров: конъюнктивы, слезы, прекорнеальной слезной пленки, эпителиально-эндотелиального барьера. Разрушение двух и более барьеров наблюдали у лошадей с вторичной язвой роговицы, неязвенным кератоувеитом, краевым сосудистым кератитом и буллезной кератопатией (таблица 6).

Таблица 6 – Состояние физиологических барьеров у лошадей с кератопатиями

Физиологический барьер	Первичный язвенный кератит	Абсцесс роговицы или микроабсцессы	Кератолизис	Вторичный язвенный кератит	Буллезная кератопатия	Неязвенный кератоувеит	Краевой сосудистый кератит
Конъюнктив и ее слизь	Функция не нарушена	Функция не нарушена	Гиперфункция	Гипофункция	Функция не нарушена	Функция не нарушена	Гипофункция
Слеза	Гиперфункция	Гиперфункция	Функция не нарушена	Гипофункция	Гипофункция	Гипофункция	Гипофункция
Прекорнеальная слезная пленка	-	Функция не нарушена	-	-	Гипофункция	Гипофункция	Гипофункция
Эпителиально-эндотелиальный барьер	Разрушен эпителиальный барьер	Очаг локализуется в строме	Разрушен эпителиальный барьер	Разрушен эпителиальный барьер	Разрушен эндотелиальный барьер	Очаг локализуется в строме	Очаг локализуется в строме

Первичные кератопатии возникали при экзогенном воздействии (различные травмирующие факторы, разрушающие один или несколько слоев роговицы) с острым течением, обсеменением дефекта роговичной ткани микроорганизмами, в случае осложнения с развитием абсцесса роговицы или кератолизисом. Выявлено, что среди лошадей, больных первичными кератопатиями (первичная язва роговицы, стромальный абсцесс и кератолизис) у 67 лошадей (67,61%) факторами риска, способствующими возникновению первичных язвенных кератитов являлись различные травмы: во время тренировки, во время прогулки, травма подстилкой (опилки, солома, ости злаков), травма во время груминга, у 24 лошадей (24,39%) травма невыясненной этиологии (считали, что это травма в случае наличия острых симптомов, появившихся внезапно); химический ожог

(борщевик) у 8 лошадей (8,00%) (таблица 7). У лошадей с первичными формами кератопатий не выявлено нарушение функции физиологических барьеров глазного яблока. Не установлено корреляции между возрастом и возникновением первичных кератопатий.

Таблица 7 – Факторы риска возникновения первичных кератопатий у лошадей

Причина	Количество больных, в абсолютных величинах	Количество больных, % в относительных величинах
Травма во время тренировки, прогулки, травма во время груминга, подстилкой	67	67,61
Травма невыясненной этиологии	24	24,39
Химический ожог (борщевик)	8	8,00
Всего	99	100,00

Развитию и осложнению патологического процесса в переднем отрезке глаза способствовали: снижение слезопродукции (17,20%), дополнительная ауотравматизация (5,00%), запущенный патологический процесс (позднее обращение за ветеринарной помощью) (12,10%), самостоятельное применение антибиотиков коротким курсом (34,40%), что приводило к переходу процесса в подострый, применение кортикостероидов без постановки диагноза (12,10%), что приводило к прогрессированию патологического процесса, а также применение плотных лубрикантов и кератопротекторов (19,20%), что способствовало быстрому заживлению эпителия и созданию септического патологического очага в строме роговицы (таблица 8).

Таблица 8 – Факторы риска развития первичных кератопатий у лошадей

Причина	Количество больных, в абсолютных величинах	Количество больных, % в относительных величинах
Снижение слезопродукции	17	17,20
Дополнительная ауотравматизация	5	5,00
Поздняя диагностика	12	12,10
Бессистемное применение антибиотиков	34	34,40
Бессистемное применение кортикостероидов	12	12,10
Применение плотных лубрикантов и кератопротекторов	19	19,20
Всего	99	100,00

Вторичные кератопатии возникали при дегенерации эндотелиального барьера (22,42%), ослаблении защитных свойств переднего отрезка глаза (45,00%) из-за нарушения стабильности прекоorneальной слезной пленки, 12,38% случаев – иммуно-опосредованное нарушение микроциркуляторных процессов, в 20,20% случаев – острая и хроническая тканевая гипоксия переднего отрезка глаза (таблица 9). Также, нами установлена корреляция между возрастом и возникновением вторичных кератопатий.

Таблица 9 – Факторы риска возникновения вторичных кератопатий у лошадей

Причина	Количество больных, в абсолютных величинах	Количество больных, % в относительных величинах
Дегенерация эндотелиального барьера роговицы	20	22,42
Ослабление защитных свойств переднего отрезка глаза	40	45,00
Иммуно-опосредованное нарушение микроциркуляторных процессов	11	12,38
Острая и хроническая тканевая гипоксия	18	20,20
Всего	89	100,00

Пусковыми механизмами или факторами риска развития вторичных заболеваний роговицы являлись: в 21,30% случаев – транспортировка лошади, в 52,80% случаев активная работа животного, в том числе сюда относились лошади, находящиеся в тренинге, в 23,50% у лошадей был высококалорийный рацион, который не соответствовал нагрузкам, в 12,30% случаев развитию заболевания способствовало проведение вакцинации, у 10,00% лошадей обнаруживали титры к лептоспирозу, 3,30% лошадей страдали коликами, у 92,00% лошадей на основании клинико-биохимических исследований крови обнаруживали общесоматические заболевания (таблица 10).

Таблица 10 – Факторы риска развития вторичных кератопатий у лошадей

Фактор	Количество больных, в абсолютных величинах	Количество больных, % в относительных величинах
Транспортировка	19	21,30
Интенсивный тренинг	47	52,80
Калорийный рацион	21	23,50
Вакцинация	11	12,30
Сопутствующие заболевания:		
- лептоспироз	9	10,00
- колики	3	3,30
- соматические заболевания	82	92,00

Таким образом, в основе классификации кератопатий у лошадей лежат следующие механизмы: 1) индукция воспалительного процесса экзогенными факторами, способствующими нарушению целостности роговицы, и в зависимости от характера травмы и степени обсемененности травмирующего предмета, иммунорезистентности конъюнктивальной полости и вовлечении в патологический процесс ферментов – первичная форма (первичная язва роговицы, абсцесс роговицы или кератолизис); 2) индукция воспалительного процесса эндогенными факторами, такими как снижение функции физиологических барьеров переднего отрезка глаза и нарушение обменных процессов в роговице, что способствует возникновению вторичной язвы роговицы, краевого сосудистого кератита, неязвенного кератоувеита и буллезной кератопатии, в развитии этих заболеваний лежат факторы, способствующие иммунодепрессивному состоянию организма лошади (транспортировка, вакцинация, наличие сопутствующих заболеваний, интенсивный тренинг) и прогрессированию вторичных кератопатий.

Клиническая картина кератопатий у лошадей

Установлено, что клиническое проявление кератопатий характеризуется значительным полиморфизмом и зависит от этиологического фактора, а также состояния физиологических барьеров переднего отрезка глазного яблока, наличия сопутствующих заболеваний или других индукторных факторов (стресс, транспортировка, перекорм, интенсивные нагрузки и т.п.).

Течение и симптомы первичной язвы роговицы заключаются в следующем: у лошадей выявляли блефароспазм (100,00%) (рисунок 1), выделение слизистого (36,00%), слизисто-гнойного (44,60%), гнойного (19,00%) экссудата из конъюнктивальной полости (рисунок 2), отек и гиперемия конъюнктивы (100,00%), инфильтрацию роговицы лейкоцитами (82,90%) (рисунок 3), диаметр повреждения роговицы был ¼ площади (12,70%), ½ площади (44,60%), субтотальным (19,00% случаев), тотальная язва выявлялась у 40,00% (рисунок 4); глубина повреждения имела важное значение, так как от этого зависел исход язвенного процесса и развитие осложнений (передние синехии, обширный рубец, абсцесс роговицы, кератолизис): наблюдали эрозию (12,70%), поверхностную язву роговицы (44,60%), глубокую язву роговицы (27,60%), прободную язву роговицы (14,80%), расположение дефектов было преимущественно центральным. Васкуляризация сопровождала первичные язвы роговицы в большинстве случаев, ход сосудов указывал на место локализации патологического очага, диаметр и происхождение сосудов различалось и зависело от глубины повреждения и степени патогенности микроорганизмов: у 29 лошадей

(61,70%) васкуляризация была поверхностной, у 18 лошадей (38,30%) – смешанной (таблица 11).

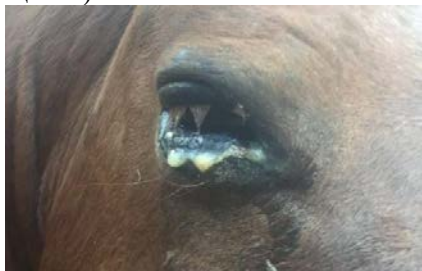


Рисунок 1 – Блефароспазм, выделение слизисто-гнойного экссудата из конъюнктивальной полости.



Рисунок 2 – Блефароспазм, отек и гиперемия конъюнктивы, тотальная прободная язва роговицы, покрытая гнойным экссудатом.

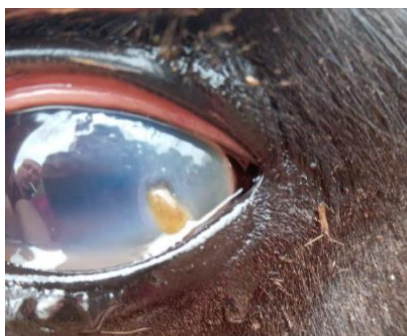


Рисунок 3 – Гиперемия и отек конъюнктивы, выделение слизистого экссудата из конъюнктивальной полости, травма роговицы инородным телом на 17 часов, инфильтрация роговицы воспалительными клетками (лейкоцитами).



Рисунок 4 – Тотальная эрозия роговицы вследствие ожога борщевиком, строма роговицы пропитана инфильтратом.

У лошадей с абсцессом роговицы наблюдали блефароспазм (100,00%), гиперемию и отек конъюнктивы (90,00%), у 17 лошадей (56,70%) происходила инфильтрация стромы с доступом визуализации передней камеры, а у 13 лошадей (43,40% случаев) при инфильтрации стромы визуализация передней камеры и радужной оболочки была затруднена (рисунок 5), поверхностную васкуляризацию наблюдали у 19 лошадей (63,40% случаев), смешанную – у 11 лошадей (36,60%) (рисунок 6), в 76,60% случаев у лошадей с абсцессом роговицы устанавливали миоз радужки (70,00%) и гипопион (76,60%) в передней камере (таблица 11).

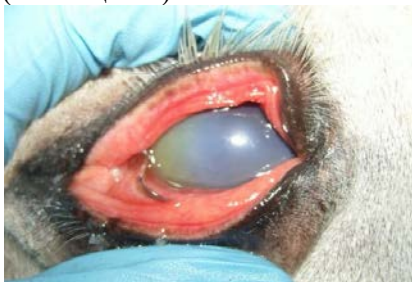


Рисунок 5 – Блефароспазм, отек и гиперемия конъюнктивы, очаг абсцесса локализуется в медиальном углу роговицы.



Рисунок 6 – Очаг абсцесса локализуется в латеральной части роговицы, наблюдается смешанная васкуляризация, миоз.

Течение кератолитиса было острым или подострым, у лошадей наблюдали блефароспазм (100,00%), выделение слизистого экссудата из конъюнктивальной полости у 2 лошадей (9,10%), слизисто-гнойного у 6 лошадей (27,20%), гнойного у 14 лошадей (63,60%), отек и гиперемию конъюнктивы в 90,10% случаев. Цвет роговой оболочки у лошадей был желто-зеленый в 68,20% случаев (рисунок 8), а в 31,80% случаев серый

(рисунок 7). Цвет роговицы при кератомалиции зависел от характера микрофлоры и ее количества. Степень поражения также отличалась, но преимущественно в процесс кератолизиса была вовлечена вся площадь роговицы (81,80%), в 18,20% случаев мы наблюдали субтотальное расплавление или была затронута ½ площади роговицы (таблица 11).



Рисунок 7 – Блефароспазм, отек и гиперемия конъюнктивы, роговица серого цвета, тотальный кератолизис.



Рисунок 8 – Блефароспазм, отек и гиперемия конъюнктивы, роговица желто-зеленого цвета, тотальный кератолизис.

Клиническая картина вторичного язвенного кератита характеризовалась блефароспазмом у 28,2% лошадей, у 11 (28,00%) лошадей слизисто-гнойными, у 28 (71,80%) – слизистыми выделениями, отек и гиперемию конъюнктивы наблюдали у 24 лошадей (61,50%), пропитывание ткани роговицы лейкоцитами у 32 лошадей (82,00%), в 23,00% случаев (9 голов) наблюдали отслойку многослойного плоского эпителия от стромы (рисунок 9), а в 77,00% случаев эпителий прилегал плотно, диаметр язвенного поражения был до 5 мм в 5,10% случаев, до 10 мм в 74,30% случаев и до 15 мм в 20,60% случаев; глубина поражения вещества роговицы была в 82,10% случаев с захватом поверхностных слоев стромы (рисунок 10) и в 17,90% случаев отсутствовал только многослойный плоский эпителий), расположение вторичной язвы у 22 лошадей было центральным (56,40%) и у 17 лошадей – периферическим (43,40%), у 11 голов (28,20%) наблюдали поверхностную васкуляризацию (таблица 12).



Рисунок 9 – Блефароспазм, отек и гиперемия конъюнктивы, в дорсальной части роговицы две вторичные (ползучие) язвы, окрашенные раствором флюоресцеина.



Рисунок 10 – В центре роговицы вторичная язва с ровными краями.

Буллезная кератопатия проявлялась хроническим дегенеративным течением, расстройством функции и питания роговицы, а также снижением зрительных функций. У лошадей возникал эндотелиальный отек в виде тонкой полосы через всю роговицу (65,00%) (рисунок 11), или как округлой формы образование в одной из частей роговицы (35,00%); визуализация передней камеры и радужной оболочки при нарастании отека роговицы у лошадей была разная и зависела от длительности течения заболевания: стромальный отек с визуализацией передней камеры и радужки наблюдали у 80,00% животных, а отек без визуализации передней камеры и радужки у 20,00%; площадь эндотелиального отека была разной, так в 55,00% случаев мы наблюдали отек ¼ части роговицы, в 30,00% случаев мы наблюдали отек ½ части роговицы, субтотальный отек наблюдался в 15,00% случаев и тотальный отек роговицы в 20,00% случаев; изменение характера поверхности роговицы и появление шероховатости, так называемая «лимонная корка», наблюдали в 15,00% случаев,

увеличение ее толщины вследствие пропитывания внутриглазной жидкостью наблюдали в 15,00% случаев (рисунок 12), отслойку многослойного плоского эпителия от стромы и появление булл на поверхности роговицы наблюдали в 10,00%, в некоторых случаях буллы разрывались и на их месте образовывались эрозии роговицы (5,00%) (таблица 12).



Рисунок 11 – Отек в виде полосы в центре роговицы.



Рисунок 12 – Тотальный стромальный отек без визуализации передней камеры и радужной оболочки.

При неязвенном кератоуевите у заболевших лошадей наблюдали блефароспазм в 100% случаев, выраженную гиперемию и отек конъюнктивы (100%), в строме роговицы очаг клеточного инфильтрата, расположенный центрально 69% случаев (рисунок 13), очаг, локализованный по периферии в 30,7% случаев, у всех лошадей (100%) наблюдали выраженную неоваскуляризацию: поверхностную (15,4%) и смешанную (85%) (рисунок 14), сосуды располагались по периферии роговицы по всей ее окружности, роговица была гладкой, без признаков нарушения ее свойств, миоз радужки (100%) и гипопион в передней камере (76,9%) (таблица 12).



Рисунок 13 – Блефароспазм, отек и гиперемия конъюнктивы, инфильтрация центральной части стромы, круговая поверхностная васкуляризация.

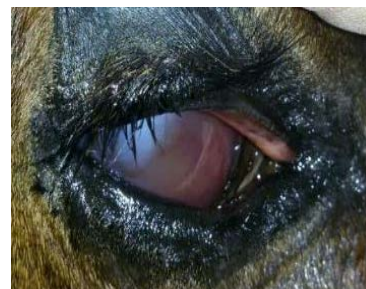


Рисунок 14 – Блефароспазм, отек и гиперемия конъюнктивы, инфильтрация центральной части стромы, круговая васкуляризация.

Клиническая картина краевого сосудистого кератита характеризовалась блефароспазмом в 29,40% случаев, слизистыми истечениями из конъюнктивальной полости в 29,40% случаев (5 голов), периферической неоваскуляризацией поверхностными сосудами в 64,70% случаев, формированием очага инфильтратов у 17 лошадей (100,00%), в одних случаях помутнение располагалось исключительно по периферии (53,00%) (рисунок 15), в других захватывало и центральную часть роговицы (47,00%) (рисунок 16) (таблица 12).



Рисунок 15 – Инфильтрация периферической части роговицы в вентро-медиальной части с захватом центральной зоны.

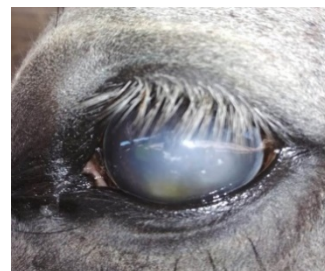


Рисунок 16 – Инфильтрация периферической и центральной части роговицы в вентро-медиальной части, осложнение отложением кальцификатов.

Таблица 11 – Клинические критерии патологических изменений в роговице при первичных кератопатиях у лошадей

Изменения (симптом)	Первичная язва роговицы		Абсцесс роговицы		Кератолизис	
	головы	%	головы	%	головы	%
Блефароспазм	47	100	30	100	22	100
Истечения из конъюнктивальной полости:						
- слизистые	17	36,00	19	63,00	2	9,00
- слизисто-гнойные	21	44,60	11	36,60	6	27,00
- гнойные	9	19,00	-	-	14	64,00
Отек и гиперемия конъюнктивы	47	100,00	27	90,00	20	91,00
Отек роговицы, инфильтрация лейкоцитами в месте язвы	39	82,90	30	100,00	22	100,00
Инфильтрация стромы с визуализацией передней камеры и радужки	36	76,50	17	57,00	3	14,00
Инфильтрация стромы без визуализации передней камеры и радужки	11	23,00	13	43,00	19	86,00
Диаметр повреждения:						
- ¼ площади роговицы	6	12,70	2	6,60	-	-
- ½ площади роговицы	21	44,60	5	16,60	2	9,00
- субтотальное повреждение	9	19,00	14	46,60	2	9,00
- тотальное повреждение	11	40,00	9	30,00	18	82,00
Глубина повреждения:						
- многослойный плоский эпителий	6	12,70	7	23,00	-	-
- многослойный плоский эпителий и поверхностные слои стромы	21	44,60	23	76,60	2	9,00
- многослойный плоский эпителий и глубокие слои стромы	13	27,60	-	-	20	91,00
- все слои стромы	7	14,80	-	-	-	-
Расположение:						
- центральное	31	65,90	25	83,0	7	32,00
- периферическое	16	34,00	5	16,60	15	68,00
Цвет роговицы:						
- желто-зеленый	8	17,00	17	56,60	15	68,00
- серый	39	82,90	3	10,00	7	32,00
- желтый	-	-	10	33,00	-	-
Васкуляризация:						
- поверхностная	29	61,70	19	63,00	2	9,00
- смешанная	11	23,00	11	37,00	20	91,00
Миоз	9	19,00	21	70,00	3	14,00
Гипопион	12	25,50	23	76,60	3	14,00
Гифема	3	6,00	-	-	-	-

Таблица 12 – Клинические критерии патологических изменений в роговице при вторичных кератопатиях у лошадей

Изменения (симптом)	Вторичная язва роговицы		Буллезная кератопатия		Неязвенный кератоеувеит		Краевой сосудистый кератит	
	головы	%	головы	%	головы	%	головы	%
Блефароспазм	11	28	-	-	13	100	5	29
Истечения из конъюнктивальной полости:								
- слизистые	28	72	-	-	-	-	5	29
- слизисто-гнойные	11	28	-	-	-	-	-	-

Продолжение таблицы 12

Изменения (симптом)	Вторичная язва роговицы		Буллезная кератопатия		Неязвенный кератоеувеит		Краевой сосудистый кератит	
	головы	%	головы	%	головы	%	головы	%
Отек и гиперемия конъюнктивы	24	61	-	-	13	100	5	29
Отслойка многослойного плоского эпителия от стромы:								
- да	9	23	2	10	-	-	-	-
- нет	30	77	18	90	-	-	-	-
Эндотелиальный отек:								
- в виде полосы	-	-	13	65	-	-	-	-
- очаг округлой формы	-	-	7	35	-	-	-	-
Стромальный отек с визуализацией передней камеры и радужки	47	100	16	80	4	31	17	100
Стромальный отек без визуализации передней камеры и радужки	-	-	4	20	9	69	-	-
Шероховатость роговицы «лимонная корка»	-	-	3	15	-	-	-	-
Увеличение толщины роговицы	-	-	3	15	-	-	-	-
Расположение:								
- очаг расположен центрально	22	56	13	65	9	69	8	47
- очаг расположен по периферии	17	44	7	35	4	31	9	53
Неоваскуляризация:								
- поверхностные сосуды	11	28	-	-	2	15	11	65
- глубокие сосуды	-	-	-	-	11	85	-	-
Инфильтрация лейкоцитами	39	100	-	-	13	100	17	100
Диаметр повреждения:								
- до 5 мм	2	5	-	-	-	-	1	6
- до 10 мм	29	74	7	35	1	8	4	23
- до 15 мм	8	21	6	30	5	38	9	53
- больше 15 мм	-	-	7	35	7	54	3	18
Цвет роговицы:								
- желто-зеленый	-	-	-	-	13	100	10	59
- серый	39	100	20	100	-	-	7	41
- желтый	-	-	-	-	-	-	-	-
Глубина локализации:								
- многослойный плоский эпителий	7	18	-	-	-	-	-	-
- многослойный плоский эпителий и поверхностные слои стромы	32	82	-	-	-	-	-	-
- многослойный плоский эпителий и глубокие слои стромы	-	-	-	-	-	-	-	-
- поверхностные слои стромы	-	-	-	-	-	-	2	12
- поверхностные и глубокие слои стромы	-	-	11	15	13	100	15	88
- глубокие слои стромы	-	-	6	30	-	-	-	-
- все слои	-	-	3	55	-	-	-	-
Миоз	-	-	-	-	13	100	-	-
Гипопион	-	-	-	-	10	77	-	-
Гифема	-	-	-	-	-	-	-	-

Гематологические показатели у лошадей с первичными и вторичными кератопатиями

При исследовании клеточного состава крови лошадей, больных первичными кератопатиями (первичный язвенный кератит, абсцесс роговицы, кератолизис) не было обнаружено количественных изменений клеток крови.

У лошадей с вторичными кератопатиями (вторичный язвенный кератит, буллезная кератопатия, краевой сосудистый кератит, неязвенный кератоувеит) были установлены следующие изменения: снижение числа лейкоцитов при краевом сосудистом кератите ($6,55 \pm 0,10$), неязвенном кератоувеите ($5,65 \pm 0,20$) и буллезной кератопатии ($6,16 \pm 0,22$); понижение числа сегментоядерных нейтрофилов при неязвенном кератоувеите ($39,25 \pm 1,80$) и буллезной кератопатии ($41,37 \pm 2,14$); снижение числа лимфоцитов при неязвенном кератоувеите ($21,77 \pm 0,70$) и буллезной кератопатии ($29,33 \pm 1,10$).

Изучение биохимических показателей сыворотки крови у лошадей с первичными формами кератопатий не выявило отклонений от показателей у животных контрольной группы. При вторичных формах кератопатий было установлено повышение печеночных трансаминаз: при вторичном язвенном кератите АЛТ $57,57 \pm 1,27$, при краевом сосудистом кератите АЛТ до $61,40 \pm 3,76$, СДГ до $18,90 \pm 1,08$, при буллезной кератопатии АЛТ до $47,28 \pm 1,60$, СДГ до $19,79 \pm 0,93$, при неязвенном кератоувеите АЛТ до $64,89 \pm 3,40$, СДГ до $21,23 \pm 1,27$.

Результаты бактериологического исследования конъюнктивального содержимого лошадей с первичными и вторичными кератопатиями

При первичном язвенном кератите и абсцессе роговицы преобладают грамположительные кокки, включая, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus pneumoniae*. В большом количестве обнаруживают бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, хотя грамположительные изоляты продолжают преобладать. У лошадей с кератолизисом основными микроорганизмами являются *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, что подтверждает их роль в запуске быстро прогрессирующей кератомалиции.

У лошадей с вторичными формами кератопатий не было обнаружено выраженной вариации в различии микробного пейзажа конъюнктивальной полости и поверхности роговицы, выделенная микрофлора была представлена грамположительными кокками и грамотрицательными палочками, а также нитевидными грибами. Основным отличием микробной популяции у лошадей с вторичными кератопатиями от здоровых (контрольных) лошадей являлось большее разнообразие выделенных изолятов и их количество.

Сравнительный анализ микробного пейзажа конъюнктивальной полости и поверхности роговицы у здоровых (контрольных) животных и лошадей, больных клинически разными формами кератопатий позволил установить корреляцию между формой течения кератопатий и микробной популяцией, а также определить факторы, влияющие на кератопатогенность микроорганизмов (наличие условно-патогенных микроорганизмов в необходимом количестве в конъюнктивальной полости в момент травмы, глубина травмы и проникновение микробов в строму, лечение с применением антибиотиков без учета чувствительности микроорганизмов, метаболические нарушения в переднем отрезке глаза).

Цитоморфологическая характеристика первичных и вторичных форм кератопатий у лошадей

Выявленные цитоморфологические изменения в мазках-отпечатках с поверхности роговицы полностью соответствуют клинической картине и являются морфологическим эквивалентом формы течения заболевания. При первичной форме фаза гидратации характеризуется воспалительным типом цитогамм с преобладанием в очаге воспаления сегментоядерных нейтрофилов и разрушенных эпителиальных клеток. На 14-й день, при переходе воспаления в фазу дегидратации в мазках-отпечатках преобладают моноциты.

В тоже время при вторичной форме в цитогамме доминируют гиперсегментоядерные нейтрофилы и эпителиальные клетки в состоянии деструкции, что свидетельствует о ее дегенеративно-воспалительном типе.

Цитоморфологическая картина в мазках-отпечатках с поверхности роговицы при вторичном язвенном кератите характеризует хроническое и вялотекущее течение заболевания с дальнейшей эпителизацией язвенного очага: до лечения обнаруживают гиперсегментоядерные нейтрофилы и разрушенные эпителиальные клетки, на 14-й день лечения – единичные моноциты и преобладание эпителия.

Значение местных окислительных реакций в патогенезе кератопатий у лошадей и разработка клинико-биохимических критериев прогноза

Изменение антиоксидантной активности слезы в сторону возрастания является ответной реакцией на повреждение мембран клеток реактивным кислородом (Батенева, Е.И., Трофимов, Д.Ю., Хаитов, Р.М., 2006, Зерний, Е.Я., Сенин, И.И., Сотникова, Л.Ф., Кабанова, Е.А., 2018, 2019). Установлено, что развитие острого воспаления при первичной форме и хронического (дегенеративного) при вторичной форме течения кератопатий сопровождалось увеличением антиоксидантной активности слезной жидкости. Результаты анализа образцов от 10 лошадей с первичной формой, имеющих общие клинические признаки острого воспаления роговицы и конъюнктивы, свидетельствуют об увеличении значений этого показателя до $310,59 \pm 15,55$ Т по сравнению с контрольными животными ($130,19 \pm 27,01$ Т). В период выздоровления и уменьшения воспаления конъюнктивы и роговицы выявлено устойчивое снижение изучаемого показателя до $295,91 \pm 11,09$ Т на 15-й день лечения и $210,77 \pm 9,09$ Т на 30-й день лечения. Это позволяет предположить о снижении в слезной жидкости воспалительных цитокинов и восстановлении гомеостаза переднего отрезка глаза. Полученные результаты согласуются с данными Зерний, Е.Я., Сенин, И.И., Сотникова, Л.Ф., Кабанова, Е.А. (2018, 2019).

Считается, что развитие окислительного стресса инициирует локальные воспалительные процессы, что может привести к обострению повреждений роговицы (Батенева, Е.И., Трофимов, Д.Ю., Хаитов, Р.М., 2006). Установлено, что степень повышения антиоксидантной активности слезы не коррелировала с тяжестью течения кератопатий. Анализ образцов от 10 лошадей с вторичной формой течения, имеющих общие клинические признаки хронического воспаления показал увеличение значений этого показателя $1378,97 \pm 97,88$ Т по сравнению с контрольными животными ($130,19 \pm 27,01$ Т). В период выздоровления и нормализации метаболических и микроциркуляторных процессов в роговице выявлено устойчивое снижение изучаемого показателя на 15-й день лечения до $1114,51 \pm 32,07$ Т, на 30-й день лечения до $607,59 \pm 21,06$ Т (таблица 13).

Таким образом, определяющим фактором риска возникновения и развития вторичных форм кератопатий является изменение биохимических свойств слезной жидкости, а полученные в результате исследования данные расширяют понимание патогенеза кератопатий и позволяют предположить, что при первичных формах кератопатий повышение антиоксидантной активности является защитным механизмом, а при вторичных формах кератопатий – определяющим звеном патогенеза.

Таблица 13 – Результаты исследования антиоксидантной активности слезной жидкости контрольных и больных лошадей

Кератопатия	До лечения (Тролокс)	15 день лечения (Тролокс)	30 день лечения (Тролокс)
Группа контроля (n=10)	$130,19 \pm 27,01$	$130,19 \pm 27,01$	$130,19 \pm 27,01$
Первичная форма кератопатий (n=10)	$310,59 \pm 15,55^*$	$295,91 \pm 11,09^*$	$210,77 \pm 9,09^*$
Вторичная форма кератопатий (n=10)	$1378,97 \pm 97,88^*$	$1114,51 \pm 32,07^*$	$607,59 \pm 21,06^*$

Примечание: * – Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0,05$

Концепция патогенеза первичных и вторичных кератопатий у лошадей

Отсутствие в современной литературе гипотезы патогенеза кератопатий, обобщающей накопленные к настоящему времени данные затрудняет разработку дальнейших перспективных направлений в изучении этих сложных заболеваний.

Кератопатии являются многофакторными заболеваниями, протекающими в одном случае при травматизации роговой оболочки и дальнейшем развитии болезни, в другом случае при нарушении функции физиологических барьеров переднего отрезка глаза.

Первичные кератопатии возникают при наличии первичного экзогенного воздействия. Происходит нарушение целостности многослойного плоского эпителия, гибель и разволокнение коллагеновых волокон стромы, вторичное разрушение коллагена и кератоцитов вследствие размножения микрофлоры, секреции ферментов конъюнктивы, слезной жидкости и роговицы, и высвобождения медиаторов воспаления. В первой фазе воспаления – гидратации - по какому пути пойдет развитие воспалительной реакции переднего отрезка глаза, - в сторону толерантности (ареактивности – простая язва роговицы), либо иммунопатологического ответа с развитием кератолизиса или абсцесса, зависит от многих факторов: прежде всего от первичного пускового механизма, характера микрофлоры и ферментов в конъюнктивальной полости, количества разрушенных коллагеновых волокон, репаративных возможностей эпителия и своевременно оказанной ветеринарной помощи (рисунок 17).

При первичной язве роговицы нарушение целостности роговицы, размножение вторичной микрофлоры и протеолиз многослойного плоского эпителия и стромы инициирует накопление недоокисленных продуктов. При кератолизисе накапливаются протеолитические продукты в тканях роговицы, что не позволяет сформироваться клеточному барьеру, а набухшая и утолщенная роговица затрудняет процесс васкуляризации.

Точечное нарушение целостности роговицы, проникновение микроорганизмов в строму, закрытие дефекта эпителия и размножение микроорганизмов в строме сопровождают начало абсцедирования роговицы. Периоды обострения клинических признаков, проявляющиеся слезотечением, острым катаральным конъюнктивитом, блефароспазмом сменяются снижением симптомов на фоне применения антибиотиков и нестероидных противовоспалительных препаратов. В этот период роговица остается блестящей, прозрачной, сферичной, влажной. Миграция лейкоцитов из сосудов лимба и конъюнктивы, формирование клеточного барьера – определяют стадию клеточной инфильтрации и фагоцитоза, которая клинически выражается острым течением и изменением цвета роговицы от серо-голубого до желто-зеленого в зависимости от характера микрофлоры. Интенсивность пропитывания очага воспаления зависит от степени накопления в тканях роговицы кислых продуктов обмена, запуская процессы васкуляризации и барьеризации. При язве и абсцессе в дальнейшем происходит нарастание ацидоза, в центре очага воспаления создаются условия для внутритканевого переваривания мертвых тканей и инфекта, а по периферии, на границе со здоровыми тканями запускаются процессы локализации и барьеризации, что клинически проявляется исчезновением бледно-голубого отека, формированием кратера язвы и вращением сосудов в роговицу, при этом клеточный барьер уступает место грануляционному. В результате ферментолиза и фагоцитоза в центральной части очага воспаления мертвые ткани разжижаются, формируется язва или абсцесс, отграниченные от неповрежденных тканей грануляционным барьером. В случае кератолизиса при оказании квалифицированной помощи (назначение ингибиторов протеолитических ферментов, антибиотиков с учетом чувствительности микрофлоры, применения кросслинкинга) в очаге воспаления создаются условия для внутритканевого переваривания мертвых тканей и фагоцитоза мертвых клеток и инфекта. По периферии роговицы запускаются процессы барьеризации и процесс переходит во вторую фазу - дегидратацию.

Вторая фаза воспаления характеризуется снижением всех признаков воспаления и постепенной нормализацией био-физико-химических нарушений, возникших в первой фазе. Это способствует развитию в очаге воспаления дегидратационных явлений, на фоне которых в патологическом очаге преобладают компенсаторно-восстановительные процессы. Одновременно с этим наступает завершение барьеризации очага воспаления формирующейся грануляционной тканью. Этой фазе соответствуют следующие клинические признаки: заполнение воспалительного очага анастомозами сосудов и формирование гранулемы с отложением фибробластов. В дальнейшем наступает самоочищение от продуктов тканевого распада с преобладанием процесса регенерации в патологическом очаге и тканевой дефект замещается преимущественно соединительнотканнными элементами с постепенной нормализацией трофики, что клинически проявляется формированием рубца и запустеванием сосудов в роговице.

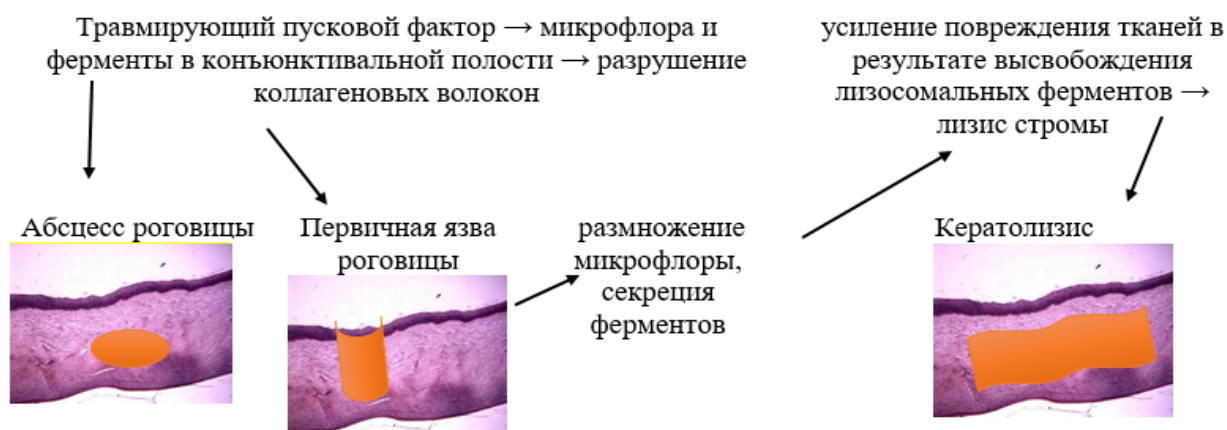


Рисунок 17 – Схема патогенеза первичных кератопатий у лошадей.

Вторичные кератопатии возникают при наличии дисфункции физиологических барьеров глазного яблока: гибель бокаловидных клеток конъюнктивы и гиполакримия приводят к нарушению стабильности прекорнеальной слезной пленки. Гибель бокаловидных клеток приводит к уменьшению количества муцина из-за чего водный слой прекорнеальной слезной пленки не удерживается. Снижается количество гликозаминогликанов (иммунных комплексов), выполняющих противомикробную функцию. Эпителий не получает необходимого количества кислорода и питательных веществ, нарушаются обменные процессы в многослойном плоском эпителии роговицы, накапливается реактивный кислород, возникают микроциркуляторные нарушения в многослойном плоском эпителии роговицы, запускается его протеолиз и снижаются процессы репаративной регенерации, в результате возникают хронические эрозии роговицы (рисунок 18).

Размножение вторичной микрофлоры в эпителии и поверхностных слоях стромы роговицы инициирует умеренное накопление недоокисленных продуктов и слабо выраженный воспалительный отек - первую стадию первой фазы воспаления – гидратацию. Вторая стадия первой фазы воспаления - миграция лейкоцитов из сосудов лимба и конъюнктивы, и формирование клеточного барьера. В очаге воспаления развивается умеренный местный ацидоз. В зависимости от выраженности кислой реакции процесс идет в двух направлениях: 1) плоскостная эпителизация – миграция эпителия в зону очага воспаления, размножение эпителия и его адгезия к строме; 2) васкуляризация и барьеризация. Сосудистые реакции при незрелом кератопатите и краевом сосудистом кератите возникают при отсутствии повреждения эпителия и стромы, в результате накопления в различных слоях стромы антигенов, токсинов, недоокисленных продуктов. В

патологический процесс вовлекается передний увеальный тракт, что проявляется миозом радужки и гипопионом в передней камере при незрелом кератоуевите.

Вторая фаза воспаления характеризуется компенсаторно-восстановительными процессами, размножением эпителия, синтезом коллагеновых волокон, анастомозированием, и накоплением фибробластов. В дальнейшем наступает самоочищение от продуктов тканевого распада и постепенная нормализация трофики. В случае своевременного и правильного лечения заболевание переходит во вторую фазу – дегидратацию (формирование клеточного или грануляционного барьера, биологическое самоочищение и рубцевание).

Высказанное ранее предположение об иммунном характере воспаления в роговице подтверждено результатами работ, выполненных с использованием хемилюминесцентных и спектрофотометрических исследований (Зерний, Е.Ю., Ганчарова, О.С., Ишутина, И.Е., Бакшеева, В.Е., Головастова, М.О., Кабанова, Е.И., Савченко, М.С., Серебрякова, М.В., Сотникова, Л.Ф., Замятнин, А.А., Филиппов, П.П., Сенин, И.И., 2016, 2017). Авторами установлено, что развитие эрозий и язв роговицы сопровождается разнонаправленными изменениями содержания основных белков слезной плёнки. Результаты протеомного анализа слезы говорят о возможности использования белков серотрансферрина, сывороточного альбумина и аннексина А1 в качестве маркеров исследуемого офтальмологического осложнения.

Накопление в слезе недоокисленных продуктов, токсинов и антигенов приводит к ишемии эндотелия роговицы и его дегенерации (Погибелева, Л.В., 1998, Горгиладзе, Т.У., 1992, Lavach, J.D., 2004, Gilger, B., 2012). В месте дефекта эндотелия создается непосредственный контакт волокон стромы с внутриглазной жидкостью, что в результате вызывает отечное пропитывание стромы, сопровождающееся разрушением коллагеновых волокон стромы с высвобождением коллагеназы, которая также неблагоприятно влияет на эндотелий (способность образования заднего коллагенового слоя). В результате происходит пропитывание стромы внутриглазной жидкостью и разволокнение коллагеновых волокон. За счет большого количества жидкости строма сильно утолщается и на некоторых участках происходит отслойка многослойного плоского эпителия, при этом поверхность роговицы может становиться шероховатой или приобретать вид «лимонной корки». Известно, что межволоконный и интраволоконный отек стромы приводят к вымыванию хондроитин- и кератансульфатов, набуханию и разрушению коллагеновых пластин, дистрофическим изменениям кератоцитов. В последующем возникает буллезная отслойка эпителия и дезэпителизация роговицы. При разрыве многослойного плоского эпителия на роговице образуется неглубокая эрозия.

Заболевание является рецидивирующим и периоды длительной ремиссии достигаются только путем комплексной терапии (трансэпителиальный кросслиндинг роговичного коллагена в сочетании инстилляцией капель). При терапии заболевания происходит уплотнение коллагена стромы и нормализация окислительно-восстановительных процессов в роговице. За счет дегидратации стромы роговица восстанавливает свою толщину и прозрачность.

Концепция патогенеза не претендует на полное, исчерпывающее объяснение всех сторон этого сложного заболевания. Однако, на современном этапе позволяет с патогенетических позиций подойти к разработке более эффективных методов диагностики, лечения и профилактики и наметить перспективные пути дальнейшего изучения этой проблемы.



Рисунок 18 – Схема патогенеза вторичных кератопатий у лошадей.

Лечение кератопатий у лошадей

Разработка схем лечения кератопатий у лошадей проводилась с учетом этиологического фактора, течения воспалительного процесса, данных функциональных тестов, значений антиоксидантной активности слезы, а также клинического статуса больных животных. При этом, мы соотносили форму кератопатии со способом введения лекарственного препарата и этапностью лечения.

Для лечения первичных кератопатий были разработаны схемы, которые позволили купировать воспаление переднего отрезка глаза, в том числе переднего увеального тракта, подавить патогенную микрофлору и стимулировать неоваскуляризацию для формирования грануляционного барьера, и, затем соединительно-тканного рубца.

Первичные кератопатии мы лечили по трехэтапной схеме: на 1 этапе важным было очистить конъюнктивальную полость от патогенной микрофлоры, клеточного дэбриса и купировать или профилактировать развитие иридоциклита, на 2 этапе стимулировали неоваскуляризацию для формирования грануляционного барьера, на 3 этапе лечение было направлено на образование соединительно-тканного рубца и его реорганизацию (таблица 14). Динамика выздоровления лошадей с первичными кератопатиями представлена на рисунках 19 – 24.

Таблица 14 – Схема медикаментозного лечения первичных кератопатий

Препарат (название и действующее вещество)	Кратность инстилляций		
	1 этап лечения	2 этап лечения	3 этап лечения
Метрогил (метронидазол)	Активная санация конъюнктивальной полости		
Ирис (гентамицин), Тобрекс (тобрамицин), Сигницеф (левофлоксацин), Вигамокс (моксифлоксацин), Азидроп (азитромицин), Левомецетин (хлорамфеникол)	По 1-2 капли 4-5 раз в день	По 1-2 капли 3 раза в день	
Атропин 1%	По 1-2 капли 1-2 раза в день		
Апротинин	По 1-2 капли 3-5 раз в день		
Физиологический раствор NaCl 0,9%		Санация конъюнктивальной полости	Промывание конъюнктивальной полости 1 раз в день
Корнерегель (декспантенол) Солкосерил (депротеинизированный диализат из крови здоровых молочных телят)			По 1-2 капли 3-4 раза в день
Дексаметазон			По 1-2 капли 2 раза в день



Рисунок 19 – Макрокартина правого глаза лошади с кератоллизисом: блефароспазм, гиперемия и отек конъюнктивы, тотальная кератомалация, роговица серого цвета. До начала лечения.



Рисунок 20 – Макрокартина правого глаза лошади с кератоллизисом: формирование грануляционного барьера вокруг очага воспаления. Через 43 дня после начала лечения.



Рисунок 21 – Макрокартина правого глаза лошади с кератоллизисом: в центральной части роговицы уменьшение площади гранулемы, исчезновение очагов пигмента. Через 67 дней после лечения.



Рисунок 22 – Макрокартина левого глаза лошади с первичной язвой роговицы: язва роговицы, формирование грануляционного барьера. До начала лечения.



Рисунок 23 –Макрокартина левого глаза лошади с первичной язвой роговицы: барьеризация – отделение пораженных тканей роговицы от здоровых. Через 23 дня после начала лечения.



Рисунок 24 – Макрокартина левого глаза лошади с первичной язвой роговицы: формирование лейкомы. Через 51 день после начала лечения.

Лечение вторичных кератопатий было длительным, включало местное и системное применение лекарственных препаратов. Важно отметить, что вторичные кератопатии характеризовались рецидивирующим течением.

При вторичной язве роговицы у лошадей на 1 этапе лечения применяли антибиотики согласно чувствительности микроорганизмов. На 2 этапе, который соответствовал началу эпителизации язвы и сокращению ее диаметра в схему лечения добавляли кератопротекторы и на 3 этапе лечения мы назначали только кератопротекторы и антиоксиданты (таблица 15).

Для лечения буллезной кератопатии использовались ингибиторы протеолитических ферментов, стероидные противовоспалительные, антиоксидантные и витаминные препараты (таблица 15).

Лечение неязвенного кератоуевита было направлено на устранение очага воспаления в строме, купирование иридоциклита и восстановление свойств и обмена веществ в роговице и включало применение стероидных противовоспалительных препаратов,

мидриатиков и циклоплегиков. Для нормализации обменных процессов и устранения окислительного стресса применяли антиоксиданты (таблица 15).

Лечение краевого сосудистого кератита было направлено на устранение воспаления периферической части роговицы, восстановление питания лимбальной зоны, ингибирование протеолитических ферментов в очаге инфильтрации и восстановление свойств роговицы и включало ингибиторы протеолитических ферментов, в случае изъязвления роговицы антибиотики с учетом чувствительности микроорганизмов, стероидные противовоспалительные препараты и антиоксиданты для нормализации обменных процессов в роговице (таблица 15).

Таблица 15 – Схема медикаментозного лечения вторичных кератопатий у лошадей

Препарат (название и действующее вещество)	Кратность инстилляций		
	1 этап лечения	2 этап лечения	3 этап лечения
Субконъюнктивальные инъекции (новокаин 0,5% 2,5 мл+гемтамицина сульфат 0,5 мл)	1 инъекция в 7-10 дней		
Окомистин (бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмоний)	По 2-3 капли 3-4 раза в день		
Гордокс (апротинин) – при буллезной кератопатии	По 2-3 капли 4-5 раз в день	По 2-3 капли 4-5 раз в день	
Стероидные противовоспалительные средства: Дексаметазон - при буллезной кератопатии, неязвенном кератоуевите, краевом сосудистом кератите	По 1 капле 3-4 раза в день	По 1 капле 3-4 раза в день	
Атропин 1% - при неязвенном кератоуевите	По 1 капле 2 раза в день	По 1 капле 1 раз в день	
Ирис (гентамицин) Тобрекс (тобрамицин) Сигницеф (левофлоксацин) Вигамокс (моксифлоксацин) Флоксал (офлоксацин) Азидроп (азитромицин) Левомецетин (хлорамфеникол)	По 1-2 капли 3-4 раза в день	По 1-2 капли 3 раза в день	
Корнерегель (декспантенол) Солкосерил (депротенизированный диализат из крови здоровых молочных телят) – при вторичной язве в стадии эпителизации		По 1-2 капли 3-4 раза в день	По 1-2 капли 3 раза в день
Визомитин			По 1-2 капли 2 раза в день

Использование кросслинкинга роговичного коллагена для лечения кератопатий у лошадей

Включение модифицированного УФА кросслинкинга в схему лечения кератопатий у лошадей позволило достичь высокого терапевтического эффекта в восстановлении роговицы в сравнении с применением только инстилляций капель.

Коллагеновый кросслиндинг применялся для биомеханической стабилизации роговицы. Его суть заключается в полимеризации фибрилл стромы, увеличении количества интра- и интерфибрилярных ковалентных связей в коллагеновых структурах под влиянием фотодинамических реакций взаимодействия ультрафиолета А (УФА) и раствора рибофлавина и, как следствие, кратковременного активного высвобождения свободных радикалов кислорода, стимулирующих поперечное сшивание коллагеновых структур. В результате лечебного фотохимического и фотофизического воздействия и образования поперечных сшивков строма уплотнялась и становилась прочнее, повышалась ее

протеолитическая устойчивость и улучшалась прозрачность. Кроме того, известно, что УФА кросслинкинг обладает бактерицидным и бактериостатическим действием в отношении широкого спектра патогенных микроорганизмов.

Для оценки эффективности применения кросслинкинга в лечении первичных и вторичных кератопатий лошади были поделены на 8 групп, из них 4 контрольные (1, 2, 3, 4) и 4 опытные (5, 6, 7, 8), в каждой по 5 голов лошадей. Контрольным группам применяли традиционную схему, включающую применение только инстилляций капель: 1 группа – лошади с первичной язвой роговицы, 2 группа лошади с вторичной язвой роговицы, 3 группа – животные с кератолизисом и 4 – с буллезной кератопатией. Опытным группам в лечение включали кросслинкинг роговичного коллагена: 5 группа – лошади с первичной язвой роговицы, 6 группа лошади с вторичной язвой роговицы, 7 группа – животные с кератолизисом и 8 с буллезной кератопатией.

Методика кросслинкинга роговицы у лошадей была следующей: проводили инстилляцию местного офтальмологического анестетика («Алкаин»), далее в конъюнктивальную полость закапывали 0,1% раствор рибофлавина по 1 капле в минуту в течение 15-20 минут. После чего воздействовали на роговицу УФА-излучением с помощью устройства «Кросскор» с длиной волны 365 ± 5 нм, мощностью ультрафиолетового излучения 3 мВт/см^2 (рисунок 25). Данное устройство в отличие от традиционно применяющегося в офтальмологической практике стационарного аппарата, более удобно в использовании, поскольку позволяет в ручном режиме воздействовать на заинтересованные патологические участки роговицы, не требует седации и иммобилизации животного. После воздействия инстиллировали антибактериальные капли, которые затем использовались 3 раза в день в течение 21 дня.

Существующий протокол проведения кросслинкинга предусматривает предварительное удаление эпителия, но поскольку у животных с кератопатиями целостность эпителия была нарушена в результате имеющегося патологического процесса (первичная и вторичная язва роговицы, кератолизис), в его удалении не было необходимости. При буллезной кератопатии использовался трансэпителиальный способ воздействия УФА на коллаген роговицы.

Оценка результатов лечения проводилась каждые 7 дней на основании данных клинического осмотра переднего отрезка глаза: при кератолизисе оценивали наличие и количество сосудов в роговице и компактность роговичной ткани, при буллезной кератопатии оценивали степень прозрачности и гидратации роговицы, при первичном и вторичном язвенном кератите дополнительно окрашивали роговицу флюоресцеином натрия 1%. Между 1, 2 и 3 экспозицией применяли капли с антибиотиком широкого спектра действия кратностью 2-3 раза в день и антисептик авитар или окомистин кратностью 3 раза в день.

Результаты применения кросслинкинга роговичного коллагена показали, что при первичной язве роговицы был минимизирован рост сосудов и в два раза происходило сокращение дефекта ($50\pm 10\%$) после первой процедуры (рисунок 26-28), а при вторичной язве роговице на 7 день после первой процедуры происходило сокращение диаметра язвы на $70\pm 20\%$ (таблица 16).

Таблица 16 – Результаты лечения лошадей при первичных и вторичных кератопатиях с помощью роговичного кросслинкинга

Диагноз	Кол-во процедур	Сокращение диаметра язвы	Блефароспазм/вазуляризация
Первичный язвенный кератит	3	На $50\pm 10\%$ на 7 день после первой процедуры	Снижение на 7 день после первой процедуры/ не выражена
Вторичный язвенный кератит	3	На $70\pm 20\%$ на 7 день после первой процедуры	Отсутствует/ отсутствует
Кератолизис	3	На 8-й день после первой процедуры	Снижение на 8 день после первой процедуры/ отсутствует
Буллезная кератопатия	3	На 14-й день лечения	На 21-й день лечения

В то же время по нашим данным при применении традиционной схемы лечения купирование язвенного процесса достигалось за более длительный срок (57 ± 11 дней).

Таким образом, проведенное лечение позволило на 2-3 месяца сократить сроки восстановления формы роговицы по сравнению с известными схемами.

Результаты применения кросслинкинга роговичного коллагена при кератолизисе показали исчезновение блефароспазма на 8-й день после первой процедуры, уплотнение ткани роговицы без процесса васкуляризации за счет укрепления коллагена роговицы и эпителизации очага воспаления (рисунок 29-31).

Результаты применения кросслинкинга роговичного коллагена при буллезной кератопатии показали локализацию и уменьшение отека на 14-й день лечения и уплотнение ткани роговицы на 21-й день, после третьей процедуры.

У лошадей 1 группы, которым применяли традиционную схему терапии, длительность лечения составила 57 ± 11 дней, 2 группы - 60 ± 1 дней, 3 группы - 45 ± 2 дня, 4 группы - 93 ± 13 дня, 5 группы лошадей - 25 ± 5 дней, 6 группы - 32 ± 5 , 7 группы лошадей - 21 ± 2 день, 8 группы - 28 ± 1 дней. При этом исходом патологического процесса являлись: у лошадей 1 группы лейкома диаметром 14 ± 3 , прозрачность роговицы была частичная, у 2 группы - макула, нубекула, диаметр которых не превышал $4\pm 0,5$ мм, у 3 группы субтотальная лейкома диаметром 18 ± 2 мм, прозрачность роговицы отсутствовала, у 4 группы исходом являлась локализация и уменьшение отека с субтотального и тотального до 12 ± 1 мм, роговица была прозрачная, с визуализацией передней камеры, у 5 группы лошадей - макула, нубекула диаметром $3,5\pm 0,5$ мм, у 6 группы нубекула диаметром $1,8\pm 0,3$ мм, у 7 группы лошадей нубекула диаметром 5 ± 1 мм, прозрачность роговицы была сохранена, у 8 группы исходом являлась локализация и уменьшение субтотального и тотального отека до 8 ± 2 мм, роговица была прозрачная.

Таким образом, применение модифицированного кросслинкинга у животных с различными видами кератопатий продемонстрировало отличный терапевтический эффект. У лошадей опытных групп с первичными и вторичными кератопатиями показано, что включение в алгоритм лечения локального кросслинкинга роговицы уже после первой процедуры тормозит процесс протеолиза, способствует заживлению роговицы без формирования новообразованных сосудов, уплотнению ткани стромы с восстановлением прозрачности роговицы. При этом применение КЛРК позволяет значительно сократить срок лечения (таблица 17).

Таблица 17 – Сравнительная оценка эффективности лечения лошадей с кератопатиями при применении лечения, включающего кросслинкинга роговичного коллагена, и традиционной схемы лечения

Группы лошадей	Метод лечения	Дни лечения	Исход
1 группа (n=5)	Традиционная схема	57 ± 11	Лейкома 14 ± 3 , прозрачность роговицы частичная
2 группа (n=5)	Традиционная схема	60 ± 1	Макула, нубекула $4\pm 0,5$ мм
3 группа (n=5)	Традиционная схема	45 ± 2	Лейкома 18 ± 2 мм, прозрачность роговицы отсутствует
4 группа (n=5)	Традиционная схема	93 ± 13	Локализация и уменьшение отека до 12 ± 1 мм, роговица прозрачная
5 группа (n=5)	Кросслинкинг роговичного коллагена	25 ± 5	Макула, нубекула $3,5\pm 0,5$ мм
6 группа (n=5)	Кросслинкинг роговичного коллагена	32 ± 5	Нубекула $1,8\pm 0,3$ мм
7 группа (n=5)	Кросслинкинг роговичного коллагена	21 ± 2	Нубекула 5 ± 1 мм, прозрачность роговицы сохранена
8 группа (n=5)	Кросслинкинг роговичного коллагена	28 ± 1	Локализация и уменьшение отека до 8 ± 2 мм, роговица прозрачная



Рисунок 26 –Макрокартина левого глаза лошади с первичной язвой роговицы: отек роговицы вокруг места накола, ползучая эрозия роговицы. До применения кросслинкинга роговичного коллагена.



Рисунок 27 –Макрокартина левого глаза лошади с первичной язвой роговицы: формирование клеточного барьера. На 7-й день после применения кросслинкинга.



Рисунок 28 –Макрокартина левого глаза лошади с первичной язвой роговицы: нубекула. На 14-й день после применения кросслинкинга.



Рисунок 29–Макрокартина левого глаза лошади с кератолизисом: кератолизис, затронута вся роговица. До применения кросслинкинга роговичного коллагена.

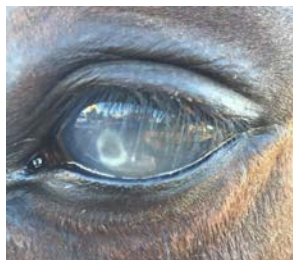


Рисунок 30 –Макрокартина левого глаза лошади с кератолизисом: 8-й день лечения: очаг кератолизиса значительно сократился, по периферии роговица прозрачная.



Рисунок 31–Макрокартина левого глаза лошади с кератолизисом: 21-й день лечения: полная эпителизация роговицы, восстановление ее целостности.

Использование коктейлей бактериофагов для лечения кератопатий у лошадей

Для лечения травм роговицы мы включали в схему бактериофаговый препарат, заменяя им антибиотики и нестероидные противовоспалительные средства через 7 дней после начала антибиотикотерапии. Терапию проводили по следующей схеме: предварительное очищение конъюнктивальной полости раствором метрогила, затем инстилляцией бактериофага по 1 капле 3-5 раз в день в зависимости от тяжести течения заболевания.

Контрольный осмотр больного глаза проводили каждые 3-5 дней с целью фиксации динамики лечения: у всех лошадей отмечали снижение количества выделяемого из конъюнктивальной полости, исчезновение гнойного экссудата, снижение признаков воспаления конъюнктивы и роговицы, активную васкуляризацию; на 9-11 день лечения отмечали формирование грануляционного барьера; на 21-29 день образование гранулемы. Дальнейшее лечение проводили с целью уменьшения плотности и величины рубцовой ткани, используя стероидные противовоспалительные препараты.

Анализ динамики заживления роговицы показывает, что важным в лечении является контроль процесса кератомалиции, вовлечения в патологический процесс всей площади роговицы, предотвращение удержания микроорганизмов в строме и характер выделяемой из конъюнктивальной полости микрофлоры. Применение бактериофагового препарата позволило достичь купирования острого процесса в короткие сроки (3-5 дней) и восстановить целостность ткани роговицы путем заживления через вторичное натяжение: на 9-11 наблюдали формирование грануляционного барьера и на 21-29 день происходило полное восстановление дефекта роговицы с образованием гранулемы. Полученные данные

свидетельствуют о перспективности применения бактериофагового препарата для лечения травм переднего отрезка глаза (рисунок 32-37).



Рисунок 32 –Макрокартина правого глаза лошади с прободной язвой роговицы: центре роговицы прободная язва с выпадением радужной оболочки, в передней камере кровь. До применения бактериофага.



Рисунок 33 –Макрокартина правого глаза лошади с прободной язвой роговицы: в центре роговицы прободная язва с выпадением радужной оболочки, глубокая и поверхностная васкуляризация. Через 7 дней после начала лечения, на 1-й день применения бактериофага.



Рисунок 34 –Макрокартина правого глаза лошади с прободной язвой роговицы: в центре роговицы гранулема, передние синехии. На 21-й день применения бактериофага.



Рисунок 35 –Макрокартина правого глаза лошади с прободной язвой роговицы: в центре роговицы гранулема, разрыв передних синехий. На 30-й день применения бактериофага.



Рисунок 36 –Макрокартина правого глаза лошади с прободной язвой роговицы: рассасывание гранулемы, единичные передние синехии. На 41-й день применения бактериофага.

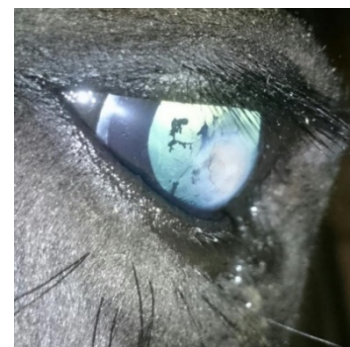


Рисунок 37 –Макрокартина правого глаза лошади с прободной язвой роговицы: соединительно-тканый рубец лейкома, на роговице участки пигментного листка радужки. На 51-й день применения бактериофага.

Ближайшие и отдаленные результаты лечения

Оценку результатов лечения лошадей проводили в ближайшем периоде через шесть и в отдаленном периоде через двенадцать месяцев при первичных формах кератопатий. При вторичных кератопатиях в ближайшем периоде через 6 и 12 месяцев и в отдаленном периоде пять и десять лет.

При оценке результатов лечения в ближайшие и отдаленные сроки учитывали этиопатогенез заболевания (травматизм или нарушение микроциркуляции в переднем отрезке глаза с разрушением физиологических барьеров), клиническое течение кератопатии (острое, подострое, хроническое), своевременность и адекватность лечебной помощи (при своевременно начатом лечении наблюдали выздоровление с восстановлением целостности и прозрачности роговицы), а также лечебную тактику (подбор антибиотика с учетом

чувствительности микрофлоры, поэтапный подход и использование процедуры кросслинкинга роговичного коллагена).

Исходы кератопатий зависели от индуцирующего фактора, глубины и обширности патологического процесса, развившихся осложнений, а также тактики лечения.

При первичных и вторичных кератопатиях заживление проходило по первичному натяжению, за счет плоскостной эпителизации у 21% лошадей. В этом случае исходом воспаления были незначительные помутнения, либо роговица полностью восстанавливала свою прозрачность. У 79% лошадей с первичными кератопатиями заживление проходило путем вторичного натяжения с участием поверхностной или смешанной васкуляризации, оставляя рубцы различной интенсивности и глубины залегания. Наилучшие результаты получены при лечении животных с первичными формами кератопатий при применении кросслинкинга роговичного коллагена и бактериофагов. В результате лечения формировался рубец различной плотности (макула, нубекула или лейкома).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о широком распространении кератопатий у лошадей, а проведенные исследования позволяют систематизировать и классифицировать заболевания роговицы на первичные, возникающие в результате травмы роговицы и последующего размножения патогенной микрофлоры, и, вторичные, индуцированные разрушением физиологических барьеров глазного яблока, а также расширяют понимание этиопатогенеза кератопатий у лошадей. В результате выполнения работы усовершенствована диагностика заболеваний конъюнктивы и роговицы, разработано лечение, позволяющее минимизировать поствоспалительные осложнения, увеличить период ремиссии заболеваний, а также сократить сроки лечения.

Выводы

1. Выявлены две клинические формы кератопатий лошадей, основанные на состоянии физиологических барьеров глазного яблока: первичная форма течения – первичный язвенный кератит, кератолизис, абсцесс роговицы, - возникающая на фоне травматизации роговицы и последующей прогрессии за счет размножения патогенной микрофлоры, и, вторичная форма течения – вторичная язва роговицы, буллезная кератопатия, неязвенный кератитуэит, краевой сосудистый кератит, - инициируемая окислительным стрессом и деструктивными изменениями роговицы.
2. Объективными диагностическими признаками первичной формы течения являются: острое воспаление переднего отрезка глаза, нарушение целостности роговицы, вовлечение в воспалительный процесс радужной оболочки. Осложнением язвенного кератита являются стромальный абсцесс и кератолизис. Диагностически-целесообразные критерии и клинические факторы риска развития слепоты: десцеметоцеле, перфорация роговицы, геморрагический иридоциклит, передние синехии, панофтальмит.
3. Объективными диагностическими клиническими признаками вторичной формы течения кератопатий являются: подострое или хроническое течение воспаления, являющееся следствием разрушения конъюнктивального, слезного, эпителиального и эндотелиального барьеров. Диагностически-целесообразные критерии и клинические факторы риска развития слепоты: гиполакримия, кальцификация, пигментация роговицы, субатрофия глазного яблока, в случае рецидивирующего течения (отдаленные наблюдения более 10 лет) – поражение заднего отдела увеального тракта с вовлечением в патологический процесс хрусталика (капсулярная катаракта) и стекловидного тела (деструкция).
4. Выявленные цитоморфологические изменения в мазках–отпечатках с поверхности роговицы полностью соответствуют клинической картине и являются морфологическим эквивалентом формы течения заболевания. При первичной форме

первая фаза воспаления характеризуется воспалительным типом цитогрaмм с преобладанием в патологическом очаге сегментоядерных нейтрофилов. В тоже время при вторичной форме в цитогрaмме доминируют гиперсегментоядерные нейтрофилы и эпителиальные клетки в состоянии деструкции, что свидетельствует о ее дегенеративно-воспалительном типе.

5. При первичном язвенном кератите и абсцессе роговицы превалируют грамположительные кокки, включая, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus pneumoniae*, палочки семейства *Enterobacteriaceae*. У лошадей с кератолизисом основными микроорганизмами являются *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, что подтверждает их роль в запуске быстро прогрессирующей кератомалации. При вторичных формах кератопатий выделенная микрофлора представлена грамположительными кокками (*Streptococcus spp.* и *Staphylococcus epidermidis*, *Diplococcus spp.*) и грамотрицательными палочками (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*), а также нитевидными грибами (*Mucor spp.* и *Aspergillus flavus*, *Candida spp.*).
6. Выявленные вариации клинических признаков определялись тяжестью течения, характером микрофлоры и коррелировали с цитоморфологическими изменениями в мазках-отпечатках. Характер микрофлоры определял полиморфизм клинических признаков, патоморфологические изменения и особенности репаративной регенерации роговицы.
7. Увеличение антиоксидантной активности слезной жидкости при вторичных формах кератопатий в 15 раз ($1378,97 \pm 97,88$ Т по сравнению с контролем $130,19 \pm 27,01$ Т) отражает степень разрушения клеточных мембран реактивными формами O_2 и является маркером окислительного стресса. Запуск разрушения клеточных мембран эндогенным кислородом является ключевым в повреждении эпителия роговицы. При первичных формах течения кератопатий выявляли увеличение антиоксидантной активности слезной жидкости в три раза ($310,59 \pm 15,55$ по сравнению с контролем $130,19 \pm 27,01$).
8. Представленная концепция патогенеза доказывает роль физиологических барьеров глазного яблока в развитии воспаления переднего отрезка глаза и на современном этапе позволяет подойти к разработке более эффективных методов диагностики, лечения и профилактики первичной и вторичной форм кератопатий у лошадей.
9. Применение бактериофагового препарата при первичных кератопатиях купирует острый процесс в короткие сроки (3-5 дней), позволяет контролировать процесс кератомалации, предотвращая вовлечение в патологический процесс всей площади роговицы.
10. Применение локального кросслинкинга роговицы тормозит процесс протеолиза, сокращает сроки лечения, способствует заживлению роговицы без формирования новообразованных сосудов, уплотняет ткани стромы, восстанавливает прозрачность роговицы за счет сшивания коллагеновых волокон под воздействием фотосенсибилизирующего вещества рибофлавин.
11. На основе многолетнего опыта лечения больных лошадей с различными формами кератопатий и современной концепции патогенеза разработана система лечения заболеваний роговицы у лошадей. Впервые назначение схемы лечения осуществлялось не только с учетом особенностей клинического течения, но и с учетом сопутствующих системных заболеваний, что позволяло определить направление лечения, разработать оптимальные дозы и сроки лечения при различных клинических формах на разных стадиях.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для диагностики и дифференциации первичных и вторичных кератопатий рекомендуем использовать комплексный метод, учитывающий состояние роговицы и конъюнктивы, а также состояние физиологических барьеров глазного яблока (конъюнктивa и ее слизь, слеза, прекорнеальная слезная пленка, эндотелий, лимб).

2. Для лечения первичных кератопатий необходимо проводить терапию антибиотиками с учетом чувствительности микрофлоры, выделенной из конъюнктивальной полости больной лошади. В случае отсутствия чувствительности или низкой чувствительности микрофлоры рекомендуем использовать коктейль бактериофагов «Офтальмофаг», обеспечивающий эффективное купирование острого процесса в короткие сроки (3-5 дней), контроль процесса кератомалиции и предотвращение вовлечения в патологический процесс всей площади роговицы.
3. Для лечения кератолизиса рекомендуем включение в алгоритм терапии локального кросслинкинга роговицы, который тормозит процесс протеолиза, способствует заживлению роговицы без формирования новообразованных сосудов, уплотнению ткани стромы с восстановлением прозрачности роговицы за счет сшивания коллагеновых волокон под воздействием фотосенсибилизирующего вещества рибофлавин и позволяет значительно сократить срок лечения.
4. При лечении вторичных кератопатий необходимо учитывать рецидивирующее течение. Терапия должна быть направлена на восстановление физиологических барьеров переднего отрезка глаза, устранение окислительного стресса и увеличение периода ремиссии.
5. Основные положения диссертационной работы могут быть использованы в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторных занятий со студентами ветеринарных факультетов высших учебных заведений.
6. Основные положения диссертационной работы могут быть использованы при написании соответствующих разделов учебников, учебных пособий, монографий, справочных руководств по хирургии, фармакологии, гистологии, иммунологии, исследовательских работ по хирургической патологии по теме «Офтальмология».

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дальнейшие исследования, связанные с темой диссертации будут направлены на изучение концентрации ферментов, обеспечивающих антиоксидантную защиту слезной жидкости (супероксиддисмутаза, глутатион-S-трансфераза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза) при первичных и вторичных кератопатиях у лошадей.

Перспективным, на наш взгляд является изучение патогенетических механизмов белковых маркеров воспалительных реакций поверхности глаза (цитокины): фактор некроза опухоли, интерлейкин 4, интерлейкин 10, интерлейкин 6.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Гончарова, А.В. Клинико-диагностические критерии кератопатий у животных /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринарный врач. – 2013. - № 6. – С. 48-51.
2. Гончарова, А.В. Диагностические критерии заболеваний роговицы у лошадей /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринария Кубани. – 2013. - № 6. – С. 37-40.
3. Гончарова, А.В. Использование объективных и субъективных методов исследования органа зрения в предпродажном осмотре лошади. Часть 1 /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2014. - № 2. – С.12-19.
4. Гончарова, А.В. Использование объективных и субъективных методов исследования органа зрения в предпродажном осмотре лошади. Часть 2 /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2014. - № 3. – С.12-19.
5. Гончарова, А.В. Лечение лошадей с абсцессом роговицы в зависимости от формы течения заболевания /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016. - № 4. – С.38-43.

6. Гончарова, А.В. Факторы риска возникновения и клинико-офтальмическая характеристика абсцесса роговицы у лошадей /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. – 2016. - № 2 (50). – С. 31-38.
7. Гончарова, А.В. Дифференциально-диагностические критерии оценки рубцовых помутнений роговицы у лошадей в зависимости от формы заживления язвенного кератита /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. – 2016. - № 5 (53). – С. 29-37.
8. 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 (61). – С. 309-319.
9. Гончарова, А.В. Кератопатии у лошадей: оценка физиологических барьеров, клинико-бактериологический мониторинг /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринария и кормления. – 2017. - № 6. – С. 8 – 11.
10. Гончарова, А.В. Изменение антиоксидантной активности слезы у лошадей при различных видах кератопатий/**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Известия Международной академии аграрного образования. – 2017. – выпуск 36. – С. 89 - 93.
11. Гончарова, А.В. Цитоморфологическая картина переднего отрезка глазного яблока при различных видах кератопатий у лошадей /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Аграрный вестник Урала. – 2018. – выпуск 2 (169). – С. 9 - 14.
12. Гончарова, А.В. Этиопатогенез, клиническая картина и лечение буллезной кератопатии у лошадей/ **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Известия Международной академии аграрного образования. – 2018. – выпуск 42. – С. 76 – 81.
13. Гончарова, А.В. Роль оксидативного стресса в патогенезе первичных и вторичных кератопатий у лошадей /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Вопросы нормативно-правового урегулирования в ветеринарии. – 2019. - № 1. – С. 118-120.
14. Гончарова, А.В. Дифференцированный подход к лечению острых травматических повреждений роговицы у лошадей /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2019. - № 2 (172). – С. 132-138.
15. Гончарова, А.В. Лечение вторичных кератопатий у лошадей с учетом этиопатогенеза заболевания /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2019. - № 7 (177). – С. 129-133.
16. Гончарова, А.В. Применение двухэтапной схемы лечения лошадей с кератолизисом, обеспечивающей эффективное ингибирование протеолиза роговицы / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2020. - № 3 (185). – С. 107-111.
17. Гончарова, А.В. Патоморфологические изменения роговицы при кератолизисе у лошадей /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2020. - № 2 (184). – С. 78-83.
18. Гончарова, А.В. Сравнительный анализ исхода вторичных язвенных кератитов у лошадей в отдаленном периоде (10 лет) / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2020. - № 8 (190). – С. 86-91.
19. Гончарова, А.В. Применение кросслинкинга роговичного коллагена для лечения кератолизиса у лошадей / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова, Е.Н. Иомдина // Международный вестник ветеринарии. – 2020. - № 3. – С. 176 - 182.

Статьи, опубликованные в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus

20. Goncharova, A.V. Local oxidative responses of lacrimal fluid in horses in various types of keratopathies / **A.V. Goncharova**, L.F. Sotnikova // AGRITECH-IV-2020/ IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 677 (2021) 022027.
21. Sotnikova, L.F. Local oxidative responses of lacrimal fluid in horses in various types of keratopathies / L.F. Sotnikova, **A.V. Goncharova**, N.V. Pimenov // AGRITECH-IV-2020/IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 677 (2021) 022017.
22. Goncharova, A.V. Ecological problems of primary and secondary keratopathies / **A.V. Goncharova**, L.F. Sotnikova, V.A. Kostylev, A.A. Stekolnikov// WIAFT-V-2021/IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 848 (2021) 012209.

Патенты РФ на изобретения

23. Иомдина, Е.Н. Способ лечения осложнений вирусных и бактериальных кератоконъюнктивитов у животных с помощью коллагенового кросслинкинга/Е.Н. Иомдина, Л.Ф. Сотникова, **А.В. Гончарова**, А.В. Чечнева, Н.Ю. Сапего, Е.В. Яни// Патент на изобретение № 2707792 от 29.11.2019.
24. Иомдина, Е.Н. Устройство для кросслинкинга роговицы / Е. Н. Иомдина, А.Т. Ханджян, Е.В. Яни, В.А. Голикова, Л.Ф. Сотникова, **А.В. Гончарова**, А.В. Кирюхин, А.А. Бровкин // Патент на изобретение № 199825 от 22.09.2020.
25. Сотникова, Л.Ф. Способ лечения язвенных кератитов у лошадей препаратом из коктейля бактериофагов / Л.Ф. Сотникова, Н.В. Пименов, **А.В. Гончарова**, Е.В. Глазунов, В.М. Попова, А.Ю. Зурабов // Заявка № 2020138229, дата приоритета 20.11.2020.

Монографии

26. Практическое руководство по клинической офтальмологии лошадей /А.А. Стекольников, Л.Ф. Сотникова, **А.В. Гончарова**. – Санкт-Петербург, Издательство "Перспект Науки", 2021. – 336 с.

Методические рекомендации и учебные пособия

27. Гончарова, А.В. Клиническая картина, диагностика и лечение язвенного кератита у лошадей /**А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // М.: ФГОУ ВПО МГАВМ и Б, 2011. – 24 с.
28. Стекольников, А.А. Лечение лошадей с первичными и вторичными кератопатиями / А.А. Стекольников, **А.В. Гончарова** // СПб.: ФГБОУ ВО СПбГУВМ, 2021. – 19 с.
29. Стекольников, А.А. Методические рекомендации по лечению кератопатий у лошадей / А.А. Стекольников, Л.Ф. Сотникова, **А.В. Гончарова** // М.: Спутник +, 2021. – 35 с.

Статьи в сборниках научных трудов и материалах конференций, и других изданиях

30. Гончарова, А.В. Клинико-цитоморфологическая характеристика язвенного кератита различных форм у лошадей / **А.В. Гончарова** // Материалы 2-ой всероссийской межвузовской конференции по ветеринарной хирургии: Сборник научных тезисов. - М.: ФГОУ ВПО МГАВМ и Б, 2011. - С. 166-169.
31. Гончарова, А.В. Результаты исследования конъюнктивального содержимого лошадей с язвенным кератитом/ **А.В. Гончарова** // Материалы 2-ой всероссийской межвузовской конференции по ветеринарной хирургии: Сборник научных тезисов. - М.: ФГОУ ВПО МГАВМ и Б, 2011. - С. 163-166.
32. Гончарова, А.В. Сравнительная характеристика бактериальной обсемененности лошадей, больных разными клиническими формами язвенного кератита / **А.В. Гончарова** // Актуальные вопросы ветеринарии и ветеринарной биологии: Сборник научных трудов молодых ученых. - М.: ФГОУ ВПО МГАВМ и Б, 2011. - С. 123-126.

33. Гончарова, А.В. Патогенетические особенности язвенного кератита у животных / **А.В. Гончарова** // Актуальные вопросы ветеринарии и ветеринарной биологии: Сборник научных трудов молодых ученых. - М.: ФГОУ ВПО МГАВМ и Б, 2013. - С. 59-63.
34. Гончарова, А.В. Особенности репаративной регенерации роговицы при язвенных процессах у лошадей / **А.В. Гончарова** // Актуальные вопросы ветеринарии и ветеринарной биологии: Сборник научных трудов молодых ученых. - М.: ФГОУ ВПО МГАВМ и Б, 2014. - С. 35-38.
35. Гончарова, А.В. Изучение возможности применения препарата «Фагодерм» для лечения патологий переднего отрезка глаза у животных / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015. - №3. – С.15-21.
36. Гончарова, А.В. Вторичная форма течения язвенного кератита у лошадей как нарушение метаболических и микроциркуляторных процессов в роговице / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015. - №4. – С.6-10.
37. Гончарова, А.В. Основные подходы к лечению рецидивирующего увеита у лошадей, осложненного абсцессом роговицы / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы 5-ой всероссийской межвузовской конференции по ветеринарной хирургии: Сборник научных тезисов. - М.: ФГБОУ ВО МГАВМ и Б – МВА имени К.И. Скрябина, 2015. - С. 115-118.
38. Гончарова, А.В. Патогенетически обоснованное лечение гнойного процесса переднего отрезка глаза у лошадей с использованием препаратов бактериофагов / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015. - №.6 – С.6-11.
39. Гончарова, А.В. Лечение абсцесса роговицы у лошадей при помощи препарата «Фагодерм» / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы 5-ой всероссийской межвузовской конференции по ветеринарной хирургии: Сборник научных тезисов. - М.: ФГБОУ ВО МГАВМ и Б – МВА имени К.И. Скрябина, 2015. - С. 118-121.
40. Гончарова, А.В. Роль антиоксидантов в патогенезе вторичных язвенных поражений роговицы / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны»: Сборник научных тезисов. - ФГБОУ ВО СПбГАВМ, 2018. - С. 62-63.
41. Гончарова, А.В. Инновационные подходы к лечению травматических поражений роговицы у спортивных лошадей / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы Международного молодежного аграрного форума «Аграрная наука в инновационном развитии АПК»: Сборник научных тезисов. - ФГБОУ ВО БелГАУ, 2018. - С. 125-129.
42. Гончарова, А.В. Основные подходы к лечению рецидивирующего увеита у спортивных лошадей, осложненного абсцессом роговицы / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы национальной научно-практической конференции Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения часть I: сб. ст., 2019. – С. 94-95.
43. Гончарова, А.В. Лечение вторичной (ползучей) язвы роговицы с использованием кросслинкинга роговичного коллагена / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Сборник научных трудов IX Международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии, посвященной 100-летию Московской ветеринарной академии. – МГАВМ. – 2019. – С. 58-65.
44. Гончарова, А.В. Факторы риска возникновения и развития вторичных кератопатий у лошадей / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы международной научно-

- практической конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора Э.И. Веремея «Актуальные вопросы и пути их решения в ветеринарной хирургии». – ВГАВМ. – 2019. – С. 23-25.
45. Гончарова, А.В. Механизм включения патологических реакций при вторичной (ползучей) язве роговицы у лошадей / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора Э.И. Веремея «Актуальные вопросы и пути их решения в ветеринарной хирургии». – ВГАВМ. – 2019. – С. 21-23.
46. Гончарова, А.В. Актуальная классификация кератопатий у лошадей: этиологические факторы и клинические формы / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы международной учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня основания ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. – 2019. – С. 90-92.
47. Иомдина. Е.Н. Применение ультрафиолетового кросслинкинга при язвах роговицы и других кератопатиях у животных / Е.Н. Иомдина, Л.Ф. Сотникова, **А.В. Гончарова**, Е.И. Кабанова, А.В. Чечнева, Н.Ю. Сапего, Е.В. Яни // Российский офтальмологический журнал. – 2019. – Т. 12. - № 3. – С. 51-57.
48. Гончарова, А.В. Сравнение эффективности лечения кератолизиса у лошадей при использовании традиционной схемы и кросслинкинга роговичного коллагена / **А.В. Гончарова**, Л.Ф. Сотникова // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны». – 2020. – С. 102-103.