

Сравнительная характеристика цитоморфологических изменений при лимфаденопатиях собак

А.В. Григорьева, аспирантка, А.В. Савинков, д.в.н., ФГБОУ ВО Самарский ГАУ

Лимфомы – это группа онкологических заболеваний лимфатической ткани, первоначально внекостномозгового происхождения, развивающихся преимущественно в лимфатических узлах и в лимфоидных тканях паренхиматозных органов (селезёнка, печень, лёгкие), кишечника, кожи.

Лимфомы являются одной из наиболее распространённых неопластических патологий у собак. Встречаемость лимфом у собак составляет примерно 80% от всех заболеваний кроветворной системы. В большинстве случаев болезнь поражает животных среднего возраста (6–7 лет), хотя может возникать

и у более молодых особей. Предрасположенность к данному заболеванию была отмечена у таких пород как боксёр, шотландский терьер, бассет-хаунд, эрдельтерьер, чау-чау, немецкая овчарка, пудель, сенбернар, бульдог, бигль, ротвейлер и золотистый ретривер. Гендерные особенности лимфомы у собак не указываются [1–3].

Следует отметить, что нередко увеличение лимфоузлов у животного длительное время остаётся незамеченным владельцами или принимается ими за воспалительную реакцию, вследствие чего собака попадает на приём уже при сильной выраженности клинической картины или после долгого безрезультатного лечения. Причина этому в том, что лимфаденопатия (любое изменение лимфати-

ческих узлов по размеру и/или консистенции, и/или количеству) является одним из наиболее распространённых симптомов в клинической практике как признак самых различных нозологий [4–7].

Диагностика лимфом базируется на данных клинического осмотра, инструментальных методов исследования и лабораторных анализов крови, общеклинического и биохимического, а также данных биопсии поражённого лимфатического узла. Основным анализом, позволяющим подтвердить диагноз лимфома, является морфологическое исследование материала из лимфатического узла. В медицинской практике для исследования берётся часть поражённого лимфоузла или весь лимфатический узел целиком. В ветеринарии зачастую используется цитологическое исследование мазков-отпечатков или материала, взятого с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии. Простота, относительно небольшая стоимость, достаточно быстрое получение результатов, высокая достоверность при типичных клинических симптомах объясняют широкое распространение этого метода [4, 5, 8, 9].

Работы зарубежных исследователей содержат достаточно много информации (в том числе наглядной) о критериях сравнительной цитологической оценки различных патологий лимфоидной ткани, в то время как данные отечественной литературы по этому вопросу весьма скудны. Это вынуждает при исследовании цитологического мазка обращаться к медицинским источникам или работать напрямую с иностранной литературой.

Недостаток материалов по данному вопросу и послужил основанием для настоящего исследования.

Цель исследования – определить ценность цитологического метода исследования при дифференциальной диагностике патологий лимфоидной системы.

Задачи исследования:

– провести цитологическое исследование различных состояний лимфатических узлов у собак и дать характеристику каждому исследуемому процессу;

– оценить информативность метода и возможность его применения в клинической практике.

Материал и методы исследования. В исследовании использовались материалы, взятые от собак с различными состояниями лимфоузлов. Для приготовления цитологических мазков использовались методы тонкоигольной аспирационной биопсии и мазков-отпечатков. Готовые мазки после высушивания на воздухе окрашивались по Паппенгейму и исследовались под иммерсионным объективом (100х) для оценки морфологии клеток и под 40х объективом – для оценки митотической активности. В качестве микрометра для определения размера лимфоидных клеток использовался эритроцит: ядро малого, среднего и большого лимфоцитов собаки

составляет от 1 до 1,5, от 2 до 2,5 и 3 диаметра красных кровяных клеток (эритроцитов) соответственно. Наиболее характерные участки были сфотографированы для наглядного подтверждения полученных данных.

Для лучшей сравнительной оценки были взяты материалы от 14 животных: с нормальным лимфоузлом (5 животных), реактивным лимфоузлом (4 животных) и с лимфомами (5 животных). В исследовании участвовали животные разных пород (лабрадор ретривер, метис, немецкая овчарка, тибетский спаниель, такса стандартная, такса жесткошёрстная, чихуа-хуа, ротвейлер), различного пола, в возрасте от 5 до 12 лет.

Результаты исследования. Образцы из здоровых лимфоузлов были получены в поликлинических условиях с целью определения микрометастазов новообразований, а также для контроля после лечения дерматита. Забор материала проводился методом тонкоигольной аспирационной биопсии.

Основная масса лимфоцитов (порядка 90%) в исследуемых мазках была представлена малыми, хорошо дифференцированными лимфоцитами. Их ядра интенсивно окрашены, без видимых ядрышек, шаровидной формы или с незначительным углублением. Цитоплазма слабо базофильна, представлена небольшим узким ободком. Средние лимфоциты обнаруживаются в значительно меньшем количестве (всего около 5–10%), также заметны единичные большие лимфоциты. Ядра этих клеток крупнее, хроматин менее конденсирован, вследствие чего ядро оптически более светлое, может быть заметно ядрышко. Цитоплазма более обильная и часто базофильная. Зрелые плазматические клетки также обнаруживаются в небольшом количестве. Их ядра имеют плотную хроматиновую субстанцию и эксцентрично располагаются в обильной базофильной цитоплазме. От больших лимфоцитов плазматические клетки отличает бледная перинуклеарная зона. Единичные тучные клетки и нейтрофилы также могут присутствовать (рис.1).

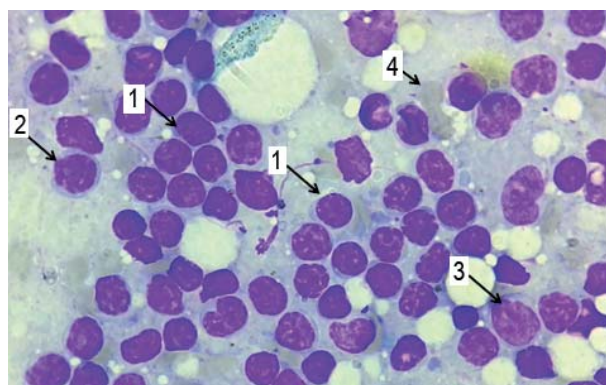


Рис. 1 – Метис, 5 лет, сука. Нормальный лимфоузел: 1 – малые лимфоциты, 2 – средние лимфоциты, 3 – большие лимфоциты; 4 – эритроцит. Ок. 20, об. 100. Окраска по Паппенгейму

Для оценки морфологии клеток реактивных лимфоузлов в данном исследовании использовался материал от собак с различными новообразованиями: фиброаденома, аденокарцинома молочной железы, плоскоклеточный рак кожи. Материал отбирался хирургическим путём при удалении новообразований. Метастатического поражения лимфоузлов не выявлено.

В цитологическом мазке реактивного лимфоузла преобладали малые лимфоциты, однако отмечалось увеличение (от 15% и больше) количества средних и больших типов клеток в общей популяции. Увеличилось также число плазматических клеток индивидуально для каждого случая, в том числе со смещением в сторону незрелости. Обнаруживалось и небольшое количество активированных плазматических клеток (клеток Мотта), характеризующихся обилием цитоплазмы, заполненной сферическими бледными вакуолями, тельцами Рассела. Также в большем объёме, чем в здоровом лимфоузле, однако меньшем, чем при лимфадените, присутствовали нейтрофилы (<5%), эозинофилы (<3%), макрофаги и тучные клетки (единичные). В целом цитологическая картина исследуемых образцов демонстрировала небольшое увеличение числа гранулоцитов, а также незрелых форм лимфоцитов, что характерно для паранеопластической реакции лимфоузла (рис.2).

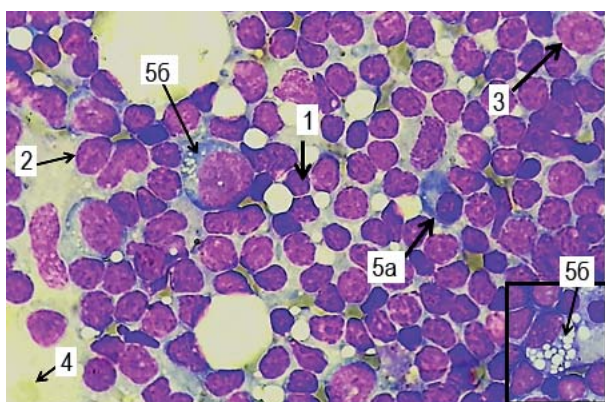


Рис. 2 – Немецкая овчарка, 12 лет, сука. Реактивный лимфоузел: 1 – малый лимфоцит, 2 – средний лимфоцит, 3 – большой лимфоцит; 4 – эритроцит; 5 – плазматическая клетка: 5а – нормальная зрелая клетка, 5б – активированная клетка. Ок. 20, об. 100. Окраска по Паппенгейму

Такая онкологическая патология лимфатических узлов как лимфома (мультицентричная форма) отмечалась у собак на приме в ветеринарной поликлинике у разнопородных животных старше 5 лет. В большинстве случаев отмечались жалобы владельцев на плохое самочувствие и ухудшение аппетита. При осмотре зафиксировано увеличение некоторых из доступных пальпации лимфатических узлов: подчелюстных, предлопаточных, подколенных, паховых и др. Узлы слабо болезненные, плохо подвижные, гладкие, плотные, форма несколько

неровная, температура соответствует окружающим тканям. У ряда животных были сложности с проглатыванием пищевого кома из-за увеличения подчелюстных лимфатических узлов и давления на область глотки. У подопытных животных была проведена тонкоигольная аспирационная биопсия наиболее изменённых лимфатических узлов, предпочтение отдавалось подколенным и предлопаточным.

В мазках присутствовала смешанная популяция клеток, преобладали в основном средние и большие лимфоциты (около 50% от общего количества клеток). Митотическая активность подсчитывалась на среднем увеличении (ок. 20, об. 40) в пяти полях зрения. Был установлен митотический индекс от низкого до высокого: 0–1 митотический рисунок на 5 полей зрения характеризовали низкий, 2–3 митотических рисунка – средний и 3–4 митотических рисунка – высокий уровень митотической активности.

В фоне препарата обнаруживались небольших размеров базофильные цитоплазматические фрагменты (лимфогландулярные тельца), возникающие в результате разрыва незрелых и хрупких лимфоцитов (могут встречаться и в здоровых лимфатических узлах, однако в лимфоме наблюдается большее их количество). Также отмечено наличие небольшого количества мелких эозинофильных фрагментов разрушенных ядер. В ряде мазков в фоне обнаруживалось большое количество эритроцитов.

У четырёх животных была диагностирована В-клеточная фолликулярная лимфома. Ядра лейкоцитов округлой формы, с разреженной хроматиновой субстанцией, содержат от одного до пяти хорошо заметных, преимущественно центрально расположенных ядрышек. Цитоплазма базофильная и достаточно скудная (рис. 3).

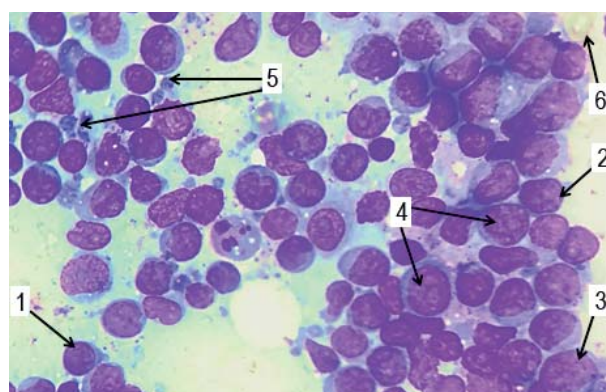


Рис. 3 – Такса жёсткошёрстная, 8 лет, кобель. В-клеточная лимфома: 1 – малый лимфоцит, 2 – средний лимфоцит, 3 – большой лимфоцит; 4 – ядрышки; 5 – лимфогранулярные тельца; 6 – эритроцит. Ок. 20, об. 100. Окраска по Паппенгейму

У пятой собаки (ротвейлер, 6 лет, сука) хозяева обратили внимание на увеличение подчелюстных лимфоузлов, однако в течение 6 мес. животное

не прошло должного обследования. На момент обращения в ветеринарную клинику наблюдалось увеличение всех доступных пальпации лимфоузлов, животное было сильно истощено.

В мазках большинство лимфоцитов характеризовалось признаками плазматизации: широкой цитоплазмой, перинуклеарным просветлением, а также разрежением хроматиновой субстанции. Ядрышки слабо заметны. Некоторые лимфоциты имели бледное сине-серое цитоплазматическое включение, расположенное рядом с ядром. Фон обильный, содержит большое количество эритроцитов и лимфогранулярных телец (рис. 4). Перечисленные признаки характеризуют неопластический процесс как лимфому лимфоплазмоцитарного типа (лимфома из клеток маргинальной зоны).

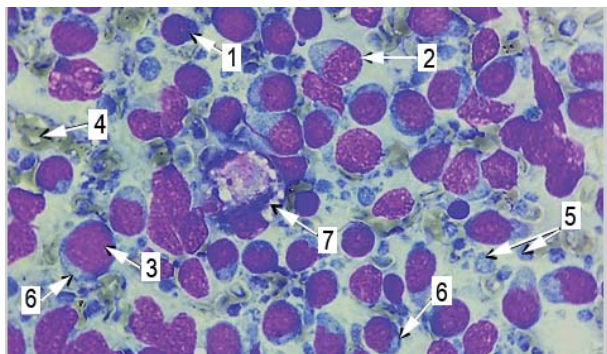


Рис. 4 – Ротвейлер, 6 лет, сука. Лимфома маргинальной зоны селезёнки. Лимфоциты: 1 – малый, 2 – средний, 3 – большой; 4 – эритроцит; 5 – лимфогранулярные тельца; 6 – цитоплазматические включения; 7 – фагоцитоз лимфогранулярных телец. Ок. 20, об. 100. Окраска по Паппенгейму

На основании полученных данных была проведена сравнительная оценка изменений лимфоидных клеток в описанных случаях. Определён комплекс параметров, позволяющих дифференцировать лимфомы от здоровых и реактивных лимфатических узлов.

Выводы. При исследовании цитологического материала разновозрастных собак разных пород

с различными состояниями лимфатических узлов были установлены морфологические признаки, характеризующие каждое из этих состояний. Проведена сравнительная оценка и определён комплекс параметров, позволяющих дифференцировать лимфомы от здоровых и реактивных лимфатических узлов. Исходя из проделанной работы, можно судить о достаточно высокой эффективности цитологического метода диагностики при исследовании лимфатических узлов. Метод не требует больших затрат материалов и оборудования, а также прост в исполнении и не затрачен по времени. Фактически предварительный диагноз можно установить в течение 2–3 часов после отбора материала. Всё это делает цитологическую диагностику удобной для первичной диагностики новообразований, также простота метода позволяет применять его даже в рядовых ветеринарных клиниках при наличии в них лаборатории.

Литература

1. Cora, R. The utility of fine needle aspiration cytology in canine lymphadenopathies / R. Cora, A.F. Gal, M. Taulescu, F. Tabaran, R. Vidrighinescu, C. Catoi // *Annals of R.S.C.B.* 2015. Vol. XIX, Issue 2. P. 47–54.
2. Morris J. Small animal oncology. / Morris J., Dobson J. // Blackwell Science. 2001. № 5. P. 228.
3. Valli, V.E. Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria / V.E. Valli, M. San Myint, A. Barthel, D. Bienzle, J. Caswell, F. Colbatzky, A. Durham, E.J. Ehrhart, Y. Johnson, C. Jones, M. Kiupel, P. Labelle, S. Lester, M. Miller, P. Moore, S. Moroff, P. Roccabianca, J. Ramos-Vára, A. Ross, T. Scase, H. Tvedten, and W. Vernau // *Veterinary Pathology* 48(1), 2011. P. 198–211.
4. Karen M. Young Cytologic Evaluation of Lymph Nodes in Dogs and Cats / Karen M. Young // *Proceedings of the SCIVAC Congress, Rimini, Italy, 2007.* P. 494–495.
5. Kim A. Selting Lymph node cytology What Should & Should Not be There / Kim A. Selting // *Today's Veterinary Practice* May/June 2014. P. 18–22.
6. Ruiz de Gopegui, R. Causes of lymphadenopathy in the dog and cat / R. Ruiz de Gopegui, B. Penalba, Y. Espada // *Veterinary Record.* 2004. July 3. P. 23–24.
7. Vail, David M. Lymphoma in Dogs: Diagnosis & Treatment / David M. Vail // *NAVC clinician's brief.* 2009. December. P. 15–19.
8. Мазуров В.И. Классификация лимфом, морфология, иммунофенотип, молекулярная генетика неходжкинских лимфом / В.И. Мазуров, Ю.А. Криволапов // *Практическая онкология*, Т. 5. № 3. 2004. С. 169–175.
9. Rose E. Raskin Canine And Feline Cytology: A Color Atlas And Interpretation Guide, Second Edition / Rose E. Raskin, Denny J. Meyer, Copyright 2010, 2001 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc. P. 77–122.