

УДК 619:616-07

МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕПЕНИ КЛЕТОЧНОГО АТИПИЗМА АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КОШКИ

**Зотова Е.М., аспирант, orangehorse@yandex.ru
Марьин Е.М., доктор ветеринарных наук, доцент,
evgenimari@yandex.ru
Богданова М.А., кандидат биологических наук, доцент,
bm2474@mail.ru
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ**

Ключевые слова: морфометрия, цитология, микрометр, аденокарцинома, кошка, молочная железа.

В данной статье представлены результаты морфометрического изучения клеток при помощи окуляр- и объект-микрометра при цитологическом исследовании биопсийного материала, полученного при помощи тонкоигольной биопсии аденокарциномы молочной железы у кошки.

Введение. Морфометрия – метод количественного изучения параметров клеточных и тканевых структур, применяемых в цитологических и гистологических исследованиях. В рутинной лабораторной практике в связи с большим объемом исследований морфометрия либо не проводится, либо оценивается приблизительно. Так, в цитологической диагностике используется сравнение размеров клеток и клеточных элементов со средними значениями диаметра эритроцитов, которые всегда присутствуют в материале в связи с особенностями методики тонкоигольной биопсии и составляют в диаметре около 7 микрометров у собак и 5-6 микрометров у кошек [1]. Однако данный метод не является достаточно надежным, так как клетки могут значительно изменять форму и объем в зависимости от кислотности реактивов, качества буферных растворов или дефектов окраски, поэтому инструментальные методы морфометрии являются наиболее точными и информативными.

В то же время вариабельность размеров клеток и ядер, а также величина ядерно-цитоплазматического отношения являются определяющими критериями клеточного атипизма, выраженность которого в совокупности с

данными о митотической активности опухолевой ткани позволяет делать вывод о степени злокачественности исследуемого новообразования [2, 3].

Материалы и методы исследования. На базе межкафедрального научного ветеринарного центра ветеринарной медицины УлГАУ им. П.А. Столыпина было выполнено клиническое обследование кошки 12 лет, беспородной, нестерилизованной. Образование размером приблизительно 2*1,5 см было расположено в правом грудном молочном пакете, подмышечные лимфатические узлы без патологии, при рентгенологическом исследовании метастазов в органах грудной клетки не выявлено. Проведено цитологическое исследование, материал для исследования получен путем тонкоигольной биопсии, применялось распределение материала по стеклу методом раздавливания для минимального повреждения клеток [1]. Предметные стекла с полученным материалом окрашены азур-эозином быстрыми красками HEMA Stain Leucodif 200 [1, 4].

Для микроскопического исследования применялся световой микроскоп Leica DME Ок. WF16X; Об. x4/0,10, x8, x40/0,65. Для морфометрии клеток и их структурных элементов использован объект-микрометр отраженного света ОМО и окуляр-микрометр с увеличением 7х (рисунок 1). Калибровка измерительной шкалы окуляра (рисунок 2) произведена по формуле

$$X = \frac{N_{об} \cdot 0,01}{N_{ок}} \text{ мм,}$$

где $N_{об}$ и $N_{ок}$ – число совмещенных делений объект- и окуляр-микрометра; 0,01 – цена деления объект-микрометра [1].

Для определения площади клеток и ядер были измерены большая и меньшая оси измеряемых элементов (рисунок 4 а, б), рассчитаны площади по формуле

$$S = \pi \cdot a \cdot b,$$

где a и b – полуоси, π – число Пи.

Далее подсчитано ядерно-цитоплазматическое отношение по формуле

$$\text{ЯЦО} = S_{я}/S_{ц},$$

где $S_{я}$ — площадь ядра клетки, $S_{ц}$ — площадь цитоплазмы [1, 5].

Статистические показатели подсчитаны с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Для калибровки измерительной шкалы окуляра произведена настройка объект-микрометра путем совмещения шкал окуляр-микрометра и объект-микрометра. Рассчитана

цена одного деления шкалы для каждого увеличения объектива микроскопа (Таб. 1).

Таблица 1 - Цена деления шкалы окуляр-микрометра в зависимости от увеличения объектива микроскопа

Увеличение объектива	Цена одного деления шкалы окуляр-микрометра, мкм
x4	40
x10	16
x40	4



Рисунок 1 – Внешний вид окуляр-микрометра и объект-микрометра

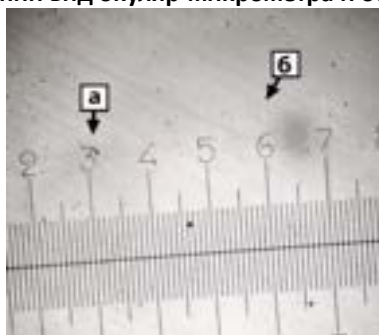


Рисунок 2 – Калибровка микрометра

а – шкала окуляр-микрометра б – шкала объект-микрометра

По результатам цитологического исследования препаратов цитоз скудный, клетки полиморфные, овоидной и полигональной формы, в материале представлены скоплениями, напоминающие ацинусы. Ядра крупные, одиночные, преимущественно овальные с умеренно выраженным анизокариозом, в клетке расположены центрально и парацентрально (рисунок 3 б). Хроматин крупнозернистый, в ядре присутствует 1-5 ядрышек неправильной формы, выражен анизонуклеолиз.

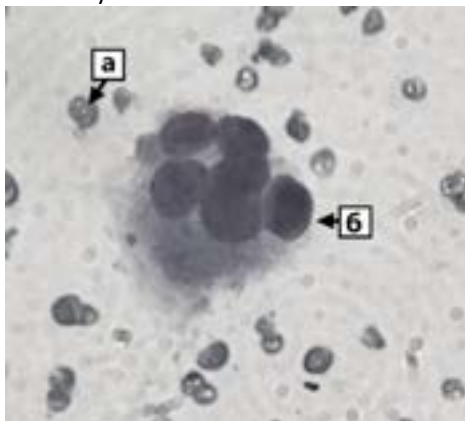


Рисунок 3 – Опухолевые клетки при цитологическом исследовании (окраска азур-эозин, Об. 40/0,65 x Ок. WF16X)

а – эритроциты; б – опухолевые клетки с умеренно выраженным полиморфизмом

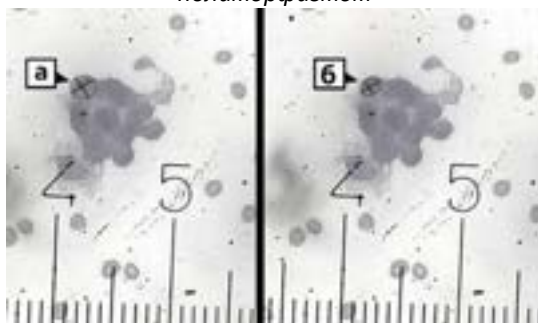


Рисунок 4 – Морфометрия клеток и ядер (окраска азур-эозин, Об. 40/0,65 x Ок. 7x)

а – наибольшая и наименьшая оси клетки; б – наибольшая и наименьшая оси ядра

Таблица 2 - Результаты морфометрии клеток и клеточных элементов

Клетки	Ось 1 клетки , мкм	Ось 2 клетки , мкм	Площадь клетки, мкм ²	Ось 1 ядра, мкм	Ось 2 ядра, мкм	Площадь ядра, мкм ²	ЯЦО
1	10,4	9,2	75,11	8,1	7,0	44,51	0,59
2	10,1	8,0	63,46	7,9	5,9	36,61	0,58
3	8,0	7,8	49,01	6,2	6,1	29,70	0,61
4	10,7	10,3	90,00	8,3	8,1	52,80	0,59
5	7,0	6,0	32,99	3,8	3,2	9,55	0,29
6	9,7	6,9	52,57	8,5	5,3	35,38	0,67
7	10,4	8,1	66,16	9,0	6,6	46,65	0,71
8	8,4	6,5	42,88	7,1	5,3	29,56	0,69
9	6,0	4,1	19,32	4,2	3,8	12,54	0,65
10	7,8	5,9	36,14	6,1	4,1	19,64	0,54
Средние значения	8,85±1,64	7,28±1,79	52,76±1,29	6,92±1,81	5,54±1,53	31,69±1,47	0,59±0,12

Размеры клеток колеблются от 6,0 до 10,7 мкм, ядер – от 9,0 до 3,2 мкм. Средний размер клетки – 8,85±1,64 мкм, ядер – 6,92±1,81 мкм. Ядерно-цитоплазматический индекс составляет 0,59±0,12 (Таб. 2). Цитоплазма скудная, с равномерной базофильной окраской. Фон препаратов представлен клетками крови: присутствуют эритроциты, в большом количестве имеются одно- и многоядерные гигантские макрофаги с обильной вспененной цитоплазмой (рисунок 5 а) и признаками цитофагии нейтрофилов. Отмечается наличие дегенеративных форм нейтрофилов с признаками гиперсегментации и кариорексиса (рисунок 6 а).

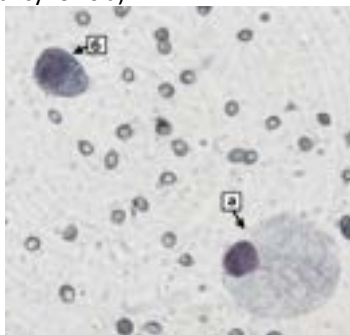
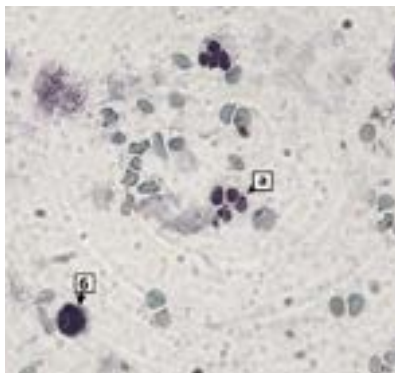


Рисунок 5 – Пенистый макрофаг

(окраска азур-эозин, Об. 40/0,65 х Ок. WF16X).

а – гигантский макрофаг с вспененной цитоплазмой; б – моноцит



**Рисунок 6 – Дегенеративные формы нейтрофилов
(окраска азур-эозин, Об. 40/0,65 х Ок. WF16X)
а – кариорексис ядра нейтрофила; б – лимфоцит**

Заключение. Цитологическая картина соответствует злокачественной опухоли эпителиального происхождения, наиболее вероятно, аденокарциноме молочной железы.

Средний размер клетки составляет $8,85 \pm 1,64 * 7,28 \pm 1,79$ мкм, что превышает размер не имеющих патологии железистых эпителиоцитов молочной железы, который составляет $8,20 \pm 0,30$ мкм * $6,20 \pm 0,30$ мкм. Ядерно-цитоплазматического отношение высокое, составляет $0,59 \pm 0,12$, значительно превышая нормальные параметры в $0,23 \pm 0,20$, что говорит о выраженной злокачественности новообразования, в пользу чего также свидетельствует наличие клеточного полиморфизма, анизокариоза и анизокариолиза. Обнаружение дегенеративных форм нейтрофилов, а также большого количества пенистых макрофагов говорит о наличии активно протекающего локального воспалительного процесса.

Библиографический список

1. Burton, A. G. Clinical Atlas of Small Animal Cytology / Andrew G. Burton John Wiley & Sons, Inc., 2018. - P. 364.
2. Зотова, Е. М. Физиология и патология митоза при изучении кинетических показателей роста новообразований эпителиального происхождения / Е.М. Зотова, Е.М. Марьин, О.Н. Марьина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – №4 (56). – С. 148-154.
3. Meuten Donald J. Tumors in Domestic Animals, Fifth Edition / Donald J. Meuten John Wiley & Sons, Inc., 2016. - P. 1008.

4. Онкология мелких домашних животных / Д. В. Трофимцов, И. Ф. Вилковыский, М. А. Аверин [и др.]. - Москва: Науч. б-ка, 2017. – 574 с.

5. Струков, А. И. Патологическая анатомия: учебник: учебник / А. И. Струков, В. В. Серов; под ред. В. С. Паукова. - 6-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 880 с.

MORPHOMETRIC STUDY OF THE CELLULAR ATYPISM OF MAMMARY GLAND ADENOCARCINOMA IN A CAT

Zotova E.M., Marin E.M., Bogdanova M.A.

Keywords: *morphometry, cytology, micrometer, adenocarcinoma, cat, mammary gland.*

This article presents the results of a morphometric study of cells with the use of an eye-piece-micrometer and object-micrometer in the cytological study of biopsy material, that was obtained using a fine-needle biopsy of mammary gland adenocarcinoma in a cat.