

Кудачева Н. А., Беспалова Т. Ю.

ДИНАМИКА ОНКОГЕНЕЗА ПРИ ПАПИЛЛОМАТОЗЕ

Ключевые слова: онкогенез, папилломатоз, койлоцитоз, пролиферация, базалиоциты, фибробласты, онкология, паракератоз, гиперкератоз, папиллома

Резюме: Настоящая работа посвящена гистологическим особенностям онкогенеза новообразований при диссеминированном папилломатозе крупного рогатого скота на тканевом и клеточном уровнях. На основании клинических и гистологических исследований проведена условная типизация папиллом крупного рогатого скота, выявлены гистоморфометрические показатели в зависимости от типа папиллом, с использованием таких показателей как площадь ядра и клетки базалиоцитов и койлоцитов, паренхиматозно-стромальное и ядерно-цитоплазматическое соотношения. Указаны дифференциальные критерии, позволяющие определить характер роста папилломы и стадию прогрессирования. Отмечено, что морфологические изменения при онкопрогрессии сопровождаются изменением плотности и размеров новообразований, активизацией клеток фибробластического ряда формирующих строму папилломы, усилением признаков паракератоза и гиперкератоза поверхности новообразования, увеличением массы соединительной ткани и соответственно увеличением площади окружающей паренхимы опухоли. Установлено, что размеры койлоцитов варьируют в зависимости от типа папиллом, что определяет динамику онкологического процесса. Морфометрические данные койлоцитов, выявляемые при гистологическом исследовании показали изменения, как площади клеток, так и изменения площади ядер. Увеличение площади клеток на 55,43 % и на 104,4 % соответственно, с увеличением площади ядра койлоцитов на 5,24 % и 20,97 % относительно показателей ядра койлоцитов папиллом первого типа, позволяют утверждать об увеличении койлоцитов за счет изменений ядерно-цитоплазматического соотношения в сторону цитоплазмы.

Введение

Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой при папилломавирусной инфекции сопровождается клиническими признаками в виде формирования новообразований – папиллом. В связи со сложностью и дорогостоящей специфических методов идентификации вируса папилломатоза, предложено использовать гистологические или цитоморфологические исследования, поскольку определены патогномичные признаки присутствия вируса на тканевом и клеточном уровнях [1, 2]. Репродукция вируса в инфицированных клетках провоцирует усиленное размножение клеток базального слоя эпителия, что ведет к прогрессированию инфекции, развитию койлоцитоза в эпителиоцитах и появлению папилломатозных новообразований. Учитывая, что койлоцитоз развивается в поверхностных слоях эпителия, папилломавирусная инфекция может подтверждаться прижизненно гистологическим исследованием [3], в том числе и у животных [4, 5]. Последовательность инфекционного процесса определяет онкогенез и представляет собой особый случай тесного сопряжения жизненного цикла вируса с клеточной дифференциацией эпителия [7, 8, 9].

Папилломатоз крупного рогатого скота распространен повсеместно и может принимать форму эпизоотий, при этом в литературе данный вопрос освещен недостаточно, противоречивы сведения о патогенезе заболевания [10]. Несмотря на то, что гистологический метод является основополагающим, работ, посвященных изучению процесса формирования папиллом у животных, практически не отмечено, хотя это могло бы послужить явной моделью, как онкогенеза, так и онкорегрессии в случае использования каких либо терапевтических схем. Целью настоящей работы является проведение морфогистологического анализа новообразований при диссеминированном папилломатозе у крупного рогатого скота, без учета локализации, с последующим выделением гистологических особенностей онкогенеза на тканевом и клеточном уровнях. Для этого были поставлены следующие задачи:

- провести клиническую дифференциацию папиллом с учетом морфологических особенностей на условные типы;

- выявить изменения, характерные для роста папиллом на гистологическом уровне, характеризующие признаки онкопрогрессии.

Материалы и методы исследований

При изучении эпизоотологических и клинических особенностей проявления папилломатоза крупного рогатого скота в скотоводческих хозяйствах Самарской области в период спонтанных вспышек инфекции в период с 2007-2015 гг. отбирался материал для последующих гистологических исследований. Клиническая часть работы выполнялась в производственных условиях скотоводческих хозяйств, лабораторная часть (гистологические исследования) в условиях ФГБНУ Самарская НИВС. В качестве материала использовались удаленные новообразования различной локализации, дифференцированные в зависимости от морфологических особенностей (размер, форма, характер роста, наличие признаков паракератоза и гиперкератоза поверхности). Для проведения гистологической диагностики материал фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина, впоследствии для изготовления срезов использовался замораживающий микротом МЗП-01 «Техном». Исследование полученных препаратов проводили методом светооптической микроскопии на микроскопе «ЛЮАМ И1». Фотографирование гистологической картины осуществляли при помощи цифровой камеры «Micrometrics 300 CU». При исследовании проводилось детальное описание микроскопических особенностей папиллом, с учетом их морфологических особенностей, определяющих различные этапы онкогенеза. Гистологическое исследование позволило изучить следующие морфометрические показатели: площадь ядра и клетки базалиоцитов и койлоцитов, паренхиматозно-стромальное и ядерно-цитоплазматическое соотношения.

Результаты и обсуждение

Первичная морфологическая типизация папиллом позволила выявить основные особенности новообразований, что дало возможность выделить ряд отличий, обусловленных продолжительностью их роста. Отмечено, что клиническое проявление папилломатоза на ранних этапах сопровождается утолщением кожи на различных ее участках. Клиническое наблюдение позволило систематизировать папилломы с учетом морфологических особенностей на три основных типа, гистологическая дифференциация дала возможность выявить особенности онкогенеза на фоне роста новообразований. Приведенная типизация условна и необходима для

выявления изменений, позволяющих изучить клеточный и тканевой атипизм на гистологическом уровне.

Характерной особенностью гистологического строения всех папиллом является четкое ограничение паренхимы от стромы базальной мембранной эпидермиса, которая остается интактной независимо от стадии роста опухоли. Паренхима всех исследованных папиллом обладает общим свойством, присущим эпидермису в норме – это образование многослойного пласта с выраженной вертикальной анизоморфностью клеток.

Для кожных новообразований, даже на первых этапах формирования, характерно отсутствие волос. Но при этом следует отметить разную степень ороговения поверхностных слоев поверхности новообразований, что гистологически выявляется в виде признаков паракератоза и гиперкератоза.

У папиллом первого типа отсутствуют признаки паракератоза и гиперкератоза, их поверхность имитирует поверхность кожи и выглядит вполне естественно. При пальпации она практически соответствует плотности кожи, но отмечается незначительное уплотнение под паренхимой новообразования. Впоследствии папилломы увеличиваются, при этом общее состояние животных не ухудшается. В базальном слое клетки находятся в состоянии активной пролиферации, что увеличивает количество слоев, формирующих ростковый слой паренхимы. Активизация ангиогенеза не отмечена, но происходит формирование койлоцитов в паренхиме папилломы. Койлоцитарная атипия наблюдается в шиповидном слое, цитоплазма клеток светлая, ядро располагается эксцентрично. Пролиферация клеток соединительной ткани на фоне размножения клеток паренхимы обеспечивает формирование стромального компонента опухоли, но при этом паренхиматозно-стромальное соотношение у данного типа практически приближено к равенству обоих значений и составляет около 580 мкм.

У папиллом второго типа также выявлена усиленная пролиферация базалиоцитов, которые формируют эпителиальные гребешки, врастающие в образующую строму. На конце эпителиальных гребешков располагается регенерирующий клин, постоянно увеличивающийся эпителиальный пласт в процессе роста папиллом (рисунк).

При вращении в строму базальный

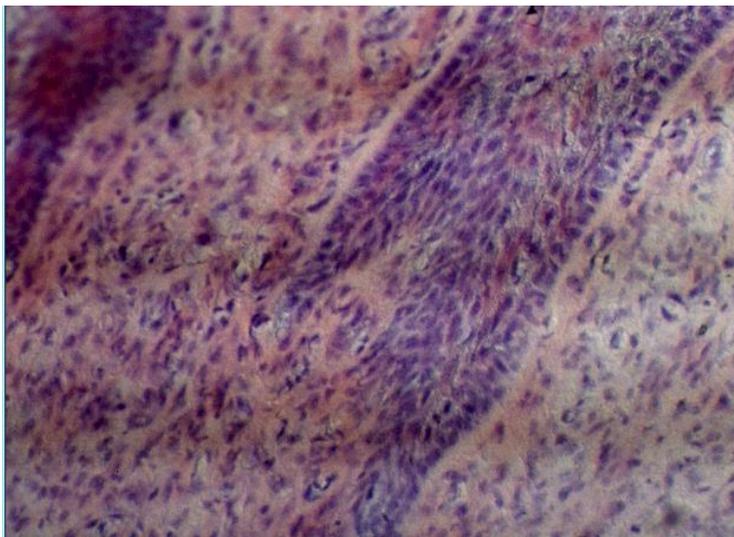


Рис. Гиперплазия базального слоя эпидермиса, с вращением эпителиального пласта в строму. Окраска гематоксилин-эозин, ув. объектив х40, окуляр х10

слой принимает однослойный характер, но данная однослойность временная и впоследствии заменяется многослойностью, что приводит к утолщению эпителиальных отростков и паренхимы в целом, но при этом паренхима не является основным компонентом опухоли. Паренхиматозно-стромальное соотношение при максимальных размерах папиллом смещается в сторону стромы, обеспечивая основу для роста эпителиального пласта с сохранением его непрерывности. Если обратить внимание на данный тип папиллом, то на первый план выступает цикл развития клеток фибробластического ряда. Увеличение массы соединительной ткани способствует увеличению площади окружающей кожи. Эти два процесса прямопропорциональны друг другу до момента достижения опухоли критической массы. В строме папилломы наблюдаются кровеносные сосуды, при этом непосредственно под базальной мембраной паренхимы активность ангиогенеза сопровождается формированием мелких сосудов, стенка которых представлена эндотелиальными клетками, расположенными в один слой. Поверхность папилломы с признаками паракератоза, в клетках поверхностного эпителия отмечается наличие палочковидных ядер.

Третий тип папиллом, обладает максимальными размерами, они достаточно плотные и гистологически диагностируются как фибропапилломы. Поверхность новообразования в состоянии гиперкератоза, его толщина составляет около 32

мкм, варьируя при этом от 20 мкм до 50 мкм. Паренхиматозно-стромальное соотношение при данных размерах папиллом смещается существенно в сторону стромы. Строма имеет особенности в зависимости от ее расположения относительно паренхимы. У основания папилломы строма состоит из плотных коллагеновых волокон, кровеносные сосуды спавшие, ближе к паренхиме соединительная ткань рыхлая и содержит фибробласты. Ядро койлоцитов деформировано, контуры его неровные. При анализе морфометрических показателей хотелось бы обратить внимание на изменения со стороны койлоцитов, являющихся основным критерием дифференциальной диагностики папилломатоза от других новообразований эпителиального происхождения. При активизации роста папиллом, за счет пролиферации клеток базального слоя, появляются первые койлоциты, размеры которых значительно ниже койлоцитов, отмеченных у папиллом второго и третьего типов. Увеличение площади клеток на 55,43 % и на 104,4 % соответственно, с увеличением площади ядра койлоцитов на 5,24 % и 20,97 % относительно показателей ядра койлоцитов папиллом первого типа, позволяют утверждать об увеличении койлоцитов за счет изменений ядерно-цитоплазматического соотношения в сторону цитоплазмы (таблица).

Выводы и заключение

Исходя из выше изложенного, можно сделать следующие выводы:

Таблица. Морфометрическая характеристика базалиоцитов и койлоцитов

Тип папиллом	Площадь ядра, мкм ²		Площадь клетки, мкм ²		Ядерно-цитоплазматическое соотношение	
	базалиоцит	койлоцит	базалиоцит	койлоцит	базалиоцит	койлоцит
1	1,68	2,86	2,83	6,35	0,59	0,45
2	1,46	3,01	2,98	9,87	0,48	0,30
3	1,34	3,46	3,39	12,98	0,36	0,26

1. Морфологические изменения при онкопрогрессии сопровождаются изменением плотности и размеров новообразований, разной степенью ороговения поверхностного слоя паренхимы, представленной клетками поверхностного эпителия.

2. Активизация клеток фибробластического ряда стромы папилломы определяет последующую гистологическую структуру в виде фибропапиллом с усилением признаков паракератоза и гиперкератоза поверхности паренхимы. При этом увеличение массы соединительной ткани способствует увеличению площади окружающей паренхимы опухоли.

3. Койлоцитарная атипия отмечена во всех исследуемых новообразованиях, при этом размеры койлоцитов варьируют в зависимости от типа папиллом, что является следствием продвижения данного вида клеток от шиповидного слоя к поверхности паренхимы папиллом.

Таким образом, папилломатоз сопровождается индуцированием гиперпластических доброкачественных изменений в эпителии кожи. В результате чего способность базалиоцитов к хаотическому росту и размножению при отсутствии контактного торможения определяет формирование паренхимы новообразования с признаками тканевого атипизма. Койлоцитарная атипия – это следствие репродукции вируса папилломатоза в отдельных слоях эпидермиса, для которой характерна последовательность, сопряженная с физиологическим процессом дифференцировки и смены эпителиальных клеточных элементов эпидермиса, что определяет клеточный атипизм строения папиллом. При этом папилломатоз животных является полезной моделью для анализа многих аспектов в патогенезе вирусного онкогенеза и позволяет легко осуществлять количественный учет процесса трансформации.

Библиографический список:

1. Бойко Н. В. Роль папилломавирусной инфекции в возникновении носовых кровотечений / Н. В. Бойко, С. Н. Панченко // Российская ринология. – 2001. – № 3. – С. 9-13.
2. Borzacchiello G. Bovine papillomaviruses, papillomas and cancer in cattle / G. Borzacchiello, F. Roperto / Vet. Res. – 2008. – № 39 (5). – P. 45-48.
3. Буданов П. В. Принципы лечения папилломавирусной инфекции / П. В. Буданов, С. В. Вороной, А. Г. Асланов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т. 3. – № 4. – С. 70-75.
4. Кудачева Н. А. Гистологическая диагностика папилломатоза крупного рогатого скота / Н. А. Кудачева // Региональная научно-практическая межвузовская конференция. Сборник научных трудов. – Самара. – 2013. – С. 262-265.
5. Кудачева Н. А. Структура эпидермиса при папилломавирусной инфекции крупного рогатого скота / Н. А. Кудачева // Вестник ветеринарии. – 2013. – № 66 (3). – С. 47-49.
6. Campo M. S. Review bovine papillomavirus and cancer / M. S. Campo // The Veterinary Journal. – 1997. – № 3. – P. 175-188.
7. Castle P. E. Comparisons of HPV DNA detection by MY09/11 PCR methods / P. E. Castle, M. Schiffman, P. E. Gravitt // J Med Virol. – 2002. – № 68 (3). – P. 417-23.
8. Moore R. A. Therapeutic immunization with COPV early genes by epithelial DNA delivery / R. A. Moore, S. Walcott, K. L. White // Virology. – 2003. – № 314. – P. 630-635.
9. Rhea W. G. Condyloma acuminata: a fatal disease? / W. G. Rhea, D. R. Sewell // American Surgeon. – 1998. – № 11. – P. 1082-1087.
10. Веремей Э. И. Роль иммунной системы при лечении папилломатоза крупного рогатого скота / Э. И. Веремей, В. А. Комаровский // Ветеринарная патология. – 2006. – № 3. – С. 132-136.

References:

1. Boyko N. V. Rol papillomavirusnoy infektsii v vzniknovenii nosovuyih krvotocheniy [The role of papillomavirus infection in the occurrence of nasal bleeding] / N. V. Boyko, S. N. Panchenko // Rossiyskaya rinologiya. – 2001. – # 3. – S. 9-13.
2. Vide supra.
3. Budanov P. V. Printsipy lecheniya papillomavirusnoy infektsii [Principles of treatment of papillomavirus infection] / P. V. Budanov, S. V. Voronoy, A. G. Aslanov // Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii. – 2004. – Т. 3, # 4. – S. 70-75.
4. Kudacheva N. A. Gistologicheskaya diagnostika papillomatoza krupnogo rogatogo skota [Histological diagnosis of papillomatosis in cattle] / N. A. Kudacheva // Regionalnaya nauchno-prakticheskaya mezhvuzovskaya konferentsiya.

- Sbornik nauchnyih trudov. – Samara. – 2013. – S. 262-265.
5. Kudacheva N. A. Struktura epidermisa pri papillomavirusnoy infektsii krupnogo rogatogo skota [The structure of the epidermis with papillomavirus infection in cattle] / N. A. Kudacheva // Vestnik veterinarii. – 2013. – # 66 (3). – S. 47-49.

- 6–9. Vide supra.
10. Veremey E. I. Rol immunoj sistemyi pri lechenii papillomatoza krupnogo rogatogo skota [The role of the immune system in the treatment of papillomatosis in cattle] / E. I. Veremey, V. A. Komarovskiy // Veterinarnaya patologiya. – 2006. – # 3. – S. 132-136.

Kudacheva N. A., Bepalova T. U.
THE DYNAMICS OF ONCOGENESIS UNDER PAPILOMATOSIS

Key Words: oncogenesis, papillomatosis, koilocytes, proliferation, basalica, fibroblasts, oncology, parakeratosis, hyperkeratosis, papilloma

Abstract: This work deals with the histological features of the oncogenesis of tumors with disseminated papillomatosis large horns of cattle at the tissue and cellular levels. On the basis of clinical and histological studies are carried out conditional typing papillomas of cattle identified histomorphometric indices depending on the type of papillomas using such indicators, as the core area and the cells of banalities and Kolotilov, parenchymal-stromal and nuclear-cytoplasmic ratio. Specified differential criteria to determine the nature of the growth of papillomas and the stage of progression. Noted, that the morphological changes in oncoprogresso accompanied by changes in the density and size of tumors, activation of fibroblastic cells forming the stroma of a number of papillae, strengthening of the signs of parakeratosis and hyperkeratosis of the surface of the tumor, an increase in the mass of connective tissue and a correspondingly increased area of the surrounding parenchyma of the tumor. It is established that the size of koilocytes vary depending on the type of warts that determines the dynamics of the cancer process. Morphometric data of koilocytes, detectable in histological examination showed changes in the area of cells and area change kernels. Increasing the area of cells on 55,43 % and 104,4 %, respectively, with the increase in the area of the nucleus of koilocytes by 5,24 % and of 20,97 % relative performance of core koilocytes papillomas of the first type, allow to assert about increase koilocytes due to changes in nuclear-cytoplasmic ratio toward the cytoplasm.

Сведения об авторах:

Кудачева Наталья Александровна, канд. вет. наук, доцент кафедры эпизоотологии, патологии и фармакологии ФГБОУ ВО «Самарская государственная сельскохозяйственная академия»; д.2, ул. Учебная, Кинель, Россия, 446442; тел.: +7 (987) 9149744; e-mail: Nalmakaeva@yandex.ru

Беспалова Татьяна Юрьевна, старший научный сотрудник отдела инфекционных болезней ФГБНУ Самарская научно-исследовательская ветеринарная станция; д.8, ул. Магнитогорская, Самара, Россия, 443013; тел.: +7 (846) 3360341; e-mail: samnivs@mail.ru

Author affiliation:

Kudacheva Natalya Aleksandrovna, Ph. D. in Veterinary Medicine, Associate Professor of the Department of epizootology, pathology and pharmacology of Federal state budgetary educational institution (FSBEI) of higher education (HE) «Samara State Agricultural Academy»; house 2, Uchebnaya str., Kinel city, Russia, 446442; phone: +7 (987) 9149744; e-mail: Nalmakaeva@yandex.ru

Bepalova Tat'yana Yur'yevna, Senior Researcher at the Department of Infectious Diseases of Federal state budgetary scientific institution (FSBSI) «Samara Scientific and Research Veterinary Station»; house 8, Magnitogorskaya str., Samara city, Russia, 443013; phone: +7 (846) 3360341; e-mail: samnivs@mail.ru

