

Układ oddechowy

Mary Jo Burkhard i Laurie M. Millward

Ocena cytologiczna struktur układu oddechowego, w powiązaniu z wywiadem, badaniem klinicznym i wynikami badań obrazowych, dostarcza ważnych informacji, które bezpośrednio wpływają na umiejętne postępowanie z pacjentem. Obraz cytologiczny widoczny w układzie oddechowym, poczynając od zranienia, chorób, nowotworów pierwotnych lub przerzutów nowotworowych, zależy w dużej mierze od podstawowej struktury i funkcji elementów komórkowych. Dokładna ocena specjalistycznych próbek jest decydująca w uzyskaniu sensownych wyników badań cytologicznych. W rozdziale tym opisano właściwe techniki pobierania próbek oraz cytologiczną ocenę próbek pobranych z układu oddechowego, włączając w to jamę nosową, krtani, drogi oddechowe i miąższ płucny.

JAMA NOSOWA

Anatomia i histologia

Poczynając od nozdrzy zewnętrznych, jama nosowa jest podzielona przez przegrodę nosową i doogonowo kończy się jako płytka kości sitowej. Przejścia poprzeczne przez zatoki kostne i chrzęstne są wyścielone przez błonę śluzową. Wejście do jamy nosowej lub jej przedsionka obejmuje nozdrza zewnętrzne i wąską część przedniej jamy nosowej. Tylna część, inaczej jama nosowa właściwa, składa się z obszernych, delikatnych i pokrytych błoną śluzową małżowin. Przewód nosowo-łzowy otwiera się na dobrzuszno-bocznej ścianie przewodu nosowego, pozwalając surowiczej wydzielinie spływać z worka spojówkowego do przedniej części przedsionka jamy nosowej. Z jamą nosową komunikują się osobno połączone, pokryte błoną śluzową, wypełnione powietrzem zatoki przynosowe.

Przedsionek jamy nosowej sąsiaduje z naskórkiem i jest pokryty przez rogowaciejący nabłonek płaski, taki sam jak na nozdrzach zewnętrznych, który przechodzi w nabłonek nierogowaciejący w przedniej części jamy no-

sowej. U psa ten nieurzęsiony nabłonek przejściowy zbudowany jest z komórek o kształtach od okrągłych do sześciangorących, które leżą jedna na drugiej i przez to odgrywa on rolę we wchłanianiu i krążeniu substancji obcych w powiązaniu z metabolizmem enzymów cytochromu P450 monoooksygenazy. Jama nosowa właściwa, przegroda nosowa i zatoki przynosowe są wyścielone przez urzęsiony, walcowaty, rzekomowarstwowy nabłonek. Śluzowo-surowicze i mieszane gruczoły cewkowo-pęcherzykowe znajdują się w donosowej części jamy nosowej, podczas gdy gruczoły węchowe, występujące w małej ilości u mięsożernych, znajdują się w tylnej części jamy nosowej. Tkanka limfatyczna jamy nosowej (NALT) i grudki chłonne znajdują się w błonie podśluzowej tylnej części jamy nosowej i są szczególnie liczne w nosogardzieli.

Lemiesz jest organem symetrycznym i leży wzdłuż podstawy przegrody nosowej w przedniej części jamy nosowej. Organ ten składa się z wielu części, wliczając w to nabłonek, przewody, gruczoły i tkankę łączną (Salazar i wsp., 1996) i w mniejszym stopniu u psów, jest także tkanka pochodzenia neuronalnego (Dennis i wsp., 2003). Dodatkowo, oprócz komórek neuronalnych i wiązek aksonów, nabłonek czuciowy również wydziela markery neuronalne.

Techniki pobierania i przygotowywanie pobieranego materiału

Kiedy wywiad i objawy kliniczne wskazują na chorobę jamy nosowej, pierwszym krokiem diagnostycznym jest dokładne badanie zewnętrznych i wewnętrznych części jamy nosowej, gardła, podniebienia miękkiego i twardego oraz jamy ustnej, wliczając także badanie dziąseł, górnych łuków podniebiennych, w celu kontroli tworzenia się przetok ustno-nosowych oraz chorób przyzębia. Dodatkowo badanie palpacyjne regionalnych węzłów chłonnych, które uległy powiększeniu, a następnie aspiracja

węzła i/lub jego biopsja mogą dostarczyć pośrednich danych, czy mamy do czynienia z procesem szerzącym się, czy ze zmianami przerzutowymi. Rezonans magnetyczny (MRI) i tomografia komputerowa (CT) dostarczają dodatkowych informacji dotyczących stopni uszkodzenia, zajęcia dróg oddechowych oraz trójwymiarowy obraz lokalizacji (np. dla ciał obcych). W większości przypadków badanie rentgenowskie pozostaje wiarygodnym narzędziem diagnostycznym dla lokalizacji zmian rozrostowych (Jones i Ober, 2007; Petite i Dennis, 2006), jednakże jest ono mniej czułe w różnicowaniu zapalenia jamy nosowej na tle zakaźnym lub nowotworowym (Kuehn, 2006). Dokładne badanie jamy nosowej endoskopem i zlokalizowanie zmian poprzez badanie rentgenowskie lub inne techniki obrazowania pozwolą zastosować odpowiednie techniki pobierania materiału. Należy zaznaczyć, że ocena badania endoskopowego jam nosowych jednoznacznie nie ustali obecności lub braku choroby zapalnej, dlatego niezbędne jest pozyskanie materiału do badania mikroskopowego (Johnson i wsp., 2004; Windsor i wsp., 2004). Badanie endoskopem giętkim jam nosowych jest zalecane w około 50–80%, nie mogą być one uwidocznione przez badanie sztywnym endoskopem lub otoskopem (Elie i Sabo, 2006). Jeżeli nie ma możliwości zbadania jam nosowych endoskopem, może zostać użyty otoskop do zbadania przedniej części jamy nosowej. Część nosowa gardła może zostać uwidoczniiona za pomocą lusterka dentyścycznego. Zdjęcie radiologiczne i badanie endoskopowe nosa należy wykonać przed pobraniem wymazu, ponieważ krwotok może utrudnić interpretację zdjęcia radiologicznego i zaciemnić obraz podczas badania endoskopowego.

Przed pobraniem próbki materiału powinno się wykonać badanie morfologiczne krwi i oznaczyć profil krzepnięcia, jako że większość technik pobierania wymazów powoduje krwotok pochodzący ze splotu żylnego, znajdującego się u podstawy błony śluzowej nosa. Odpowiednia premedykacja jest wymagana z bezpiecznym pozyskaniem wymazów. Znieczulenie główne umożliwia odpowiednie poskromienie zwierzęcia, umieszczenie prawidłowo napompowanej rurki do intubacji, zabezpieczenie jamy ustnej i gardła gazą i przechylenie nosa pacjenta w dół, aby chronić go przed zachłyśnięciem podczas pobierania materiału.

Wymazy z jam nosowych

Obecność ostrego lub przewlekłego wypływu z nosa wskazuje na chorobę górnych dróg oddechowych, ale jest niespecyficzna i może wystąpić przy chorobach tła zapalnego, zakaźnego lub nowotworowego. Wypływ z nosa może być jednostronny lub obustronny i może mieć charakter surowicy, ropny, śluzowy do surowiczo-krwistego, w zależności od przyczyn (y). Powierzchnowe i głębokie wymazy z nosa są proste do pozyskania i względnie mało urazowe, ale często nie dostarczają informacji, poza stwierdzeniem powierzchniowego stanu zapalnego, wtórnego nadkażenia bakteryjnego, krwotoku, martwicy i nadmiernej ilości śluzu, podczas gdy przyczyna procesu chorobowego pozostaje niezdiagnozowana. Zgodnie z ogólną zasadą, techniki inwazyjne pozwalające na głębokie pobranie tkanek

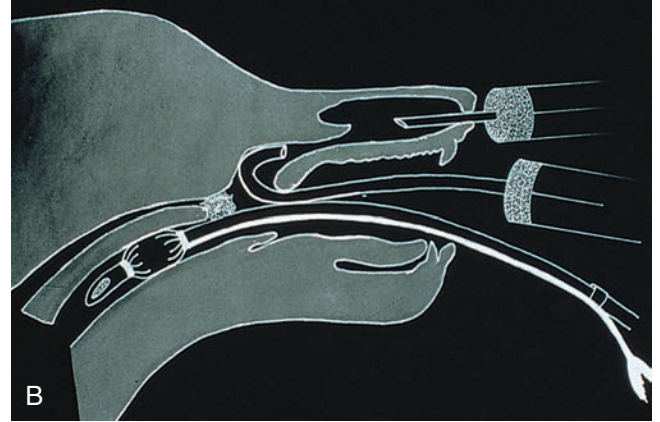
błony śluzowej nosa znacznie zwiększają możliwości diagnostyczne. Na przykład skuteczne wykrywanie aspergilozy wzrasta o 13–20% przy badaniu materiału przez wykonanie bezpośredniego rozmazu niż przez wykonanie pośredniego rozmazu; a w 93–100% skutecznego wykrywania uzyskanego dzięki pobraniu materiału za pomocą szczoteczki cytologicznej lub poprzez biopsję (DeLorenzi i wsp., 2006a). Czasami najprostsza technika może okazać się najprzydatniejsza, jak badanie cytologiczne wymazu z nosa przy diagnostyce kryptokokozy u kotów. Dlatego badanie cytologiczne wypływu z nosa powinno być wykonane jako pierwsze, przy jakichkolwiek chorobach jam nosowych.

Płukanie jam nosowych

Metoda płukania jam nosowych zostanie opisana poniżej w tekście (Smallwood i Zenoble, 1993). Techniki inwazyjne zazwyczaj są skuteczniejsze w pozyskaniu materiału diagnostycznego. Nieurazowe płukanie jam nosowych dostarcza materiału do ostatecznego rozpoznania w ok. 50% przypadków. Polipropylenowy lub elastyczny gumowy czerwony cewnik urologiczny średnicy 6–10 French jest wprowadzany do nozdrzy zewnętrznych w celu przepłukania jamy nosowej sterylnym roztworem soli fizjologicznej lub roztworem Ringera z mleczanami (fot. 5-1A). Urazowe płukanie jam nosowych może zostać wykonane przez okantowanie lub nacinanie rurki czy cewnika, tworzące chropowatą powierzchnię do pobrania fragmentu tkanki. Wprowadzenie jakiegokolwiek instrumentu do jamy nosowej może spowodować perforację przez płytkę sitową do sklepienia czaszki. Można tego uniknąć przez zmierzenie odległości od nozdrzy zewnętrznych do przyśrodkowego kąta oka i skrócenie rurki lub cewnika do odpowiedniej długości albo przez oklejenie taśmą.

Małe porcje (5–10 ml) płynu są wprowadzane do jamy nosowej strzykawką 20–35 ml ze zmiennym podciśnieniem. Kiedy płyn dostanie się do jamy nosowej, rurka lub cewnik jest sprawnie wycofywana i kierowana do przodu małżowin nosowych, dokonywana jest próba pobrania wolnych fragmentów tkanek na gąbki zrobione z gazy i trzymane poniżej nozdrzy albo przez zaaspirowanie do strzykawki zbiorczej. Metoda alternatywna polega na wprowadzeniu cewnika Foleya do jamy ustnej i zagięciu go w okolicy podniebienia miękkiego aż do nosogardzieli, wprowadzając powietrze do bańki i płuczac solą fizjologiczną tak, by płyn przeszedł przez jamę nosową i wypłynął nozdrzami na zewnątrz, w celu pobrania go do badania (fot. 5-1B).

Płyn i pobrane części tkanek powinny być umieszczone w probówce z EDTA. Jeżeli płyn jest mętny, powinien zostać wykonany rozmaz bezpośredni do oceny cytologicznej, przez umieszczenie kropli płynu na czystym szkiełku i położenie drugiego szkiełka na wierzchu. Po rozprężeniu się płynu między szkiełkami szkiełka są oddzielane w płaszczyźnie poziomej; z niewielką ilością zastosowanego ciśnienia w płaszczyźnie pionowej, wywieranego na małe fragmenty tkanek. Jeżeli płyn jest stosunkowo przejrzysty, próbka może zostać zagęszczona przez odwirowanie i rozmazy są przygotowywane z sedimentu znajdującego się w niewielkiej ilości utworzonego super-



■ **Fot. 5-1. Procedura metody płukania jamy nosowej.** **A,** Przedstawione jest umieszczenie elastycznej rurki wewnątrz jamy nosowej u znieczulonego psa i użycie soli fizjologicznej do przepłukania jamy nosowej. **B,** Schemat kolejnej techniki pokazującej umieszczenie elastycznej rurki zagiętej poniżej i wokół podniebienia miękkiego z pobraniem płynu z nozdrzy zewnętrznych. (A, dzięki uprzejmości Roberta Kinga z Uniwersytetu z Florydy. B, za: Meyer DJ: The management of cytology specimens, *Compend Contin Educ Pract Vet* 9:10-16, 1987).

natantu, podobnie jak przygotowuje się osad moczu do badania. Dalsze zagęszczenie próbki może zostać wykonane przez odwirowanie w wirówce cytologicznej. Jeżeli większe fragmenty tkanek są pozyskiwane do oceny cytologicznej, można wykonać preparaty odciskowe. Niewielka ilość płynu może zostać pobrana do próbki, bez żadnych dodatkowych substancji, w celu badania mikrobiologicznego i wykonania antybiogramu, lub płyn może zostać pobrany bezpośrednio na wymazówkę.

Biopsja aspiracyjna cienkoigłowa

Biopsja aspiracyjna cienkoigłowa (BAC) jest najodpowiedniejszym rodzajem pozyskiwania materiału do badań w przypadku obecności zmian guzowatych. Jeżeli zmiana guzowata w obrębie nozdrzy zewnętrznych jest widoczna gołym okiem, powinna być wykonana biopsja bezpośrednia. W celu pozyskania próbek ze zmian guzowatych z wnętrza jamy nosowej przed wykonaniem biopsji najlepiej zlokalizować te zmiany technikami obrazowania. Do wykonania BAC igły o średnicy 1–1,5 cm 22–23 G są przymocowywane do strzykawek 3–12 ml. Zmiana guzowata nakłuwana jest kilkakrotnie igłą, podłączoną do strzykawki, następuje zassanie materiału w wyniku wytworzonego podciśnienia. Igła powinna być przekierowywana w inne miejsca guza i procedurę należy powtórzyć; podciśnienie powinno być zlikwidowane przed wykluciem igły ze zmiany guzowatej. Bardzo często tylko niewielka ilość materiału zostaje pobrana do konusa igły. Pobrany materiał powinien zostać naniesiony na szkiełko mikroskopowe w celu przygotowania preparatu cytologicznego i jego oceny.

Preparaty odciskowe i biopsja szczoteczka

Kleszczyki biopsyjne typu „zęby aligatora” są używane w celu pozyskania niewielkiej ilości bioptatu do wykonania cytologii odciskowej i histopatologii, a szczoteczka endoskopowa jest używana do pobrania tkanki, która rozprowadzona zostanie na szkiełku mikroskopowym do oceny cytologicznej. Obie techniki pobierania materiału są zwykle wykonywane w trakcie badania endoskopowego. Cytologia odciskowa może być także wykony-

wana podczas biopsji głębokiej, przy użyciu jednorazowej igły typu Tru-cut (Główny Ośrodek Zdrowia, Deerfield, IL). Podobnie może być użyty do pobrania bioptatu poli-propylenowy kateter wewnętrzny z wymienną igłą lub cewnik polipropylenowy z końcówką ściętą pod kątem 45 stopni. Kateter jest wprowadzany do zmiany rozrostowej i obracany podczas wytwarzanego podciśnienia. Tkanka może zostać później rozmieszczona na szkiełku mikroskopowym lub użyta do zrobienia preparatów odciskowych do oceny cytologicznej, przed umieszczeniem w 10-procentowym buforowanym roztworze formaliny. Cytologia szczoteczka często nie obejmuje komórek zapalnych leżących głębiej w tkance i może nie odpowiadać wynikom badania histopatologicznego (Michiels i wsp., 2003). Dlatego preferowane są bioptaty pobierane z głębszych warstw tkanki. W badaniu obejmującym 54 psy, u których występowały nowotwory jamy nosowej, wykonana została cytologia szczoteczka i odciskowa, potwierdzając nowotwór pochodzenia nabłonkowego, odpowiednio w 88% i 90% przypadków (Clercx i wsp., 1996). Jednakże, w tym samym badaniu, umiejętność zdiagnozowania nowotworów mezenchymalnych była znacząco niższa. Rozpoznanie histologiczne odpowiadało w 50% cytologii odciskowej i tylko w 20% cytologii szczoteczka.

Jeżeli mimo powyższych procedur nie uzyska się próbek diagnostycznych lub nie mogą być one wykonane ze względu na rodzaj zmiany lub wielkość pacjenta, rynotomia może okazać się niezbędna, aby uzyskać wycinek tkanki, pobrany za pomocą biopsji wycinkowej, z którego będzie przygotowany rozmaz odciskowy z pobranej tkanki do oceny cytologicznej, przed przygotowaniem pozostałości tkanki do badania histopatologicznego.

Prawidłowy obraz cytologiczny oraz częste zmiany w obrazie cytologicznym

Prawidłowa cytologia z jamy nosowej

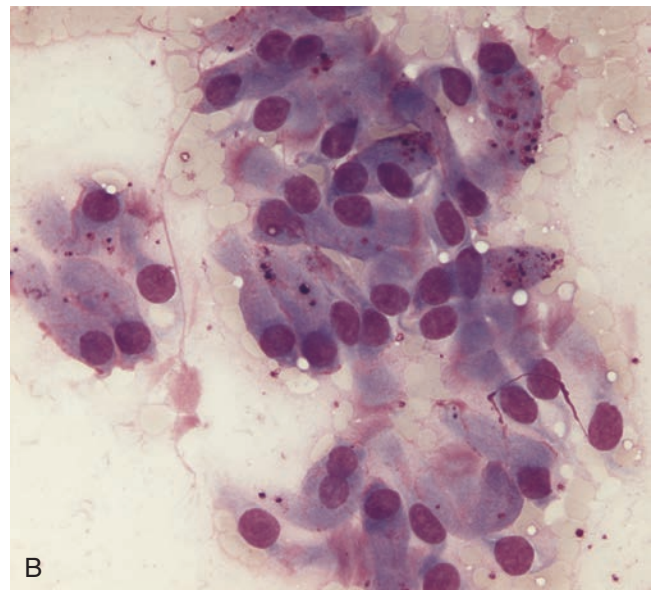
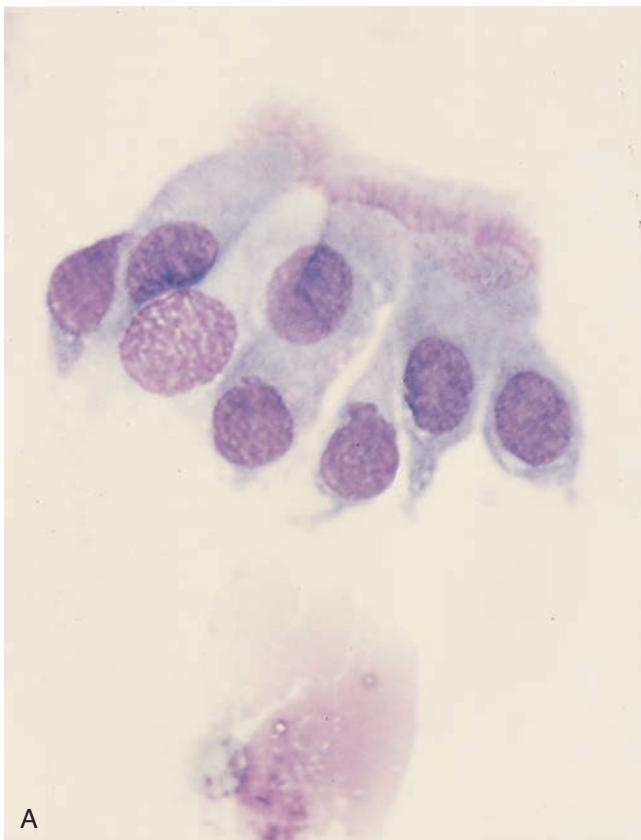
Wymazy i popłuczyny z jamy nosowej od zwierząt zdrowych zawierają niewiele komórek, śluzu oraz mieszanej populacji bakterii znajdujących się pozakomórkowo

(flora fizjologiczna), które zasiedlają powierzchnię komórek nabłonka. Urzęsione komórki cylindryczne nabłonka oddechowego tylnej części jamy nosowej zwykle dominują, jednakże może też być niewiele komórek pochodzenia płaskonabłonkowego przedniej części jamy nosowej. Komórki nabłonka oddechowego mogą być widoczne pojedynczo lub w małych grupach, są cylindryczne i zawierają okrągłe jądro znajdujące się przy podstawie. Jeżeli istnieją rzęski, to znajdują się one naprzeciwko jądra i mogą być widoczne jako kwasochłonny rąbek szczoteczkowy (fot. 5-2A). Jednocześnie nieurzęsione cylindryczne komórki kubkowe z przypadkowo zlokalizowanym jądrem są bardziej nabrzmiałe i zawierają średnią ilość cytoplazmy z okrągłymi ziarnistościami śluzowymi barwiącymi się na purpurowo (fot. 5-2B). Czasami komórki nabłonkowe przypadkowe mogą być widoczne. Mają kształt od okrągłego do sześciennego z ograniczoną mocno zasadochłonną cytoplazmą i okrągłymi ośrodkowo usytuowanymi jądrami. W próbkach cytologicznych śluz wygląda jak kwasochłonna, bezkształtna pozakomórkowa substancja, która „próbuję usidlić” komórki. Tkanka limfatyczna związana z błoną śluzową nosa (NALT) występuje zarówno u psów, jak i kotów i reaguje podobnie do uorganizowanej tkanki limfatycznej, występującej w innych miejscach (fot. 5-3). W jamie nosowej u psów i kotów występuje NALT i grudki chłonne, szczególnie w nosogardzieli. Te wysepki limfocytów reagują podobnie do pozostałej uorganizowanej tkanki limfatycznej, jak np. węzłów chłonnych. Sto-

pień krwawienia jest uzależniony od metody pobierania próbki. Krwinki czerwone wraz ze zgrupowanymi płytkami krwi i krwinkami białymi, w liczbach i proporcjach zgodnych z parametrami krwi (w przybliżeniu jedna krwinka biała na 500–1000 krwinek czerwonych), wskazuje na zanieczyszczenie próbki pochodzenia jatrogenego lub nadostry krwotok. Jama nosowa psa i kota jest siedliskiem dużej liczby mieszanej populacji bakterii, zarówno tlenowych, jak i beztlenowych, z uwzględnieniem mikroflory fizjologicznej, np.: *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Proteus sp.*, *Bordetella bronchiseptica*.

Zanieczyszczenie pochodzące z jamy ustno-gardłowej

Zanieczyszczenie pochodzące z jamy ustno-gardłowej jest widoczne najczęściej w próbkach pobranych metodami płukania. Obecność bakterii z rodzaju *Simonsiella sp.* jest oznaką zanieczyszczenia pochodzącego z jamy ustno-gardłowej. *Simonsiella sp.* są dużymi, pałeczkowatego kształtu bakteriami, które po podziale układają się w rzędy tworzące charakterystyczny wzór przypominający monety (fot. 5-4A i B). Zanieczyszczenie to charakteryzuje również obecność mieszanej populacji bakterii, znajdującej się pozakomórkowo, która zasiedla powierzchnię komórek nabłonka płaskiego rogowaciejącego. Jeżeli jest zapalenie jamy ustnej lub gardła (np. choroba przyzębia), komórki zapalne mogą towarzyszyć zanieczyszczeniu pochodzącemu z jamy ustno-gardłowej (fot. 5-4C).



■ Fot. 5-2. Prawidłowy nabłonek jamy nosowej. **A**, Urzęsiony cylindryczny nabłonek mający przypadkowo zlokalizowane jądra, prawidłowo znajduje się w górnych drogach oddechowych (barwienie Wright-Giemsa; preparat HP, immersja). **B**, Komórki kubkowe zawierające duże, kuliste, fuksynowe ziarnistości wymieszane z urzęsionymi komórkami nabłonka cylindrycznego (barwienie Wright-Giemsa, preparat HP, immersja).