

УДК 619:616-006.6-08

## **ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МАСТОЦИТОМЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ С ПОМОЩЬЮ ЭЛЕКТРОХИМИОТЕРАПИИ**

**Виктор Валентинович Гречко**

кандидат ветеринарных наук, доцент

vg\_1988@mail.ru

**Дмитрий Константинович Овчинников**

кандидат ветеринарных наук, доцент

biolog-ivm@mail.ru

Омский государственный аграрный университет

г. Омск, Россия

**Аннотация.** В статье описаны изменения, происходящие в цитологическом строении мастоцитов, после проведения лечения – электропорации. Тонкоигольная аспирационная биопсия описана на первый день поступления пациента, на 14 день после проведения электропорации внутривенного и внутроипухолевого введения блеомицина, на 21 день перед повторным курсом электрохимиотерапии.

**Ключевые слова:** тонкоигольная аспирационная биопсия, цитология, мастоцитома, электрохимиотерапия.

Лечение рака действительно претерпевало непрерывные изменения на протяжении веков, главным образом из-за лучшего понимания болезни и лежащих в ее основе биологических процессов. Хирургия, самый древний метод, уже использовалась в Древнем Египте. Гормональная терапия и физические методы, такие как лучевая терапия, начали разрабатываться в девятнадцатом веке. Другие методы лечения, такие как химиотерапия, иммунотерапия и генная терапия, появились в двадцатом веке. Все эти методы лечения были разработаны и оптимизированы для увеличения продолжительности и качества жизни пациентов. В настоящее время процент людей с раком, живущих через 5 лет после постановки диагноза, увеличился до 60% во всем мире, но мы все еще далеки от цели излечить всех пациентов.

В настоящее время клиницистам все еще не хватает эффективных, безопасных, простых, воспроизводимых и универсальных методов. Эти методы требуются не только в клиниках для людей, но и в ветеринарных клиниках для лечения домашних животных. Электрохимиотерапия постепенно вливается в гуманитарную и ветеринарную медицину, так как зарекомендовал себя как безопасный и эффективный метод контроля и лечения множества неоплазий [1,3].

Электрохимиотерапия (ЭХТ) представляет собой комбинированное лечение, которое использует введение химиотерапевтических лекарств в ассоциации с электропорацией клеточной мембраны. Метод основан на местном применении коротких интенсивных электрических импульсов, которые на короткое время делают проницаемыми клетки тканей. На сегодняшний день ЭХТ в основном применяется для лечения опухолевых образований с помощью электрических импульсов в случае, когда непроницающие лекарства приобретают высокую внутреннюю цитотоксичность. Таким образом, улучшенная доставка лекарства может существенно повысить эффективность химиотерапевтического препарата локально на участке электропермеабилитации за счёт электроимпульсов, не

повреждая ткани, которые не подвергаются воздействию электроимпульсов [2,4,6].

Электропорация – это физическое проявление, возникающая в клетках и тканях после проведения электрических импульсов (коротких и интенсивных), в результате чего проницаемость клеточной мембраны увеличивается, тем самым достигается повышение лекарственных средств.

Опухоль тучных клеток или мастоцитомы относится к неопластической пролиферации тучных клеток и представляет собой наиболее распространенное злокачественное новообразование кожи собаки, составляющее 16-21% всех кожных опухолей. Предшественники тучных клеток мигрируют из костного мозга в различные ткани и органы, где они становятся зрелыми тучными клетками. Внутри гранул тучных клеток находится несколько медиаторов, которые высвобождаются во внеклеточную среду во время дегрануляции и играют ключевую роль в воспалительном процессе [5,7,8].

Материалом послужило новообразование на коже и ниже лежащих тканей в области груди у собаки по кличке «Рада» 10 лет. Для постановки диагноза использовали цитологический метод (в динамике) – тонкоигольная аспирационная биопсия (ТИАБ) окраска Азур-эозином по Романовскому.

Результаты исследования. При проведении общего осмотра образования выявлено: в области груди на коже и подкожной клетчатке отмечается безволосое округлое образование с эрозией на 1/2 объема образования, не подвижное при пальпации уходит глубоко в нижележащие ткани грудную мышцу. Размер 4,5х4,5 см высота 3,5 см. Отмечается быстрый рост последние 2 месяца, вызывает беспокойство животного в виде зуда. (Рисунок 1)



*Рисунок 1* - Новообразование кожи и подкожной клетчатки перед лечением, собака по кличке «Рада», возраст 10 лет

По результатам цитологии препарат незначительно клеточности, представлен в основном до 90% тучными клетками (мастоциты). Клетки округлые, в цитоплазме содержат от умеренного до большого количества базофильной (азурофильной) грануляции. Грануляция в ряде клеток настолько плотная, что закрывает ядро. Из всей популяции представленных мастоцитов 20% слабогранулированы, и около 10% голоядерных клеток. Ядра же самих мастоцитов имеют бледно базофильное окрашивание и слабо различимы. Располагаются как разрозненно, так и в скоплениях. Встречаются двухядерные клетки, а так же не исключается анизокариоз. (Рисунок 2).

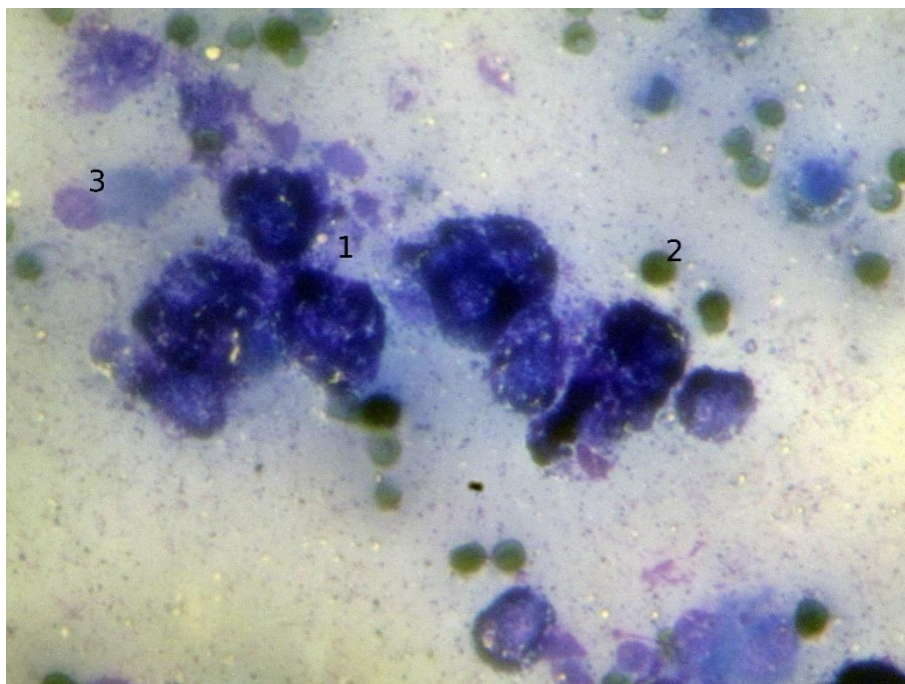


Рисунок 2 - ТИАБ новообразования, собака по кличке «Рада», возраст 10 лет, окраска Азур-эозин по Романовскому, увеличение x400: 1 - тучные клетки (мастоциты); 2 - эритроциты; 3 - голаядерные клетки.

Мастоцитомы (средне дифференцированная G2 по Patnaik и 2-я степень по Bostok). Для подтверждения диагноза необходимо гистологическое исследование с толуидиново-синим. Для установления и уточнения прогноза, необходим анализ на клеточную пролиферацию маркеры Ki61, PCNA, AgNNORs; определение c-kit мутации.

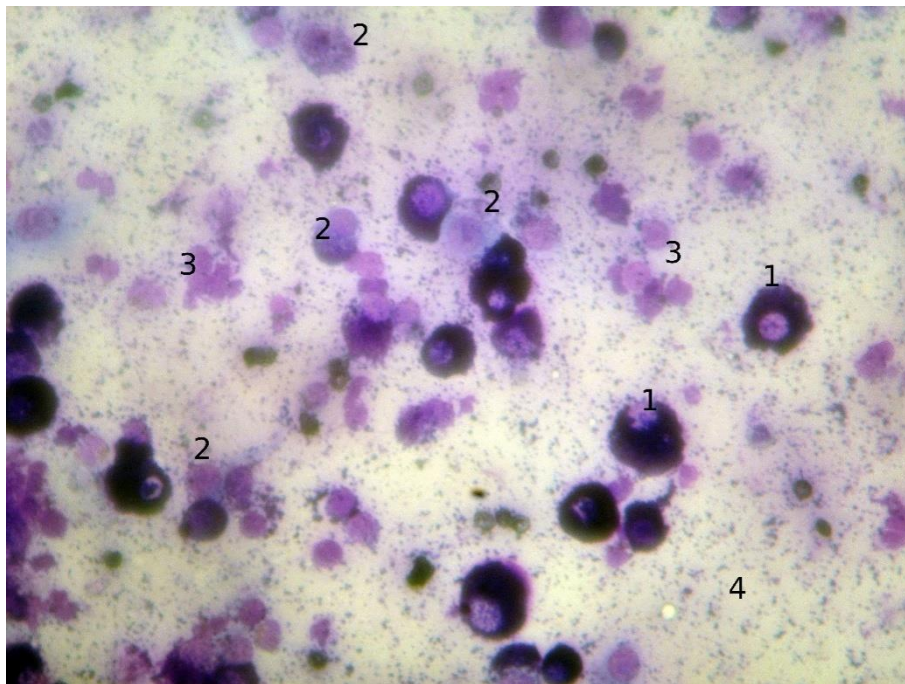
По стадии классификации кожных мастоцитом данное образование относится к 1 стадии (единичная, ограниченная опухоль, без метастазов лимфоузлах), определение c-kit мутации не проводилось.

Внутривенно вводился противоопухолевый антибиотик Блеомицин в дозе 10 мг/м<sup>2</sup> 80% от рассчитанной дозы и непосредственно в опухоль оставшиеся 20%. Элетропорацию проводили с помощью прибора фирмы Leroy «Electrovet EZ» при помощи L-образного электрода 5 разрядов и игольчатого электрода 5 разрядов. После процедуры отмечается выраженный отек ткани, для контроля воспаления и боли назначен «Мирамизол» 20мг/кг 1 раз в сутки, в течении 3-4 дней. На протяжении последующих дней состояние пациента оценивалось как хорошее: аппетит, активность, стул и другие показатели без изменений.

Непосредственно мастоцитомы через 7 дней, уменьшилась в диаметре до 4 см и высота изменилась незначительно на 0,5 см.

Через 14 суток, после видимых клинических улучшений, а именно уменьшение размера опухоли в общем объеме в 1,5 раза (без применения дополнительных средств лечения мастоцитомы) и хорошее самочувствие пациента. Провели повторную ТИАБ, по результатам которой отмечается: препарат значительной клеточности, как по количеству, так и составу. Встречаются эритроциты и клетки периферической крови на фоне грануляции мастоцитов. Четко прослеживается увеличение слабо гранулированных мастоцитов до 40%, как целые клетки, так и в стадии апоптоза. Мастоциты имеют округлую бледно базофильную цитоплазму с единичными грануляциями. Множество голоядерных структур (Рисунок 3).

Наличие на фоне множества свободной грануляции связанна, скорее всего, с высоким разрушением мастоцитов и соответственно появление слабо гранулированных клеток, это связано с недостаточным временем для регенерации, после проведенного лечения. Также наличие не интерпретируемых структур – это следствие апоптоза опухолевых клеток. Данная картина соответствует уже низкодифференцированной мастоцитоме G3 по Patnaik и 1-я степень по Bostok. Но вряд ли это связано с агрессивным поведением, а с регенерацией после электрохимиотерапией, и не ухудшает прогноз, так как клинически наступает улучшение.



*Рисунок 3* - ТИАБ новообразования на 14 сутки, собака по кличке «Рада», возраст 10 лет, окраска Азур-эозин по Романовскому, увеличение  $\times 400$ : 1 - тучные клетки (мастоциты); 2 - слабо гранулированные мастоциты; 3 - голоядерные клетки; 4 - пигментация мастоцитов.

На 21 день после электропорации на светлом фоне и преципитации клеток крови и в меньшем количестве чем в 14 суток цитоплазматических гранул тучных клеток, препарат хорошего цитоза. Состоит из зрелых высокодифференцированных мастоцитов - клетки равные по размеру, с центрально расположенным и четким округлым ядром. Цитоплазма полностью гранулирована, имеет округлую форму и не отличается по размерам у всех клеток. Голоядерные структуры и слабо гранулированные мастоциты единичны. Данная картина соответствует уже высокодифференцированной мастоцитоме G1 по Patnaik и 3-я степень по Vostok.

Данная картина соответствует тому, что процессы апоптоза прекратились, и клетки полностью восстанавливаются. Но рост опухоли значительно уменьшился, так как высокодифференцированные мастоцитомы растут медленно, т.е. процесс из острого переходит в хронический. Тем не менее, данные исследования являются прямым показанием для проведения повторной процедуры электрохимиотерапии (Рисунок 4, 5).

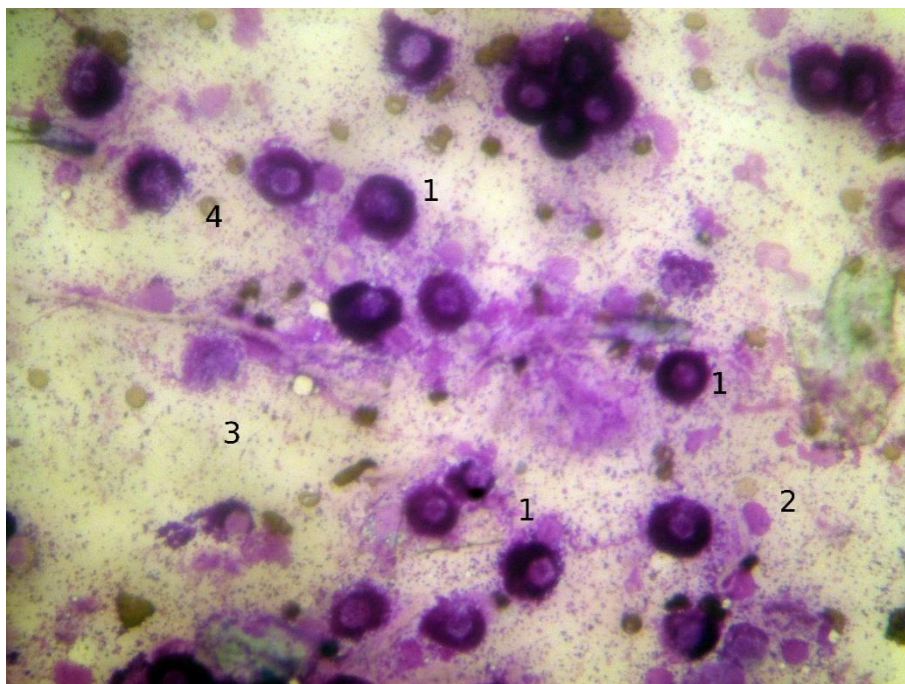


Рисунок 4 - ТИАБ новообразования на 21 сутки, собака по кличке «Рада», возраст 10 лет окраска Азур-эозин по Романовскому, увеличение x400: 1 - высокодифференцированные тучные клетки (мастоциты); 2 - голоядерные структуры; 3 - светлый фон содержащий грануляции мастоцитов; 4 - эритроциты.



Рисунок 5 - ТИАБ новообразования на 21 сутки, собака по кличке «Рада», возраст 10 лет окраска Азур-эозин по Романовскому, увеличение x 1000: 1 - высокодифференцированные тучные клетки (мастоциты); 2 - голоядерные структуры.

Не посредственно в данном исследовании, у данного пациента, в цитологии мастоцитов до лечения отмечалось содержанием полиморфных гранулированных мастоцитов, соответствующие средне дифференцированному



варианту. После первой процедуры электрохимиотерапии возрастает количество слабо гранулированных тучных клеток, голоядерных клеток и структур не интерпретируемой формы. Данные изменения связанные с апоптозом в результате проведения электрохимиотерапии, что на макростроении отмечается как уменьшение объема опухоли, все это в совокупности указывает на хороший ответ, на лечение, нежели на малигнизацию и более агрессивный вариант опухоли. И на 21е сутки клетки имеют признаки высокодифференцированных клеток, что может указывать на прекращение терапевтического действия лечения, прекращение массовой гибели клеток, и на то, что процесс из острого перешел в хронический. Данные исследования являются показанием для проведения еще одного сеанса электропорации.

#### **Список литературы:**

1. Book AP, Fidel J, Wills T, Bryan J, Sellon R, Mattoon J (2011) Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Vet Radiol ultrasound Off J Am Coll Vet Radiol Int Vet Radiol Assoc* 52 (5):548–554.

2. Lowe R., Gavazza A., Impellizeri J.A., et al. The treatment of canine mast cell tumours with electrochemotherapy with or without surgical excision // *Vet. Comp. Oncol.* 2016. Mar 22.

3. Spugnini E.P., Azzarito T., Fais S., et al. Electrochemotherapy as First Line Cancer Treatment: Experiences from Veterinary Medicine in Developing Novel Protocols.

4. Spugnini E.P., Citro G., Mellone P., et al. Electrochemotherapy for localized lymphoma: a preliminary study in companion animals // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2007. Sep.

5. Spugnini E.P., Dotsinsky I., Mudrov N., et al. Biphasic pulses enhance bleomycin efficacy in a spontaneous canine perianal tumors model // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2007. Dec.

6. Spugnini E.P., Fais S., Azzarito T., et al. Novel Instruments for the Implementation of Electrochemotherapy Protocols: From Bench Side to Veterinary Clinic // J. Cell Physiol. 2016. Jul 28.

7. Spugnini E.P., Fanciulli, M., Citro, G., et al. Preclinical models in electrochemotherapy: the role of veterinary patients // Future Oncol. 2012.

8. Spugnini E.P., Pizzuto M., Filippini M., et al. Electroporation Enhances Bleomycin Efficacy in Cats with Periocular Carcinoma and Advanced Squamous Cell Carcinoma of the Head // J. Vet. Intern. Med. 2015.

**UDC 619:616-006.6-08**

## **CYTOLOGICAL CHANGES OF MASTOCYTOMA DURING TREATMENT WITH ELECTROCHEMOTHERAPY**

**Viktor V. Grechko**

Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor  
vg\_1988@mail.ru

**Dmitry K. Ovchinnikov**

Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor  
biolog-ivm@mail.ru

Omsk State Agrarian University  
Omsk, Russia

**Annotation.** The article describes the changes occurring in the cytological structure of mastocytes, after treatment – electroporation. A fine needle aspiration biopsy is described on the first day of admission of the patient, on the 14th day after electroporation of intravenous and intra-tumor bleomycin administration, on the 21st day before the repeated course of electrochemotherapy.

**Keywords:** fine needle aspiration biopsy, cytology, mastocytoma, electrochemotherapy

Статья поступила в редакцию 20.08.2023; одобрена после рецензирования 19.10.2023; принята к публикации 27.10.2023.

The article was submitted 20.08.2023; approved after reviewing 19.10.2023; accepted for publication 27.10.2023.