

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С.З. ГЬЖИЦЬКОГО

Кваліфікаційна наукова праця на
правах рукопису

ІВАШКІВ БОГДАН БОГДАНОВИЧ

УДК 619:616-006.6:636.7

ДИСЕРТАЦІЯ
КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ СОБАК ЗА МАСТОЦИТОМИ ШКІРИ

Галузь знань – 21 «Ветеринарія»

Спеціальність – 211 «Ветеринарна медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Б.Б. Івашків

Науковий керівник:

Мисак Андрій Романович,

доктор ветеринарних наук, професор

Львів – 2025

АНОТАЦІЯ

Івашків Б.Б. **Клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак за мастоцитоми шкіри.** - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина (21 – Ветеринарія). Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Львів, 2025.

У дисертації теоретично і клініко-експериментально обґрунтовано мультимодальний підхід до лікування собак із мастоцитомою шкіри, яке полягає у застосуванні дексаметазону, шляхом неoad'ювантної терапії, оперативного видалення пухлини та ад'ювантної хіміотерапії за схемою VCD (вінбластин, циклофосфамід, дексаметазон), а також імунотерапії (препарату імуностимулюючої дії – анфлурону (рекомбінантного α - γ -інтерферону) у випадку мастоцитом високої злоякісності та оперативного видалення пухлин і біотерапії за неоплазій низького ступеня злоякісності, що дозволяє досягти більш якісної ремісії хвороби.

Дисертаційна робота є складовою частиною науково-дослідної роботи кафедри хірургії “Моніторинг виникнення і перебігу хірургічних захворювань; розробка заходів профілактики хірургічної патології та ефективних методів лікування хворих тварин” № 0111U009819 (2015-2020 рр.); № 0121U109948 (2020-2025 рр.). Дисертант є виконавцем підрозділу “Клініко-експериментальне і теоретичне обґрунтування застосування паліативно-хірургічних методів та таргетної терапії за неоплазій у продуктивних і дрібних домашніх тварин”.

Виконання наукової роботи передбачало проведення трьох етапів досліджень. Перший етап включав проведення моніторингу щодо поширення неоплазій у собак в географічній популяції України, а зокрема в умовах м. Львова та об'єднаної територіальної громади. Встановлено, що серед 5277 собак із хірургічною патологією спонтанні пухлини діагностовано у 848 тварин, що складає 16,2 %. В розрізі 2016–2024 років превалентність захворювання собак

на неоплазії знаходилася в межах 10,56-23,74 %. Серед онкологічних захворювань найбільш часто реєстрували неоплазії молочної залози - 36,7 % та пухлини шкіри - 33,6 %, рідше - новоутворення органів репродуктивної системи, внутрішніх органів та пухлини в ділянці голови і шиї - 12,3, 8,5 та 5,8 %. Для неопластичних уражень кровотворної і лімфоїдної тканин та пухлин кісток і суглобів характерними були спорадичні випадки - 2,4 і 0,8 % відповідно. У 16,6 % собак встановлено симультантне ураження пухлинами різних нозологічних форм.

У структурі неоплазій шкіри доброякісні пухлини становили 54,4%, злоякісні – 45,6 %. Доброякісні пухлини представлені, здебільшого, папіломою – 22,45 %, рідше ліпомою – 13,0 %, дерматофібромою – 10,2 %, трихоепітеліомою – 5,26 %, поодинокі пухлинні ураження, такі як гемангіома, гістіоцитома, гепатоцелюлярна аденома, атерома, дермоїд становили, в цілому, 3,5 %. Злоякісні новоутворення розподілені наступним чином: мастоцитома – 17,2 %, плоскоклітинний рак – 9,47 %, меланома – 4,2 %, базаліома – 11 3,86 %, Т-клітинна лімфома шкіри – 3,86 %, аденокарцинома – 3,16 %, саркома (веретенноклітинна фібросаркома) – 2,8 %, інші пухлини (неоплазії параназальних та сальних залоз – 3 (1,05 %).

Поміж злоякісних пухлин шкіри найбільшу частку становила мастоцитома, яку було діагностовано у 49 собак. Дані тварини стали об'єктом наших досліджень і пройшли повний курс діагностично-лікувальних заходів. Встановлено, що у розрізі породної приналежності найбільшу частку займали собаки породи стафордширський тер'єр, ротвейлер та спанієль по 10,2 %, а також французький бульдог, чау-чау та лабрадор, відповідно, 8,1 %, шарпей, англійський бульдог, боксер, німецька вівчарка та безпородні собаки – 6,1 %, кане-корсо, доберман та мопс - по 4 % і середньоазіатська вівчарка - 2 %. Тварини, 26 (53,06 %) псів і 23 (46,94 %) суки були віком від 4 до 16 років, некастровані. У віковому аспекті тварини розподілилися наступним чином: віком 4 роки – 2,0 %; відповідно, 5– 6 років – 8,16 %; 7–8 років – 18,4 %; 9–10 –

40,82 %; 11–12 – 18,37 %; 13–14 – 6,12 %; старші 15 років – 6,12 %. Медіана захворюваності становила 9,5 роки, а мода припадала на вік 9-10 років.

Другий етап досліджень. Зважаючи на різноманітність клінічно прояву, діагноз на мастоцитому встановлювали комплексно на підставі даних фізикального, соно- та рентгенографічного дослідження тварин та цитологічної ідентифікації неоплазій після виконання тонкогolkової біопсії. З'ясовано, що ріст та розвиток мастоцитом маскується, зазвичай, алергічно-запальною реакцією та дифузним набряком пухлини і навколишніх тканин, еритемою, свербіжем, з причини сталої активації та дегрануляції мастоцитів. Це обумовлює розмаїтість зовнішнього вигляду і симптоматики пухлин.

За сонографії пухлини ОК візуалізуються у вигляді солідного гіперваскулярного вогнища з центральним типом васкуляризації, яка є переважно хаотичною, з великою кількістю анастомозуючих ділянок з турбулентним потоком. Утворення таких вогнищ вказує на високоактивну фазу неопластичного процесу, тобто інтенсивний його ріст на тлі дифузної інфільтрації прилеглих тканин та вираженої запальної реакції.

Скринінгом для верифікації мастоцитоми є проведення тонкогolkової біопсії (FNAB) пухлин і регіонарних лімфатичних вузлів з подальшим цитологічним дослідженням біоптатів пухлин. Доведено, що отримання біопсійного матеріалу “сліпим” методом тонкогolkової біопсії є недоцільним, оскільки 38 % таких біоптатів є малоінформативними для цитологічної верифікації пухлин через недостатній або неякісний (непрезентабельний) клітинний вміст отриманого матеріалу, тому виконання такої процедури повинно проводитися прицільно, під контролем сонографії.

Вперше у вітчизняній ветеринарній хірургії за обстеження собак клініко-морфологічну характеристику мастоцитом шкіри подано за міжнародною клінічною системою TNM оцінювання пухлин, а також застосовано дворівневу гістологічну класифікацію неоплазій за Kiupel. Відповідно до критеріїв TNM (на підставі даних фізикального, соно- та рентгенографічного дослідження тварин та цитологічної ідентифікації неоплазій) поміж 49 собак із

мастоцитомою шкіри встановлено I клінічну стадію розвитку пухлинного процесу (T1aN0M0, T1aN1M0) у 10 (або 20,5 %) тварин, II (T2aN0M0, T2aN1aM0) – в 13 (26,5 %) випадках, III (T2aN1bM0, T2bN1bM0, T3aN0M0, T3aN1bM0, T3bN1aM0), відповідно, у 25 (51,0 %) собак і IV стадію (T3b,в N1bM1) в 1 (2,0 %) тварини.

На підставі результатів гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу, відповідно до критеріїв двоступеневої класифікації Kiupel, у 36 (73,47 %) собак верифіковано мастоцитому низького ступеня злоякісності і у 13 (26,53 %) тварин високого ступеня злоякісності. Морфометричними дослідженнями встановлено, що за низько злоякісної (високодиференційованої) МСТs, об'єм клітини становив $545,4 \pm 64,2$ мкм³, об'єм ядра - $77,5 \pm 8,80$ мкм³, ЯЦВ складало $0,20 \pm 0,011$, що свідчило про зсув ЯЦВ в сторону цитоплазми. Збільшенні величини об'єму клітини - $590,24 \pm 75,61$ мкм³, ядра - $102,31 \pm 8,79$ мкм³ ($p < 0,05$) та підвищення показника ЯЦВ - $0,24 \pm 0,013$ за високо злоякісної (низькодиференційованої) МСТs вказує на ознаки клітинної атипії та малігнізацію.

Вперше у вітчизняній ветеринарній медицині проведено цілісне морфологічне вивчення мастоцитоми шкіри у собак на ультраструктурному, клітинному та тканинному рівнях. Результати електронно-мікроскопічного дослідження дозволили вперше детально охарактеризувати ультраструктурну організацію клітин мастоцитом у собак. Встановлено наявність двох морфологічно різних популяцій онкомастоцитів — світлих (функціонально активних) і темних клітин. Світлі клітини характеризуються значними змінами у структурі ядра, зокрема, неправильністю форми, глибокими інвагінаціями каріолеми, низьким вмістом хроматину, бобоподібною формою ядра з двома ядерцями та їх поліморфізмом, що свідчить про високу метаболічну активність і атипію. Виявлені аномалії у будові мітохондрій у вигляді хаотично розміщених крист та концентрація останніх перинуклеарно, розширення каналів ендоплазматичної сітки та значне накопичення секреторних везикул і гранул низької щільності вказують на активний синтетичний процес та

дегрануляцію. Темні онкомастоцити - мали щільні ядра з конденсованим хроматином та численні осміофільні гранули в цитоплазмі, що вказує на завершеність дегрануляції та можливі ознаки клітинного виснаження або апоптозу.

За порівняльного аналізу клінічних стадій та гістологічних ступенів шкірної масоцитоми встановлено, пряму кореляцію між величиною пухлини та ступенем її злоякісності, оскільки прослідковується тенденція, при якій, поряд із зростанням показника T, що за клінічної TNM класифікації неоплазії відображає її розмір, зростає і кількість випадків верифікації новоутворень, які мають злоякісний характер. Встановлено також, що стрімко прогресуючий і, відповідно, більш злоякісний перебіг захворювання характерний для мастоцитом, що локалізуються в собак в ділянках тіла вільно доступних для постійного травмування (кінцівки, пахвина, промежина, шия).

За результатами гематологічних досліджень з'ясовано, що мастоцитомою шкіри у собак супроводжуються порушенням функціонального стану печінки, нирок, системи крові. Про що свідчать зниження в сироватці крові вмісту загального протеїну ($p < 0,05$), альбуміну ($p < 0,001$), підвищений рівень активності АсАТ у 3,1 рази та АлАТ у 2,1 рази ($p < 0,001$). Підвищення вмісту креатиніну ($p < 0,001$). Зменшення кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну ($p < 0,001$), зниження МСН ($p < 0,05$). Лейкоцитоз із значним підвищенням кількості паличкоядерних нейтрофілів ($p < 0,001$), лімфопенія ($p < 0,001$), еозинофілія ($p < 0,001$), тромбоцитопенія ($p < 0,001$) та моноцитоз.

Третій етап досліджень був спрямований на проведення клініко-експериментального удосконалення та розробку ефективних методів лікування собак за МСТs та їх патогенетичне обґрунтування. Для цього 49 хворих собак було розділено на чотири групи за принципом тварин аналогів. При формуванні дослідних груп за основу був взятий ступінь злоякісності та клінічна стадія неоплазій, враховували також клінічний прояв хвороби, вік, стать, живу масу та породу собак, локалізацію пухлин тощо. Відповідно, 33 тварини з мастоцитомою низької злоякісності, рандомізовано розподілили на дві групи -

першу (контрольну, n=16) та другу (дослідну, n=17). Водночас з 16 собак з МСТs високого ступеня злоякісності створено також дві групи – третю (яка була контрольною) і четверту (дослідну), по 8 тварин у кожній.

У собак першої групи застосовано лише хірургічний метод видалення пухлини та подальше спостереження за процесом видужання й життя тварин.

У тварин другої групи після екстирпації неоплазії було застосовано вітчизняний лікарський препарат імуностимулюючої дії – Анфлурон.

Собакам третьої групи, після екстирпації пухлини застосували загальноприйнятну схему хіміотерапії, що включала цитостатичні препарати вінбластин і циклофосфамід та глюкокортикоїд преднізолон. У нашому дослідженні преднізолон замінено на препарат активнішої дії - дексаметазон.

У собак четвертої групи, аналогічно як і у третій хірургічно видаляли пухлину і за такою ж схемою застосували цитостатичні препарати. Проте, після завершення курсу хіміотерапії тваринам даної групи застосовано анфлурон.

З метою контролю дегрануляції опасистих клітин та, відповідно, попередження виникнення алергічно-запальної реакції та набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, в тому числі, попередження активації мастоцитів під час проведення операції та в післяопераційний період, а також з метою зменшення об'єму пухлин, в першу чергу нерезектабельних, великих за розмірами, було проведено неoad'ювантну глюкокортикоїдну терапію. А саме, за 10 днів до операції та в день її проведення, внутрішньом'язово або під основу пухлини застосовували дексаметазон. В цілому така неoad'ювантна терапія полягала у проведенні трьох ін'єкцій дексаметазону з інтервалом дві доби, в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини. За результатами застосування дексаметазону шляхом неoad'ювантної терапії у 77,5 % собак встановлено зменшення величини пухлин на 19,2-25,8 %, у 18,4 % тварин розмір пухлин не змінився і у 4,1 % відмічено незначне збільшення неоплазії. Таким чином, завдяки неoad'ювантній терапії у 77,5 % собак проведено екстирпацію пухлин в межах широкого хірургічного поля (з крайовим відступом >2 см).

За застосування анфлуруну (рекомбінантного α - γ -інтерферону) у тварин другої групи після оперативного видалення мастоцитом встановлено невірогідне збільшення кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну, величини гематокриту ($p < 0,001$), кількості тромбоцитів на ($p < 0,05$). При незначному зменшенні кількості лейкоцитів відмічено невірогідне зростання частки еозинофілів, паличкоядерних нейтрофілів і моноцитів та зниження відсотка сегментоядерних нейтрофілів ($p < 0,001$). При цьому зросла частка лімфоцитів ($p < 0,001$), в тому числі ВГЛ в 4,3 рази ($p < 0,01$). Вміст ацидофільних гранул в цитоплазмі ВГЛ становив 8-10, що свідчить про підвищення природної резистентності. Збільшення вмісту в сироватці крові загального протеїну і альбумінів ($< 0,05$), а також зниження вмісту загального білірубіну ($< 0,05$) та активності печінкових ферментів АсАТ та АлАТ ($< 0,001$) вказувало відновлення функціонального стану та структури печінки.

За результатами дослідження собак третьої та четвертої груп, яким після екстирпації неоплазій було застосовано 2 курси хіміотерапії встановлено задовільну переносимість від застосування цитостатичних препаратів. Температура тіла, частота пульсу та дихання були у нормі. Незначне пригнічення тварин, млявість та зниження апетиту були короткотривалими (1-3 доби). Часові інтервали між застосуванням цитостатиків були достатніми для відновлення показників крові до фізіологічної норми. Проте, лише на завершальному етапі виконання хіміотерапії гематологічні показники зазнали певних супресивних змін.

За результатами гематологічних досліджень встановлено, що після проведення хіміотерапії у дослідних тварин відбулося зменшення кількості еритроцитів ($p < 0,001$), гемоглобіну ($p < 0,001$), величини гематокриту ($p < 0,001$), кількості тромбоцитів на ($p < 0,05$) і лейкоцитів ($p < 0,001$). При цьому зменшилась частка лімфоцитів ($p < 0,001$), в тому ВГЛ в 3 рази ($p < 0,01$). Вміст ацидофільних гранул у цитоплазмі ВГЛ сягав 1–5, при нормі не менше п'яти. Відмічено також порушення функціонального стану печінки вказували біохімічні показники, зокрема зменшення вмісту в сироватці крові загального протеїну ($p < 0,01$),

альбумінів ($p < 0,01$), збільшення активності печінкових ензимів АсАТ та АлАТ ($p < 0,001$), рівня загального білірубіну ($p < 0,01$).

Встановлені результати досліджень вказують, що виконання двох курсів ад'ювантної хіміотерапії (з інтервалом 21 день) за схемою CVD спричиняє цитостатичну гемосупресію, гепато-анемічний синдром та пригнічення природної резистентності а, зокрема, низьку активність природних кілерів, НК-клітин, які відіграють важливу в протипухлинному захисті.

Застосування біотерапії тваринам четвертої групи, яким після операції проводили хіміотерапію, супроводжується збільшенням кількості еритроцитів, тромбоцитів ($p < 0,05$), вмісту гемоглобіну ($p < 0,05$), величини гематокриту ($p < 0,05$). Аналогічно як і в другій групі зросла частка еозинофілів, паличкоядерних нейтрофілів і моноцитів за рахунок зменшення сегментоядерних нейтрофілів ($p < 0,001$). Зросла частка лімфоцитів ($p < 0,001$), в тому числі ВГЛ у 6,3 рази ($p < 0,01$). У сироватці крові встановлено збільшення вмісту загального протеїну і альбумінів ($< 0,05$). Знизився міст загального білірубіну ($< 0,05$) та показники активності печінкових ферментів АсАТ та АлАТ ($< 0,01$) та ($< 0,001$), що свідчить про усунення токсичної дії хіміотерапії.

За результатами проведених досліджень встановлено, за застосування у собак з низько злоякісною мастоцитомою хірургічного видалення пухлин та біотерапії (друга група), порівняно із проведенням тільки оперативного видалення новоутворень, смертність тварин впродовж двох років спостережень була нижчою на 8 %, безрецидивний період тривав понад 24 місяці, виживаність становила 70,6 %, що може свідчити про стійку ремісію та видужання тварин. Водночас у собак першої групи після видалення пухлин без рецидивний період тривав 13 місяців, а виживаність становила 62,5 %.

У собак із високо злоякісною мастоцитомою після хірургічного видалення пухлин та ад'ювантної хіміотерапії за схемою циклофосфан-вінбластин-дексаметазон (третя група), медіана тривалості життя становила 7 місяців і була вірогідно коротшою порівняно показником 19 місяців ($p < 0,05$), встановленим в тварин четвертої групи, яким після хіміотерапії було

застосовано анфлурон (рекомбінантний α - і γ -інтерферон). Безрецидивний період в обидвох групах був надзвичайно короткою і становив в середньому 2 місяці. По завершенні двохрічного спостереження стійку ремісію встановлено у 12,5 % собак третьої та 25 % тварин четвертої групи.

Матеріали дисертації використовуються в навчальному процесі під час вивчення дисципліни “Ветеринарна онкологія”, “Хвороби дрібних тварин,” “Загальна і спеціальна ветеринарна хірургія” і в наукових дослідженнях (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького, Білоцерківський національний аграрний університет, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Державний біотехнологічний університет м. Харків).

Розроблений нами метод лікування є апробованим і використовуються лікарями ветеринарної медицини у приватних ветеринарних клініках (мережа клініки «Соновет», «Клініка доктора Маркевича»).

Ключові слова: собаки, пухлини шкіри, поширення, мастоцитома, цитологічне та гістологічне дослідження, електронна мікроскопія, комплексне лікування, хіміотерапія, біотерапія, рекомбінантний α - γ -інтерферон, виживання тварин.

ANNOTATION

Ivashkiv B.B. Clinical and experimental substantiation of complex treatment of dogs with skin mastocytoma. Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy on the specialty 211 - Veterinary Medicine (21 - Veterinary Science). Stepan Gzhytsky Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, 2025.

The thesis theoretically and clinically and experimentally substantiates a multimodal approach to the treatment of dogs with skin mastocytoma, which consists in the use of dexamethasone, by neoadjuvant therapy, surgical removal of the tumor and adjuvant chemotherapy according to the VCD (vinblastine, cyclophosphamide, dexamethasone) regimen, as well as immunotherapy (immunostimulant action preparation - anfluron (recombinant α - γ -interferon) in case of high-grade mastocytoma and surgical removal of tumors and biotherapy for low-grade neoplasia, which allows to achieve better remission of the disease.

The thesis is an integral part of the research work of the Department of Surgery “Monitoring the occurrence and course of surgical diseases; development of measures for the prevention of surgical pathology and effective methods of treating sick animals” No. 0111U009819 (2015-2020); No. 0121U109948 (2020-2025). The dissertator is the executor of the subdivision “Clinical, experimental and theoretical substantiation of the use of palliative surgical methods and targeted therapy for neoplasia in productive and small domestic animals”.

Performing scientific work provided for the holding of three stages of research. The first stage included monitoring the prevalence of neoplasia in dogs in the geographical population of Ukraine, in particular in the city of Lviv and the united territorial community. It was found that among 5277 dogs with surgical pathology, spontaneous tumors were diagnosed in 848 animals, which is 16.2 %. In the context of 2016-2024, the prevalence of neoplasia in dogs ranged from 10.56 to 23.74%. Among the oncological diseases, the most commonly recorded were mammary gland neoplasia (36.7 %) and skin tumors (33.6 %), and less commonly, neoplasms of the reproductive system, internal organs and tumors in the head and neck (12.3 %, 8.5 % and 5.8 %). Neoplastic lesions of hematopoietic and lymphoid tissues and tumors of bones and joints were characterized by sporadic cases of 2.4 and 0.8 %, respectively. In 16.6 % of dogs, simultaneous lesions of tumors of different nosological forms were found.

In the structure of skin neoplasia, benign tumors accounted for 54.4% and malignant tumors for 45.6%. Benign tumors were mainly represented by papilloma

(22.45 %), less commonly by lipoma (13.0 %), dermatofibroma (10.2 %), trichoepithelioma (5.26 %), and single tumor lesions such as hemangioma, histiocytoma, hepatocellular adenoma, atheroma, and dermoid made up 3.5 %. Malignant tumors are distributed as follows: mastocytoma - 17.2 %, squamous cell carcinoma - 9.47 %, melanoma - 4.2%, basal cell carcinoma - 11 3.86 %, T-cell lymphoma of the skin - 3.86 %, adenocarcinoma - 3.16 %, sarcoma (spindle cell fibrosarcoma) - 2.8%, other tumors (neoplasia of the para-anal and sebaceous glands) - 3 (1.05%).

Among the malignant skin tumors, the largest share was mastocytoma, which was diagnosed in 49 dogs. These animals became the object of our research and underwent a full course of diagnostic and treatment measures. It was found that, in terms of breed affiliation, the largest share of dogs was occupied by Staffordshire Terrier, Rottweiler and Spaniel breeds (10.2 % each), as well as French Bulldog, Chow Chow and Labrador, respectively, 8.1 %, Sharpei, English Bulldog, Boxer, German Shepherd and purebred dogs - 6.1%, Cane Corso, Doberman and Pug - 4 %, and Central Asian Shepherd - 2%. The animals, 26 (53.06 %) males and 23 (46.94 %) females, were aged 4 to 16 years, uncastrated. In terms of age, the animals were distributed as follows: 4 years old - 2.0 %; respectively, 5-6 years old - 8.16 %; 7-8 years old - 18.4 %; 9-10 years old - 40.82 %; 11-12 years old - 18.37 %; 13-14 years old - 6.12 %; over 15 years old - 6.12 %. The median incidence was 9.5 years, and the fashion was for 9-10 years of age.

The second stage of the research. Considering the diversity of clinical manifestations, the diagnosis of mastocytoma was made comprehensively based on physical, sono- and X-ray examination of animals and cytological identification of neoplasia after a thin-needle biopsy. It has been found that the growth and development of mastocytomas is usually masked by an allergic-inflammatory reaction and diffuse edema of the tumor and surrounding tissues, erythema, itching, due to the constant activation and degranulation of mastocytes. This causes a variety of tumor appearance and symptoms.

On sonography, OC tumors are visualized as a solid hypervascular focus with a central type of vascularization, which is predominantly chaotic, with a large number of anastomosing areas with turbulent flow. The formation of such foci indicates a highly active phase of the neoplastic process, i.e., its intensive growth against the background of diffuse infiltration of adjacent tissues and a pronounced inflammatory reaction.

Screening for mastocytoma verification is a thin needle biopsy (FNAB) of tumors and regional lymph nodes, followed by cytologic research of tumor biopsies. It has been proved that obtaining biopsy material by the “blind” method of thin needle biopsy is inappropriate, since 38% of such biopsies are not informative for cytological verification of tumors due to insufficient or poor quality (unrepresentative) cellular content of the got material, so this procedure should be performed targeted, under the control of sonography.

For the first time in domestic veterinary surgery, for dog examination the clinical and morphological characteristics of skin mastocytomas were presented according to the international clinical system TNM for tumor evaluation, and a two-level histological classification of neoplasia according to Kiupel was used. According to the TNM criteria (based on physical, sono- and radiographic research of animals and cytological identification of neoplasia), among 49 dogs with skin mastocytoma, the first clinical stage of the tumor process (T1aN0M0, T1aN1M0) in 10 (or 20.5 %) animals, II (T2aN0M0, T2aN1aM0) - in 13 (26.5 %) cases, III (T2aN1bM0, T2bN1bM0, T3aN0M0, T3aN1bM0, T3bN1aM0), respectively, in 25 (51.0 %) dogs and stage IV (T3b, in N1bM1) in 1 (2.0 %) animal.

Based on the results of the histological research of the excision material, according to the criteria of the two-stage Kiupel classification, mastocytoma of low grade was verified in 36 (73.47%) dogs and high grade in 13 (26.53 %) animals. Morphometric researches have established that in low malignant (highly differentiated) MCTs, the cell volume was $545.4 \pm 64.2 \mu\text{m}^3$, the nucleus volume was $77.5 \pm 8.80 \mu\text{m}^3$, the NCPR was 0.20 ± 0.011 , which indicated a shift of NCPR towards the cytoplasm. The increase in cell volume $590.24 \pm 75.61 \mu\text{m}^3$, nucleus

$102.31 \pm 8.79 \mu\text{m}^3$ ($p < 0.05$) and the increase in NCPR index 0.24 ± 0.013 in highly malignant (low-differentiated) MCTs indicates signs of cellular atypia and malignization.

For the first time in domestic veterinary medicine, a comprehensive morphological study of skin mastocytoma in dogs was performed at the ultrastructural, cellular and tissue levels. The results of the electron microscopic research allowed for the first time to characterize in detail the ultrastructural organization of mastocytoma cells in dogs. The presence of two morphologically distinct populations of oncomastocytes - light (functionally active) and dark cells - was set up. Light cells are characterized by significant changes in the structure of the nucleus, in particular, irregularity of shape, deep invasion of the carioma, low chromatin content, bean-shaped nucleus with two nucleoli and their polymorphism, which indicates high metabolic activity and atypia. The detected abnormalities in the structure of mitochondria in the form of chaotically placed cristae and the concentration of the latter perinuclear, the expansion of endoplasmic reticulum channels and a significant accumulation of secretory vesicles and low-density granules indicate an active synthetic process and degranulation. Dark oncomastocytes - had dense nuclei with condensed chromatin and numerous osmophilic granules in the cytoplasm, indicating complete degranulation and possible signs of cellular exhaustion or apoptosis.

A comparative analysis of the clinical stages and histological grades of cutaneous masocytoma revealed a direct correlation between the size of the tumor and the degree of its malignancy, as there is a tendency in which, along with an increase in the T index, which reflects its size in the clinical TNM classification of neoplasia, the number of cases of verification of neoplasms that are malignant is also increasing. It was also found that a rapidly progressive and, accordingly, more malignant course of the disease is characteristic of mastocytomas localized in dogs in areas of the body freely accessible to constant trauma (limbs, armpit, perineum, neck).

According to the results of hematological investigations, it was found that skin mastocytoma in dogs is accompanied by impaired functional state of the liver, kidneys, and blood system. This is evidenced by a decrease in the serum content of total protein ($p<0.05$), albumin ($p<0.001$), increased levels of AST activity by 3.1 times and ALT by 2.1 times ($p<0.001$). Increase in creatinine content ($p<0.001$). Decrease in the number of erythrocytes, hemoglobin level ($p<0.001$), reduction of MCH ($p<0.05$). Leukocytosis with a significant increase in the number of rod-shaped neutrophils ($p<0.001$), lymphopenia ($p<0.001$), eosinophilia ($p<0.001$), thrombocytopenia ($p<0.001$) and monocytosis.

The third stage of research was aimed at conducting clinical and experimental improvement and development of effective methods of treatment of dogs with MCTs and their pathogenetic substantiation. For this purpose, 49 sick dogs were divided into four groups based on the principle of animal analogues. When forming the research groups, the degree of malignancy and clinical stage of neoplasia were taken as the basis, and the clinical manifestation of the disease, age, sex, live weight and breed of dogs, tumor localization, etc. were also taken into account. Accordingly, 33 animals with mastocytoma of low malignancy were randomly divided into two groups: the first (control, $n=16$) and the second (experimental, $n=17$). At the same time, 16 dogs with high-grade MCTs were also divided into two groups - the third (control) and the fourth (experimental), 8 animals in each group.

In the dogs of the first group, only the surgical method of tumor removal and further observation of the recovery process and the animals' lives were used.

In the animals of the second group, after extirpation of neoplasia, a domestic preparation with immunostimulating action, Anfluron, was used.

Dogs of the third group, after tumor extirpation, were treated with a conventional chemotherapy regimen, including the cytostatic preparations vinblastine and cyclophosphamide and the glucocorticoid prednisolone. In our research, prednisolone was replaced with a more active preparation, dexamethasone.

In the dogs of the fourth group, similarly to the third group, the tumor was surgically removed and cytostatic preparations were used according to the same regimen. However, after completion of chemotherapy, animals of this group were treated with anfluron.

Neoadjuvant glucocorticoid therapy was performed to control mast cell degranulation and, accordingly, to prevent the occurrence of an allergic-inflammatory reaction and edema both in the tumor itself and in the surrounding tissues, including the prevention of mast cell activation during surgery and in the postoperative period, as well as to reduce the volume of tumors, primarily unresectable, large ones. Specifically, 10 days before and on the day of surgery, dexamethasone was used intramuscularly or under the base of the tumor. In general, such neoadjuvant therapy consisted of three injections of dexamethasone at an interval of two days, at a dose of 0.5 ml per 5 kg of animal body mass. According to the results of dexamethasone neoadjuvant therapy, 77.5% of dogs showed a decrease in tumor size by 19.2-25.8 %, 18.4% of animals had no change in tumor size, and 4.1 % showed a slight increase in neoplasia. Thus, due to neoadjuvant therapy, 77.5 % of dogs underwent tumor excision within a wide surgical field (with marginal margin >2 cm).

With the use of anfluron (recombinant α - γ -interferon) in animals of the second group after surgical removal of mastocytomas, an unreliable increase in the number of red blood cells and hemoglobin content, hematocrit value ($p < 0.001$), platelet count by ($p < 0.05$) was found. With a slight decrease in the number of leukocytes, an unlikely increase in the proportion of eosinophils, rod-shaped neutrophils and monocytes and a decrease in the percentage of segmented neutrophils was noted ($p < 0.001$). At the same time, the proportion of lymphocytes was increased ($p < 0.001$), including LGML 4.3 times ($p < 0.01$). The content of acidophilic granules in the LGML cytoplasm was 8-10, indicating an increase in natural resistance. An increase in the content of total protein and albumin in the blood serum (< 0.05), as well as a decrease in the content of total bilirubin (< 0.05) and the activity of hepatic enzymes ALT and AST (< 0.001) indicated the restoration of the functional state and structure of the liver.

According to the results of the research, dogs of the third and fourth groups, to which 2 courses of chemotherapy were used after extirpation of neoplasias, showed satisfactory tolerance to cytostatic preparations. Body temperature, pulse rate and respiration rate were normal. Slight depression, lethargy and decreased appetite were short-term (1-3 days). The time intervals between cytostatics were sufficient to restore blood counts to physiological norms. However, only at the final stage of chemotherapy did hematological parameters undergo certain suppressive changes.

According to the results of hematological investigations, it was found that after chemotherapy in experimental animals there was a decrease in the number of erythrocytes ($p < 0.001$), hemoglobin ($p < 0.001$), hematocrit ($p < 0.001$), platelets ($p < 0.05$) and leukocytes ($p < 0.001$). At the same time, the proportion of lymphocytes was decreased ($p < 0.001$), including LGML by 3 times ($p < 0.01$). The content of acidophilic granules in the cytoplasm of LGML reached 1–5, with a norm of not less than five. Violations of the functional state of the liver were also noted, indicated by biochemical indicators, in particular, a decrease in the content of total protein in the blood serum ($p < 0.01$), albumin ($p < 0.01$), an increase in the activity of liver enzymes AST and ALT ($p < 0.001$), and the level of total bilirubin ($p < 0.01$).

The fixed research results indicate that two courses of adjuvant chemotherapy (with an interval of 21 days) according to the CVD regimen causes cytostatic hemosuppression, hepato-anemic syndrome and suppression of natural resistance, in particular, low activity of natural killer cells, NK cells, which play an important role in anti-tumor protection.

The use of biotherapy in animals of the fourth group, which underwent chemotherapy after surgery, is accompanied by an increase in the number of red blood cells, platelets ($p < 0.05$), hemoglobin content ($p < 0.05$), hematocrit ($p < 0.05$). Similarly to the second group, the proportion of eosinophils, stick neutrophils and monocytes was increased due to a decrease in segmented neutrophils ($p < 0.001$). The proportion of lymphocytes was increased ($p < 0.001$), including LGML 6.3 times ($p < 0.01$). An increase in the content of total protein and albumin was found in the blood serum (< 0.05). The total bilirubin bridge was decreased (< 0.05) and the

activity of liver enzymes ALT and AST (<0.01) and (<0.001), indicating the elimination of the toxic action of chemotherapy.

According to the results of the research, it was found that when dogs with low-grade mastocytoma underwent surgical removal of tumors and biotherapy (group two), compared with surgical removal of tumors alone, the mortality rate of animals during two years of observation was 8% lower, the relapse-free period lasted more than 24 months, and the survival rate was 70.6 %, which may indicate a stable remission and recovery of animals. At the same time, in dogs of the first group, after removal of the tumors, the relapse-free period lasted 13 months, and the survival rate was 62.5%.

In dogs with highly malignant mastocytoma after surgical removal of tumors and adjuvant chemotherapy with the cyclophosphane-vinblastine-dexamethasone regimen (group 3), the median life expectancy was 7 months and was significantly shorter than the 19 months ($p<0.05$) observed in animals of group 4, which received anfluron (recombinant α - and γ -interferon) after chemotherapy. The relapse-free period in both groups was extremely short and averaged 2 months. At the end of the two-year observation, stable remission was found in 12.5 % of dogs in the third group and 25% of animals in the fourth group.

The materials of the dissertation are used in the educational process in the study of the discipline “Veterinary Oncology”, “Small Animal Diseases” “General and special veterinary surgery” and in scientific research (Stepan Gzhytsky Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology, Bila Tserkva National Agrarian University, Dnipro State Agrarian and Economic University, State Biotechnological University of Kharkiv).

The developed method of treatment is tested and used by veterinarians in private veterinary clinics (“Sonovet” clinic network, “Dr. Markevych Clinic”).

Key words: dogs, skin tumors, spread, mastocytoma, cytological and histological research, electron microscopy, complex treatment, chemotherapy, biotherapy, recombinant α - γ -interferon, animal survival.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Івашків Б.Б. (65 %), Мисак А.Р. (15 %), Хомин Н.М. (10 %), Пріцак В.В. (10%). Моніторинг поширення спонтанних неоплазій у собак в умовах м. Львів та в приміській зоні обласного центру. Науковий вісник ветеринарної медицини» Зб. наукових праць. Випуск 2 (149). Біла Церква, 2019. С. 97-104. doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-97-104 *(здобувач організував проведення моніторингових досліджень та провів аналіз одержаних результатів).*
2. Івашків Б. (80 %), Мисак А. (10%), Пріцак В. (10 %) (2020). Клінічна характеристика мастоцитом у собак. Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки , 22 (98), 144-153. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9825> *(здобувач організував проведення дослідів, провів клінічні дослідження)*
3. Мисак А. (50 %), Івашків Б. (50 %). (2021). Клініко-патоморфологічна характеристика мастоцитом шкіри собак. Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки , 23 (104), 156-166. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10425> *(здобувач організував проведення дослідів, виконав цитологічні і гістологічні дослідження).*
4. Mysak A. (20 %), Ivashkiv B. (80 %). Features of the clinical manifestation of the cutaneous form of mastocytoma in dogs Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences, 2021, 4 (3), 62-67. <https://doi.org/https://doi.org/10.32718/ujvas4-3.11> *(здобувач організував проведення дослідів, виконав цитологічні і гістологічні дослідження).*
5. Івашків Б.Б. (80 %), Мисак А.Р. (20 %) (Ivashkiv, B., & Mysak, A.) (2024). Мастоцитома шкіри у собак, комплексне лікування та виживаємість тварин. НВ ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки, 26 (115), 159-174. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11523>. *(здобувачем)*

розроблено протокол лікування проведено його клінічну апробацію та оцінку ефективності, підготовлено рукопис до друку).

Матеріали науково-практичних конференцій:

6. Івашків, Б. (80 %), Мисак, А. (20 %) (2018). Поширення та нозологічна структура пухлин шкіри у собак залежно від породи, статі та віку. Матеріали конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині». тези доповідей м. Львів, (29-30 листопада 2018 р.): С. 66-67. Retrieved from <https://nvlvet.com.ua/index.php/conference/article/view/4416> *(здобувач організував проведення моніторингових досліджень та провів їх аналіз).*

7. Івашків Б.Б. (100 %) Показники еритроцитопоезу в собак за неоплазій шкіри. Тези доповідей I Міжнародної науково-практичної конференції НПП та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти». Одеса 13-14 квітня 2021. С. 34-36.

8. Івашків Б.Б. (75 %), Мисак А.Р. (25 %) Особливості патоморфологічної діагностики мастоцитом у собак. II конференція. Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині присвячена 140-річчю відкриття навчального закладу "Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові: тези доповідей, м. Львів, (18–19 листопада 2021 р.) СПОЛОМ, 2021. С. 62-64. *(здобувач організував проведення дослідів, виконав гістологічні дослідження).*

9. Івашків Б.Б. (90 %), Мисак А.Р. (10 %) Ефективність використання дексаметазону в лікуванні пухлин шкіри та підшкірної клітковини у собак. Матеріали науково-практичної онлайн конференції «Безпечність та якість харчових продуктів у концепції «Єдине здоров'я» (м. Львів, 1–2 червня 2023 р.). Львів, 2023. С. 98–99. doi: <https://doi.org/10.32718/konf.1-2.06.2023> *(здобувач організував проведення дослідів, провів клінічні дослідження).*

10. Івашків Б.Б. (70 %), Пріцак В.В. (15 %), Мисак А.Р. (15 %) Клініко-гематологічний статус собак за пухлин опасистих клітин. Сучасний розвиток ветеринарної медицини: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. 3 жовтня 2024 р. Білоцерківський НАУ. Біла Церква, 2024. С.58-60. *(здобувач організував проведення дослідів, виконав гематологічні дослідження).*

11. Івашків Б. (80 %), Мисак А. (20 %) Морфологічні та біохімічні показники крові собак за мастоцитом високого- та низького ступеня злоякісності. Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині (до 240-річчя започаткування викладання ветеринарної медицини у Львові). Львів, 17–18 жовтня 2024 р. : тези доп. III конференції. Львів: [ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького], 2024. с.114-115. *(здобувач організував проведення дослідів, виконав гематологічні дослідження, підготував рукопис до друку.)*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ	24
ВСТУП	25
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Поширення хірургічної патології у собак	32
1.2. Роль зовнішніх та внутрішніх чинників у розвитку пухлин	37
1.3. Основні принципи діагностики пухлин у собак	44
1.4. Етіологія, патогенез, діагностика за мастоцитоми собак	48
1.5. Сучасні методи лікування собак за мастоцитоми	56
Висновок з огляду літератури	59
РОЗДІЛ 2. ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ	
2.1. Дизайн проведення досліджень	60
2.2. Методи клініко-експериментальних досліджень	74
РОЗДІЛ 3. ПОШИРЕННЯ СПОНТАННИХ НЕОПЛАЗІЙ У СОБАК В УМОВАХ м. ЛЬВІВ Й ПРИМІСЬКІЙ ЗОНІ ОБЛАСНОГО ЦЕНТРУ; ДІАГНОСТИКА УРАЖЕННЯ ТВАРИН МАСТОЦИТОМОЮ	
3.1. Моніторинг поширення онкологічних хвороб і структура спонтанних неоплазій у собак	80
3.2. Клініко-морфологічна та інструментальна діагностика мастоцитом шкіри у собак	89
3.3. Цитологічна та гістологічна верифікація мастоцитом	103
3.4. Ультраструктурна характеристика мастоцитом	118
3.5. Гематологічні показники собак за мастоцитоми	129
РОЗДІЛ 4. КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ СОБАК ЗА МАСТОЦИТОМИ ШКІРИ	
4.1 Застосування хірургічного методу за лікування мастоцитоми	135
4.2. Клініко-гематологічний статус собак за ад'ювантною хіміо- та біотерапії	142

4.3. Порівняльна ефективність різних методів лікування собак	149
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	155
ВИСНОВКИ	165
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	170
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	173
ДОДАТКИ	199

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ВГЛ – великі грануловмісні лімфоцити

ЛІЗ (LSI) – індекс лейкоцитарного зсуву

ЛГІ (LGI) – лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс

мкм – мікрометр (мікрон)

МСН – вміст гемоглобіну в еритроциті

МСV – середній об'єм еритроцитів

МСТs – мастоцитома шкіри

ОТГ – об'єднана територіальна громада

ПК (NK - natural killer cells) природні кілери

РЛВ - регіонарний лімфатичний вузол

САМ - синдром активації мастоцитів

FNAB - (fine-needle-aspiration-biopsy) – ТАПБ (тонкогolgкова аспіраційна пункційна біопсія)

TNF- α - фактор некрозу пухлин- α

VEGF – Vascular endothelial growth factor; фактор росту ендотелія судин

Т, П, Д – показники температури, пульсу, дихання

УЗД – ультразвукове дослідження

ЯЦВ – ядерно-цитоплазматичні відношення

ОК – опасисті клітини

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. За останні роки в Україні значно зріс інтерес щодо вирішення питань ветеринарного забезпечення здоров'я тварин за онкологічних захворювань. Адже серед різноманітних хвороб дрібних та сільськогосподарських тварин онкологічні хвороби залишаються найменш вивченими в клінічному, патогенетичному та діагностично-лікувальному аспектах. Слід зауважити, що за останні десятиріччя вагомий внесок у розвиток та популяризацію ветеринарної онкології, а також у формування перспективних напрямків наукових досліджень в галузі ветеринарної онкології внесли вітчизняні дослідники: Мисак А.Р., Рубленко М.В., Білий Д.Д., Мазуркевич А.Й., Потоцький М.К. Шестяєва Н. та інші. На сьогодні вчені поглиблюють дослідження в напрямках розкриття механізмів пухлинної трансформації клітин та механізмів взаємодії організму і пухлинного процесу, імунологічного статусу тварин за неопластичних захворювань, розробляють методи та засоби посилення резистентності організму до виникнення і розвитку злоякісних неоплазій, заходи після проведення протипухлинної терапії.

Впродовж останніх років значна увага зосереджується також на вивченні окремих нозологічних форм пухлинної патології у тварин різних видів. Загальновідомо, досконале вивчення і знання причин виникнення та походження пухлинних уражень, а також їх розвитку, клінічного прояву й впливу на організм тварин, є важливим моментом у плануванні та здійсненні адекватного й ефективного лікування неопластичних захворювань. Метою проведення широкомасштабних та різнопланових досліджень є удосконалення чи розробка нових ефективних протипухлинних заходів та запровадження у вітчизняну ветеринарну практику сучасних науково обґрунтованих стандартів діагностики та лікування, залежно від нозології та стадії розвитку пухлинної хвороби. Це торкається і напрямку досліджень вибраного нами.

У даному контексті пріоритетним та перспективним напрямком є вивчення неоплазій шкіри. Відомо, що поміж усіх пухлин, що діагностуються у

собак, новоутворення шкіри займають більше 30%. Відомо також, що шкіра, будучи багато функціональним органом живого організму, створює також захисний бар'єр між організмом та навколишнім середовищем і, зазвичай, піддається негативному впливу шкідливих чинників, як з середини, так із зовні. Безперечно це стає причиною численних захворювань, в тому числі неопластичного характеру. Поміж останніх особливої уваги заслуговують пухлини опасистих клітин, які за природою належать до злоякісних, проявляються специфічними клінічними ознаками, мають непередбачувану біологічну поведінку та прогноз, чим і створюють багато клопотів в роботі практикуючих лікарів. Слід відмітити, що запропоновані впродовж останніх років протоколи лікування MCTs у собак не забезпечують бажаного терапевтичного ефекту, тому розробка нових та удосконалення відомих схем лікування залишаються на сьогодні актуальною проблемою як в Україні, так і у світі. Вочевидь, вище наведена інформація стала для нас мотивованим обґрунтуванням для вивчення проблемних питань щодо мастоцитом шкіри у собак в умовах географічної популяції України. Дана робота на часі і становить актуальність досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є складовою частиною науково-дослідної роботи кафедри хірургії “Моніторинг виникнення і перебігу хірургічних захворювань; розробка заходів профілактики хірургічної патології та ефективних методів лікування хворих тварин” № 0111U009819 (2015-2020 pp.); № 0121U109948 (2020-2025 pp.). Дисертант був виконавцем підрозділу “Клініко-експериментальне і теоретичне обґрунтування застосування паліативно-хірургічних методів та таргетної терапії за неоплазій у продуктивних і дрібних домашніх тварин”. Частина досліджень дисертаційної роботи виконувалась в рамках міжнародної Стипендії ім. Prof. Stanislaw Tolpy (17.10.–17.11.2017 pp.) у Вроцлавському природничому університеті (Республіка Польща).

Мета роботи – клініко-експериментально обґрунтувати комплексне лікування собак з мастоцитомою шкіри за використання хірургічного видалення неоплазії, неоад'ювантної, ад'ювантної хіміотерапії та імунотерапії.

Для досягнення мети необхідно було вирішити такі **завдання**:

1) провести моніторинг щодо поширення спонтанних неоплазій у собак в м. Львів та теренах об'єднаної територіальної громади та встановити структуру онкологічних захворювань залежно від нозології, породи, віку і статі;

2) при надходженні онкологічно хворих собак в клініку, поміж неоплазійних уражень шкіри методом тонкоголкової біопсії та цитологічного дослідження ідентифікувати пухлини опасистих клітин, вивчити особливості їх клінічного прояву та встановити клінічну стадію згідно критеріїв Міжнародної клінічної TNM класифікації пухлин;

3) провести патоморфологічні дослідження ексцизійного матеріалу (пухлини, регіонарні ЛВ) та верифікувати мастоцитоми шкіри згідно гістологічної класифікації Kiupel (неоплазії з високим та низьким ступенем злоякісності).

4) за результатами електронно-мікроскопічних досліджень з'ясувати мікро і субмікроскопічну будову мастоцитом з високим та низьким ступенем злоякісності;

5) оцінити клініко-гематологічний статус собак за мастоцитоми шкіри, а також за застосування ад'ювантної хіміотерапії та біотерапії;

6) клініко-експериментально обґрунтувати комплексне лікування мастоцитом собак за хірургічного видалення неоплазії, неоад'ювантної (дексаметазон), ад'ювантної хіміотерапії (за схемою VCD-вінбластин, циклофосфамід, дексаметазон) та імунотерапії (анфлурон - рекомбінантний α - γ -інтерферон, аналог людських α -2a і γ -інтерферонів);

7) оцінити терапевтичну ефективність схеми комплексного лікування та виживаність тварин.

Об'єкт дослідження – собаки з мастоцитомою шкіри.

Предмет дослідження – поширення, патогенез, клініко-інструментальна та лабораторна діагностика мастоцитом шкіри, методи лікування тварин.

Методи дослідження – клінічні (клінічне обстеження собак), інструментальні (рентгенографія, сонографія), гематологічні (кількість еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів, лейкограма, індекс крові), фізичні (гематокрит), біохімічні (вміст загального протеїну, альбумінів, гемоглобіну, загального білірубіну, сечовини, креатиніну, рівень кальцію, неорганічного фосфору), морфологічні дослідження (цитологічні, гістологічні, гістохімічні, електронно мікроскопічні, цитоморфометричний аналіз), статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що теоретично і клініко-експериментально обґрунтовано комплексне лікування собак з пухлинами опасистих клітин (MCTs) за хірургічного видалення пухлин, у поєднанні з неоад'ювантною, ад'ювантною хіміотерапією та імунотерапією.

Вперше у вітчизняній ветеринарній хірургії встановлено поширення та структуру захворюваності собак на мастоцитому шкіри залежно від породи, віку, статі та нозології. З'ясовано, що в географічній популяції України, а зокрема в умовах м. Львова та теренах ОТГ, поміж злоякісних новоутворень шкіри частка пухлин опасистих клітин посідає провідне місце і становить 17,2 %. Найчастіше трапляється у собак породи стафордширський тер'єр, ротвейлер спанієль та французький бульдог. Найвищі показники захворюваності встановлено у тварин віком від 7 до 11 років, медіана захворюваності становила 9,5 роки, мода – 9-10 років. У 73.47 % собак MCTs верифіковано як низько злоякісні і у 26.53 % – високо злоякісні.

Вперше у вітчизняній ветеринарній хірургії за результатами обстеження собак клініко-морфологічну характеристику мастоцитом шкіри подано згідно з міжнародною клінічною системою TNM оцінювання пухлин, а також застосовано дворівневу гістологічну класифікацію неоплазій за Kiupel.

З'ясовано, що ріст та розвиток мастоцитом маскується, зазвичай, алергічно-запальною реакцією та дифузним набряком пухлини і навколишніх тканин, з причини сталої активації та дегрануляції мастоцитів. Це обумовлює

розмаїтність зовнішнього вигляду і симптоматики пухлин. Доведено, що за таких умов недоцільним є отримання біопсійного матеріалу “сліпим” методом тонкоголкової біопсії, оскільки 38 % таких біоптатів є малоінформативними для цитологічної верифікації пухлин, тому виконання такої процедури повинно проводитися прицільно, під контролем сонографії. Доведено також, що постійні подразнення чи травмування пухлин стимулюють їх ріст, а збільшення величини пухлинного вузла корелює з зростанням ступеня злоякісності MCTs.

Вперше у вітчизняній ветеринарній медицині проведено морфологічне вивчення мастоцитом шкіри у собак на тканинному, клітинному та ультраструктурному рівнях. Ультраструктурно встановлено, що в атипових ОК змінена форма ядра, каріолема з численними випинаннями, у багатьох із них присутні одна - дві нуклеоли в ядрі, наявні серед них двоядерні клітини з різними за величиною та формою ядрами, у цитоплазмі переважають дрібні, зі зміненою формою мітохондрії. Використовуючи морфометричні методи дослідження вперше, за низько злоякісної та високо злоякісної MCTs у собак, встановлено параметри об'єму атипової опасистої клітини, об'єму ядра та ядерно-цитоплазматичне відношення. При цьому, встановлено збільшення величини ядра $102,31 \pm 8,79 \text{ мкм}^3$ ($p < 0,05$) та підвищення показника ядерного-цитоплазматичного відношення $0,24 \pm 0,013$ ($p < 0,05$) клітинного пулу ОК за низько диференційованої MCTs, що є підтверджуючою ознакою клітинної атипії та їх малігнізацію.

Вперше обґрунтовано і застосовано мультимодальний підхід в лікуванні собак за мастоцитом шкіри. Запропоновано, після оперативного видалення пухлин та курсу хіміотерапії, використання імуностимулятора (рекомбінантного α - γ -інтерферону). Даний препарат сприяв підвищенню імунного статусу організму собак в післяопераційний період та усував побічну дію цитостатичних препаратів.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що на підставі результатів досліджень патогенетично обґрунтовано мультимодальне лікування собак за мастоцитом шкіри, яке полягає у застосуванні

дексаметазону, шляхом неoad'ювантної терапії, оперативного видалення пухлини та ад'ювантної хіміотерапії за схемою VCD (вінбластин, циклофосфамід, дексаметазон), а також імунотерапії (препарату імуностимулюючої дії – анфлуруну (рекомбінантного α - γ -інтерферону) у випадку мастоцитом високої злоякісності та оперативного видалення пухлин і біотерапії за неоплазій низького ступеня злоякісності, що дозволяє досягти більш якісної ремісії хвороби.

Матеріали дисертації використовуються в навчальному процесі під час вивчення дисципліни “Ветеринарна онкологія”, “Хвороби дрібних тварин,” “Загальна і спеціальна ветеринарна хірургія” і в наукових дослідженнях (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького, Білоцерківський національний аграрний університет, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Державний біотехнологічний університет м. Харків).

Розроблений нами метод лікування є апробованим і використовуються лікарями ветеринарної медицини у приватних ветеринарних клініках (мережа клініки «Соновет», «Клініка доктора Маркевича»).

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною завершеною науковою працею здобувача. Дисертантом самостійно здійснено патентний пошук та аналіз літературних джерел, виконано увесь обсяг клініко-експериментальних і лабораторних досліджень та статистичну обробку отриманих результатів. Морфометричне, гістологічне, гістохімічне, електронно мікроскопічне дослідження проведено в умовах та за технічної допомоги співробітників кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії. Спільно з науковим керівником проведено аналіз та узагальнення отриманих результатів, сформульовані основні висновки роботи. Автором написані всі розділи дисертації, оформлено наукові публікації (використано фактичний матеріал, отриманий автором у процесі виконання роботи).

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на міжнародних та державних

наукових і науково-практичних конференціях: «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині». м. Львів, (29-30 листопада 2018 р); «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти», Одеса (13-14 квітня 2021 р); «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині» присвяченій 140-річчю відкриття навчального закладу "Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові", м. Львів, (18–19 листопада 2021 р.); «Безпечність та якість харчових продуктів у концепції «Єдине здоров'я», м. Львів, (1–2 червня 2023 р.); «Сучасний розвиток ветеринарної медицини: м. Біла Церква (3 жовтня 2024); Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині (до 240-річчя започаткування викладання ветеринарної медицини у Львові). м. Львів (17–18 жовтня 2024 р.). результати досліджень доповідалися, обговорювалися та отримали загальне схвалення на щорічних звітах кафедри хірургії ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького (2016–2024 рр.), науково-технічній раді ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького (2016–2023 рр.),

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 11 наукових праць, зокрема 5 – у виданнях, що належать до переліку наукових видань України: (науковому віснику ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету (1) та у віснику Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького (4), матеріалах і тезах конференції (6).

Структура та обсяг дисертації. Робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Вибір напрямів досліджень, матеріал та методи виконання роботи», 2 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та пропозицій виробництву, списку використаних джерел і 8 додатків. Основний текст дисертації викладено на 153 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 19 таблицями та 50 рисунками. Список використаних джерел містить 208 найменувань, у тому числі – 172 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Поширення хірургічної патології у собак

На основі аналізу літературних джерел як зарубіжних, так і вітчизняних науковців встановлено, що хірургічна патологія у собак посідає вагоме місце у загальній структурі ветеринарної допомоги щодо дрібних домашніх тварин [14, 20, 133, 146, 165, 172]. Хірургічні хвороби тварин досить поширені та становлять 25–30 % усієї незаразної патології. У собак хірургічну патологію реєструють у 45–60 %. Важливе місце серед хірургічної патології у собак займають травми та онкологічні захворювання [12, 15, 21].

За результатами моніторингу хірургічної патології серед дрібних свійських тварин в умовах великого міста переважають рани (9 %), флегмони (7 %), суглобова патологія (6,9 %), абсцеси (6,5 %) та переломи (5,7 %) [28].

Причиною травматизму у більшості випадків є непристосованість тварин до навколишніх умов, що виявляється під час їх виходу, відсутністю намордників на собаках та прояв надмірного темпераменту тваринами під час прогулянок. За результатами досліджень встановлено, що травматизм становить майже 50 % від усіх випадків хірургічної патології [10, 13].

Кістковий травматизм досягає 80 % від загальної кількості хірургічних захворювань. У структурі ортопедичної патології собак переломи довгих трубчастих кісток складають близько 32 %, серед яких переважно реєструють ураження стегнової кістки [43]. Згідно опублікованих статистичних даних, частіше реєструють пошкодження верхніх відділів скелету, зокрема, тазових, стегнових кісток, порівняно із дистальним відділом кінцівок [44]. Високий відсоток переломів кісток пов'язаний із дорожньотранспортними пригодами. Такі випадки характеризуються політравмою, значним ураженням як щільних, так і м'яких тканин із порушенням кровопостачання та іннервації, що подовжує перебіг репаративної регенерації і підвищує ймовірність післяопераційних ускладнень [3, 4].

Згідно даних Гердева А.О. серед хірургічної патології у собак абдомінальна хірургічна патологія займає майже 13 %, серед якої найбільш поширеними є грижі, непрохідність кишечника та завороти шлунку. Вагоме місце також займають хірургічні хвороби статевих органів (орхіти, крипторхізм, піометри), хвороби шкіри (дерматити, піодерміти, екземи) та новоутворення (добро - та злоякісні) [8].

За даними проведеного моніторингу в м. Полтава стоматологічні захворювання було діагностовано у 310 собак (21,11 %). Серед них найчастіше діагностували гінгівіт (у 138 собак), пародонтит (у 64 собак), аномалію зубного прикусу (персистенція молочних зубів) – 57 собак, пародонтоз (у 27 собак), у 24 собак карієс [26]. Значне поширення захворювань ротової порожнини обумовлене багатьма чинниками, зокрема, низьким рівнем ветеринарно-стоматологічної допомоги, годівлі тварин не властивими для них продуктами (їжа зі столу господаря із значним вмістом цукру та солі), низькою якістю кормів. На першому місці за поширенням хвороб ротової порожнини знаходяться дрібні породи собак, де відповідно вони становлять 70–85 % тварин. Рідше хвороби ротової порожнини зустрічаються у середніх порід (65–70% випадків) та у великих – близько 45–50 % [14, 26].

Останнім часом у практиці ветеринарної медицини стали частіше зустрічатися різні пухлини шкірного покриву. Вони займають провідне місце серед пухлин інших органів. Зростання числа даної патології можливо обумовлено підвищенням сонячної радіації, погіршенням екологічної ситуації в країні, захворюваннями імунної та ендокринної систем, а також місцевими травмами шкіри [22]. Пухлини шкіри відносять до числа пухлин з тривалим латентним перебігом.

Найбільш часто у собак зустрічаються пухлини молочної залози, де відповідно вони становлять 35–40 % від загальної кількості неоплазій. За частотою виникнення пухлини молочної залози конкурують тільки з пухлинами шкіри і м'яких тканин [10].

Пухлини шкіри та підшкірної клітковини, статевих органів посідають по частоті виникнення відповідно друге (21 %) і третє (13 %) місце. Спонтанні новоутворення у структурі хірургічної патології собак складають 8–18 %, серед яких ураження шкіри реєструють у 25 %, молочної залози у 25–30 %, скелета – 3,9–5,8%, репродуктивної системи – 5–15 % та лімфоми – у 3% випадків [14].

Меланоцитарні пухлини відносно поширені у собак; вони складають 4 % шкірних пухлин [81] і являють собою одне з найпоширеніших оральних злоякісних новоутворень у собаки [52]. Описані також очний та підгострий варіанти [185]. Шкірні та очні пухлини, як правило, доброякісні, але пухлини повік і нігтьового ложа (піднебінної) зазвичай є злоякісними. Шкірна меланома зустрічається частіше у собак з сильно пігментованою шкірою, при підвищеному ризику шнауцерів (як мініатюрних, так і стандартних) та шотландських тер'єрів [81].

За статистикою пухлини шкіри та підшкірної клітковини зустрічаються у собак частіше порівняно з іншими новоутвореннями. Очевидними причинами цього є можливість їх простого виявлення при зовнішньому огляді та схильності шкіри до впливу різних зовнішніх онкогенних факторів навколишнього середовища. Розрізняють доброякісні та злоякісні пухлини, які можуть проявлятися у вигляді припухлості, патологічних виростів, висипу, виразок, пігментованих плям. Ці новоутворення негативно впливають на життєдіяльність собаки і її естетичні властивості [65].

Мастоцитома (mast cell tumor) - поширене новоутворення шкіри у собак. Свою назву вона отримала за типом клітин, з яких утворюється – мастоцитів, які являють собою овальні або круглі клітини мезенхімальної природи діаметром 10-13 мкм з секреторними гранулами в цитоплазмі. Їх попередники утворюються в кістковому мозку і мігрують через стінки судин в тканині, де проходить їх диференціювання. Фінальне дозрівання відбувається в сполучних тканинах. Мастоцити виявляються практично у всіх тканинах організму, але найбільша їх концентрація є в місцях контакту з зовнішнім середовищем (шкіра, дихальні шляхи, кишечник). Важливою функцією цих клітин є участь в

адаптивному імунітеті. Мастоцити несуть на своїй поверхні мембранно-зв'язані антитіла – імуноглобуліни класу Е, які виділяються плазматичними клітинами під дією антигенів [12].

Згідно проведеного моніторингу пухлинних захворювань дрібних тварин [23] встановлено, що з пухлин епітеліальної тканини найчастіше зустрічалися базаліоми – їх відсоток серед пухлин шкіри у собак становив 9%. Плоскоклітинний рак шкіри складав у собак 4 %, на новоутворення шкіри, які поражають сальні залози припадало 8 %. Щодо пухлин шкіри сполучнотканинного походження у собак зустрічається мастоцитома (10–20 %), а також гістіоцитома (10–30 %).

Як показує статистичний аналіз, який був проведений Касянчиком О.М. на клініках кафедри хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С. З. Гжицького, новоутворення органів і тканин у собак характеризувалися певною природною вразливістю. Так, із 302 онкологічно хворих собак 43 (14,2 %) тварини були метисами та безпородними і 259 (85,8%) – породистими. Особливо найбільша кількість тварин із неоплазіями припадала на пуделів – 26 собак (8,6 %), спанієлів – 25 (8,3 %), німецьких вівчарок і стаффордських тер'єрів по 20 (6,6 %) собак, боксерів і доберманів по 19 (6,3%) та ротвейлерів, відповідно 18 (6 %) [17]. Дослідження динаміки та частоти прояву злоякісних і доброякісних пухлин залежно від віку тварин показали, що у молодих собак віком до 2 років онкологічні захворювання характеризувалися доброякісним перебігом патології. Серед собак старших вікових груп перевагу в 1,5 – 2,1 рази мали злоякісні пухлини [17].

Згідно даних досліджень Аліфонова К.В. і Гавриліна О.Г. базальноклітинний рак у собак займає перше місце за поширенням. На нього припадає близько 20% від всіх пухлин шкіри. Найпоширенішими були дві форми базальноклітинного раку: солідна (52 %) та стрічкоподібна (36 %) форми. На всі інші форми припадає лише 12 %. Також слід відзначити, що переважна кількість собак (71 %), які захворіли на базальноклітинний рак, перебували у віці 7–9 років та встановлена була статева схильність, а саме у 65% випадків хворіли кобелі [1].

Для собак характерні такі неоплазії, які не зустрічаються у інших видів тварин, а саме трансмісивна венерична пухлина генітальної та шкірної форми у собак обох статей, а також карциноми параанальних залоз у псів [24].

Загальновідомо, що існують відмінності між породами собак та їх ризиком розвитку певних типів раку, але є маломасштабні епідеміологічні дослідження захворюваності на різні види раку серед собак, які підтверджують різницю між породами. Породи з найбільшою пропорційною смертністю від раку в дослідженні Kennel Club/BSAVA включали наступне, у порядку спадання: ірландський водний спанієль, ретривер з плоским покриттям, угорський дротяний візла, бернський гірський собака, ротвейлер, італійський спінон, леонбергер, стаффордширський тер'єр, валійський тер'єр і гігантський шнауцер [36].

У дослідженні причин смерті застрахованих собак у Швеції Bonnett та ін. [49] з'ясували, що бернський гірський собака, ірландський вовкодав, ретривер з плоским покриттям, боксер та Сен-Бернар – це п'ять порід собак з найбільшою смертністю пов'язаних з пухлинами. Бернські гірські собаки, ретривери з плоским покриттям, золотистий ретривер та ротвейлери були в топ-5 порід із смертністю понад 20 % від раку в Данії [168].

Таким чином, хірургічна патологія у собак значно поширена і потребує постійного моніторингу, вивчення та систематизації.

1.2. Роль зовнішніх та внутрішніх чинників у розвитку пухлин.

Фактори зовнішнього й внутрішнього середовища, що можуть бути причинами виникнення пухлин і сприяти їх розвитку, називаються канцерогенними. Питання про причини виникнення неоплазій у тварин є найскладнішим в сучасній ветеринарній онкології. Ось чому було запропоновано так багато різних теорій щодо етіології розвитку пухлин. Багатьма науковцями були розроблені декілька теорій канцерогенезу. Найбільш розповсюдженою теорією розвитку пухлин вважають теорію подразнення Вірхова. Одним з основних її положень було те, що причиною розвитку пухлин є хронічна дія на тканину фізико-хімічних подразників, а саме: – дія іонізуючої радіації, різні види травм, дія хімічних речовин органічного, неорганічного та біологічного походження. Даний подразник, що викликає пухлини, спричиняє повторні пошкодження, запалення і регенерацію тканин організму тварин [25, 30, 34].

Згідно ембріональної теорії (теорія Конгейма) одні клітини ембріонального організму підлягають діленню та перетворюються у нормальні тканини і органи, а інші групи клітин у зародкових зачатках залишаються у стані спокою – дрімаючий стан. Коли зародок досягає свого повного розвитку відчепившись, ембріональні зачатки можуть залишатися латентними і себе не проявляти, але вони у собі зберігають в потенційному виді усю невикористану енергію росту, яка може проявитися у будь-який момент, під впливом будь якої причини. Клітини тоді розмножуються і виробляють молоді, ембріональні, менш диференційні (ніж тканини нормальної тканини), кліткові елементи, сума яких і є пухлиною [17, 34].

Згідно теорії хімічного канцерогенезу розвиток раку у тварин супроводжується впливом хімічних речовин. Їх розподіляють на ініціатори та промотори неоплазій. Перші ініціюють розвиток раку, а другі є умовні, тобто діють на різних фазах, що сприяють розвитку злоякісних новоутворень. Нині експериментально доведено канцерогенність понад 1000 хімічних сполук. Їх поділяють на проканцерогени (становлять абсолютну більшість) і прямі

канцерогени. Проканцерогени перетворюються у прямі канцерогени тільки після метаболічних перетворень, які каталізуються тканинними ферментами [17, 34]. За здатністю хімічних канцерогенів взаємодіяти з ДНК їх поділяють на дві великі групи: 1) генотоксичні; 2) епігенетичні. До генотоксичних канцерогенів відносять поліциклічні ароматичні вуглеводні, нітрозосполуки, ароматичні аміни тощо. До другої групи відносять хлорорганічні сполуки, імунодепресанти та ін., введення яких викликає розвиток пухлин [17, 34]

Згідно поліетіологічної теорії будь-які фактори – фізичні, хімічні, біологічні та інші, впливаючи на генетичний апарат клітини викликають мутацію – перетворення нормальних клітин у пухлинні. До фізичних канцерогенів відносять три групи чинників: сонячну, космічну і ультрафіолетову радіацію, іонізуючу радіацію та радіоактивні речовини [14, 15].

Вплив сонячного ультрафіолетового випромінювання є основною причиною немеланомних ракових захворювань шкіри, які, безумовно, є найпоширенішими злоякісними новоутвореннями. При низьких дозах клітини швидко відновлюють пошкодження. При помірних і високих дозах клітини можуть бути змінені назавжди або загинути від їх неможливості відновити пошкодження. Ці змінені клітини можуть стати раковими або призвести до інших відхилень (наприклад, вроджених вад) [69].

Варто зауважити, що пухлини шкіри та кісток утворюються у результаті місцевого опромінення, а лейкози та гормональні пухлини – внаслідок тотального опромінення. Естроген і прогестин – це гормони, які можуть підвищувати ризик раку молочної залози та матки. Стероїдні гормони можуть індукувати експресію генів у ядрі ракових клітин, що призводить до зниження вироблення гормонів та подальшого зупинки росту клітин [194].

Механізми невластивих факторів ризику, які, як вважають, спричиняють рак, багатогранні. Деякі належать до сімейства хімічних речовин, які індукують нові мутації (мутагени), а інші, такі як віруси, індукують рак за допомогою активації або пригнічення ключових генів, що модулюють рак (активація онкогенів або інгібування генів-супресорів пухлини) на додаток до індукування

мутацій. Принаймні, у випадку з мутагенами вони діють на клітинах, які можуть ділитися та зберігатись, щоб полегшити розвиток пухлини [192].

Згідно теорії Зільбера (вірусна теорія) пухлини викликаються екзогенними та ендогенними вірусами (онковіруси або онкогенні віруси). ДНК чи РНК екзогенних вірусів вбудовується в геном клітини, що призводить до її трансформації в пухлинну клітину. Ендогенні віруси входять до складу нормального геному клітини у вигляді окремих генів, які активізуються тільки за певних умов під дією різних зовнішніх і внутрішніх чинників. Інтегрувавшись у геном клітини, вірус, який несе «чистий» онкоген під автономною вірусною регуляцією, забезпечує безперервний синтез білка, призначеного стимулювати проліферацію всупереч усім клітинним регуляторам. Вірусні ракові захворювання, як і всі захворювання, є багатофакторними, і існують лише рідкісні приклади чіткої відповідності 1 до 1 між вірусною інфекцією та неоплазією [145].

Згідно паразитарної теорії бластомогенезу, виникнення пухлин в організмі тварин супроводжується наявністю в тканинах тварин паразитів, особливо це вивчено при опісторхозі у собак [14].

Згідно теорій генетичних мутацій пухлини виникають у результаті порушення в геномі, зумовлені спадковістю, спонтанними мутаціями або дією зовнішніх агентів. Пухлинна трансформація відбувається у результаті активації специфічних послідовностей ДНК. Мутації контролюють процеси проліферації, а специфічність пухлини зумовлена епігенетичними змінами. Пухлини з однаковим гістологічним діагнозом у різних хворих різняться одна від одної за типом і набором РНК, що синтезуються, чим і зумовлена їх індивідуальність і гетерогенність. Це – основна проблема у лікуванні пухлин. Спадковість інактиваційних мутацій в генах-супресорах пухлин може опосередковано спричиняти значне збільшення частоти виникнення мутацій в онкогенах і антионкогенах, прискорювати злоякісну трансформацію клітин [24, 31].

Генетичні мутації у чотирьох групах генів (онкогени, гени-супресори пухлин, гени апоптозу та гени, що відновлюють ДНК) відіграють життєво

важливу роль у зміні нормального поділу клітин [163]. Генетичні мутації включають інактивацію генів-супресорів пухлини та активацію онкогенів. Порівняно з онкологічними захворюваннями, що виникають у широкій популяції, люди та тварини з основною спадковою схильністю до раку народжуються з успадкованими (зародковими) мутаціями в генах, що беруть участь у раковій причині, що дає їм початок на шляху до розвитку неоплазії [157].

Генетична схильність до аутосомно-домінантного типу створює високий відносний ризик для одного або декількох видів раку. За останнє десятиліття було клоновано понад 30 мутантних генів для таких спадкових ракових захворювань. Гени, пов'язані з утворенням раку людини, включають чотири класи генів: 1. Гени-супресори пухлин, 2. Прото-онкогени, 3. Гени відновлення невідповідності ДНК, 4. Апоптотичні гени. До 93 % усіх онкологічних захворювань людини не є спадковими, що спричинено взаємодією з чинниками навколишнього середовища [180]. Як і у випадку помилок реплікації, епігенетичні зміни (наприклад, метилювання ДНК) передаються дочірнім клітинам як хімічні зміни ДНК, що не ґрунтуються на послідовності. Є переконливі докази того, що епігенетичні зміни не тільки відбуваються під час розвитку пухлини, але й відіграють пряму причинну роль [64].

Модель Ханахана і Вайнберга фокусується на характерних подіях на клітинному рівні, що призводять до злоякісної пухлини. У цій моделі ознаками раку є стійкий ангиогенез, необмежена реплікація, ухилення від апоптозу, самодостатність сигналів росту та нечутливість до сигналів росту, що призводить до визначальних характеристик злоякісних пухлин, надаючи їм можливість вторгнення та метастазування. Ця теорія ґрунтується на подвійній передумові, що канцерогенез визначається дефектами в організації тканин і що всі клітини за своєю суттю перебувають у проліферативному стані [46].

Мутаген - біологічний, фізичний або хімічний канцерогенний агент, здатний змінювати генетичний склад клітини. Кілька генетичних мутацій можуть змінити нормальну клітину на злоякісну. Деякі мутації викликаються спонтанно під час репарації клітин, реплікації та рекомбінації [114].

Внутрішній ризик, що не змінюється, відноситься до неминучих спонтанних мутацій, які виникають в результаті випадкових помилок реплікації ДНК, пов'язаних як характеристика буття людини. Ці неминучі помилки обробки реплікації ДНК трапляються у різних організмів з різною швидкістю як видова специфічна швидкість помилок реплікації. Внутрішній ризик виникає внаслідок базальної швидкості мутації, що діє у всіх діючих клітинах, за відсутності будь-яких невластивих факторів. Проходження або фіксація випадково набутих мутацій (наприклад, поодинокі нуклеотидні помилки, делеції та вставки) в тканини залежить від виживання та поділу мутованої клітини та її потомства. Ці мутації можуть спричинити «мутації драйверів», необхідні для розвитку раку, на відміну від «мутацій пасажирів», які не впливають на формування раку, але зустрічаються зазвичай у ракових захворювань. Потреба у мутації декількох драйверів для ініціювання раку збільшує бар'єр для розвитку раку лише за допомогою внутрішніх механізмів [199].

Встановлено, що співвідношення стовбурових клітин і ризик раку не відрізняє функціонування внутрішніх від невластивих факторів і навпаки, оскільки багато невластивих факторів викликають власні мутації та ймовірність індукції та поширення цих мутацій також корелює з поділами тканинних клітин [198]. Таким чином, тканини зі значно більшим поділом клітин сприйнятливі до вищих внутрішніх мутацій, а також до більш високих мутацій, викликаних зовнішніми факторами. Цей висновок був підтверджений в недавньому аналізі [156]. Підсилюючи складність факторів ризику раку, в дослідженні [102] виявили сильнішу кореляцію між рівнем тканин метилювання ДНК та навантаженням на рак. Ця кореляція зберігалася навіть після виправлення внеску стовбурових клітин, тоді як зворотна не мала місце. Ці автори дійшли висновку про епігенетичні зміни, на які можуть впливати екзогенні та ендогенні фактори, і не тільки мутації сприяють ризику раку з аналогічною залежністю від кількості клітинних поділів у тканині. Таким чином, хоча ці *кореляційні* дослідження підтримують загальний поділ тканинних клітин у

спостережуваній різниці між ризиками раку, специфічних для тканин, ця асоціація є корелятивною і пояснює лише частину цього ризику.

Moolgavkar-Venzon-Knudson (MVK) розробили широко використовувану модель клонального розширення, засновану на двох послідовних гіпотезах про мутацію (ініціатор та промотор), в яких вони допускали можливість того, що після першої мутації виживають лише деякі клітини, і що клітини ростуть з різною швидкістю [144].

Імунна система та запалення відіграють важливу роль в етіології раку. Багато типів раку неправомірно застосовують фізіологічні механізми імунної контрольної точки для ухилення від опосередкованого імунітетом розпізнавання та руйнування. Згідно теорії відмови імунного нагляду розвиток пухлини відбувається у результаті імунодефіцитного стану організму тварин [5, 17, 20].

Також слід відзначити про фактори доместифікації – за І.В. Давидовським, а саме вплив доместифікаційних чинників на канцерогенез, фактори годівлі та утримання. Науковцями встановлено, що у доместифікованих мишей набагато легше викликати пухлину, ніж у польових мишей. Доместифіковані тварини піддаються дії канцерогенів значно більше, ніж тварини на волі. У факторі доместифікації велике значення також має експлуатаційний момент, а саме ступінь напруження функціональних систем, який визначається господарськими потребами [14].

Забруднення повітря та води – це результати біологічних, біохімічних та атмосферних частинок, які завдають шкоди для нашого життєвого середовища. Забруднення повітря є важливим фактором ризику респіраторних інфекцій, серцевих захворювань та раку легенів. Основною причиною забруднення повітря є тверді частинки, пошкоджений озон, діоксид азоту, діоксид сірки, вуглекислий газ, оксид вуглецю, аміак, радіоактивний розпад газу радону, метану, вуглеводнів [14].

Старіння вважається одним із найбільш значущих факторів ризику раку [61]. Однак важливо визнати, що старіння можна визначити хронологічно чи біологічно. Хронологічне старіння сприяє розвитку раку, забезпечуючи час для

внутрішнього ризику, а також для екзогенних та ендогенних факторів, включаючи мутагени, щоб здійснити їх вплив. Навпаки, процеси біологічного старіння важче визначити або кількісно оцінити, оскільки їх повний спектр не повністю вивчений. Вважається, що сильна позитивна асоціація старіння з раком відображає узагальнене зниження функцій клітинної та молекулярної системи як ендогенного ризику [121].

У гуманній та ветеринарній медицині найбільш поширенішими є так звані «спонтанні» пухлини невстановленої етіології, які виникають поза явною залежністю від вірусних або інших зовнішніх онкогенних факторів. В основі виникнення пухлин лежить пухлинна трансформація. Саме тому пухлинні клітини розглядаються як генетично змінені. Етіологія остеосаркоми, ймовірно, багатфакторна; схильність до розвитку пухлини в метафізарній ділянці довгих кісток, особливо дистального променевого і проксимального відділу плечової кістки, співвідноситься з переносом ваги та швидким ростом кісток під час раннього розвитку разом із кістковим навантаженням через перенесення ваги причетна до етіології цих пухлин [172].

Здатність до інвазії та метастазування є кардинальною властивістю злоякісних неоплазій. Класична концепція метастазування передбачає існування певної послідовності подій, а саме наявності першого кола розповсюдження раку – від первинної пухлини до регіонарних лімфатичних вузлів. Після виснаження захисних функцій останніх настає друге коло метастазування – розсіювання ракових клітин у віддалених органах. Компоненти екстрацелюлярного матриксу одночасно з клітинами, що їх продукують, приймають участь у формуванні пухлинної мікро- екосистеми, яка через специфічні рецептори та внутрішньоклітинні сигнальні шляхи в свою чергу впливає на стан геному ракової клітини, зумовлюючи його нестабільність та схильність до мутацій [19].

Розвиток пухлин пов'язують також із станом гіперкоагуляцій, розвитком різних типів тромбоемболій, які вказують про очевидну кореляцію ступеня злоякісності пухлини і наявності тромботичних ускладнень [80].

1.3. Основні принципи діагностики пухлин у собак

В останні роки спостерігається зростання онкологічних захворювань дрібних тварин. Важливим завданням ветеринарної онкології є своєчасна діагностика злоякісних пухлин, що дає можливість провести радикальне лікування. Причини виникнення онкологічних захворювань до кінця не вивчені не тільки у ветеринарній медицині, а й у гуманній. Багато новоутворень можуть тривалий час бути непоміченими і, в результаті, значно погіршувати стан здоров'я тварини. Від своєчасної діагностики новоутворень залежить не тільки передбачуваний спосіб лікування, але і його результативність.

При першому огляді собак, щоб оцінити поширення пухлини в інші органи чи тканини та отримати необхідну інформацію про загальний стан пацієнта і його здатності перенести лікування проводиться наступне обстеження: аналіз крові (повний клінічний і біохімічний); аналіз сечі; візуальна діагностика (рентгенівське дослідження); відбір проб уражених тканин за допомогою пункції або біопсії [13, 25].

При діагностиці пухлин у першу чергу необхідно зібрати анамнез та з'ясувати час появи пухлини, швидкість її росту. Обстеження ураженої області потрібно починати з огляду, де часто вдається виявити припухлість, асиметрію та ряд інших симптомів, які є характерними для різних неоплазій (пухлини шкіри, м'яких тканин і ін.). При пальпації пухлини у собак можна отримати цінні відомості: межі, консистенцію, флюктуацію, болючість і підвищення місцевої температури тіла. Перкусію та аускультацию застосовують в плані загального клінічного обстеження тварини з пухлиною [17, 24].

Одним із напрямків сучасної діагностики онкологічних захворювань у тварин, який швидко розвивається, являється визначення онкомаркерів за допомогою лабораторних тестів. Онкомаркери – це речовини, наявність яких в організмі тварин пов'язана з присутністю чи прогресуванням пухлини. Онкомаркери використовують як один із методів комплексної діагностики онкологічних захворювань [149, 150].

Основними методами діагностики пухлин головного мозку на сьогодні є магнітно-резонансна томографія (МРТ), комп'ютерна томографія (КТ), позитронна емісійна томографія (ПЕТ) [151].

Стандартним методом дослідження, що проводиться при підозрі на пухлину головного мозку є магнітно-резонансна томографія. Це томографічний метод дослідження внутрішніх органів і тканин за допомогою використання фізичного явища ядерно-магнітного резонансу. Метод базується на вимірюванні електромагнітного відклику ядер атомів водню у відповідь на збудження їх визначеною комбінацією електромагнітних хвиль у постійному магнітному полі високої напруги [35].

Мастоцитоми є найбільш поширеним типом пухлин шкіри у собак. За даними ряду авторів – 20-25 % всіх новоутворень шкіри належить саме мастоцитомам. Прояв даного новоутворення є вкрай різноманітним і неоднозначним. Пухлина може бути розміром з невеликий вузлик або об'ємне утворення, причому вирости до величезних розмірів вони можуть поступово або за короткий проміжок часу. Мастоцитоми схожі з безліччю шкірних захворювань і часто власники тварин не підозрюють про наявність серйозної патології у свого вихованця. Тому при будь-яких ураженнях шкіри з відповідним анамнезом необхідно проводити цитологічне дослідження [98, 153]. Найчастіше мастоцитоми проявляються у вигляді одиничного безволосого м'якого наросту, схильного до ерозії, що викликає свербіж, провокуючи тварина до розчісування цієї ділянки шкіри. Зовні таке новоутворення схоже з ліпомою, що наштовхує на необхідність ретельної діагностики. Для мастоцитом також характерна наявність множинних пухлинних клітин, відокремлених від основної маси [153].

Власне, діагноз мастоцитом встановлюється на підставі морфологічного дослідження первинного вогнища, діагностики паренхіматозних органів регіонарного лімфатичного вузла, дослідження периферичної крові і кісткового мозку [98]. У тих випадках, коли мастоцитома має високодиференційовану гістологічну будову, вона повільно росте і не заподіює занепокоєння ні собаці, ні її власнику. Але у випадках розвитку

пухлини з низьким рівнем диференціації можуть з'явитися такі симптоми, як: запалення в місці локалізації пухлини; ерозія шкіри; явно виражений свербіж; набряк; еритема (почервоніння); системні реакції, наприклад, виразка шлунка, що виникає у відповідь на стимуляцію рецепторів гістаміну; істотні зміни складу циркулюючої крові [151].

Діагностика мастоцитоми спрямована на виявлення утворення, диференціацію пухлини і виявлення метастазів. Оскільки мастоцитоми зовні можуть нагадувати ліпоми або алергічні реакції шкірного покриву, диференціювання їх на підставі тільки зовнішнього огляду є недостовірним.

При диференціальній діагностиці пухлин шкіри важливу роль останнім часом відводиться методу епілюмінесцентної мікроскопії. Він заснований на застосуванні дерматоскопу – оптичної системи (з 10-30-кратним збільшенням) з вбудованим підсвічуванням - і використанні імерсійного масла, що дозволяє проводити огляд усіх шарів епідермісу і дерми і розпізнати *in vivo* найдрібніші структури епідермісу і сосочкового шару дерми, які неможливо розрізнити неозброєним оком [7]. Хоча існуючі дерматоскопічні ознаки малігнізації пігментних утворень не позбавлені моментів суб'єктивної оцінки, впровадження цифрових комп'ютерних технологій, порівняння отриманих зображень з гістологічно доведеними випадками архівної бази даних дозволяють істотно підвищити точність діагностики (до 90 %).

Для проведення діагностики необхідно провести тонкогілкову біопсію новоутворення, приготувати мазок, зафарбувати його і провести експертизу. Ця процедура практично безболісна для пацієнта і інформативна для лікаря [13].

Критеріями для визначення мастоцитоми будуть виявлення в полі зору великої кількості мастоцитів, проте їх можна зустріти в мазку і при нормі, особливо при алергічних реакціях. Потрібно пам'ятати, що дегрануляція мастоцитів може відбуватися під час пальпації пухлини або при виготовленні препарату, це може нашкодити на неправильну оцінку процесу [13].

Наступним кроком після постановки діагнозу є визначення ступеня диференціювання пухлини, використовуючи гістологічне дослідження. Ступінь

диференціації, як правило, корелює з клінічним поведінкою пухлини, можливістю її рецидивування, швидкості росту і метастазування, а, отже, і виживання пацієнта. Від неї залежить вибір підходу до лікування і якість майбутньої терапії. Гістологічна диференціація використовується найчастіше після видалення пухлини та служить для визначення диференціювання пухлинних клітин, що у подальшому дасть зрозуміти, чи варто використовувати в конкретному випадку додаткове лікування, наприклад, хіміотерапію [12, 27].

Загальний аналіз крові дозволяє оцінити загальний стан собаки, можливу реакцію на анестезію, хіміотерапію, ознаки поширення онкології. Аспіраційна біопсія лімфатичних вузлів дозволяє виявити метастази. Варто пам'ятати про можливість нормальної гіперплазії лімфатичних вузлів. Ультразвукова діагностика черевної порожнини і біопсія селезінки та печінки дозволяє перевірити наявність метастазів і ступінь їх поширеності при виявленні новоутворення [2, 13, 18].

Біопсія кісткового мозку дозволяє перевірити поширення процесу на кістковий мозок. Проводиться при виявленні ознак патології кровотворної функції кісткового мозку [13, 32].

Ще одна ланка в діагностиці мастоцитом пов'язана з генетичною схильністю деяких порід собак до розвитку цієї пухлини. Бостон тер'єри, боксери, лабрадори, стаффордширські тер'єри мають породну схильність до даного захворювання.

Морфологічна діагностика новоутворень шкіри в даний час є «золотим стандартом» верифікації новоутворень шкіри, оскільки більшість з останніх має специфічну гістологічну картину. Існує кілька методичних прийомів отримання матеріалу для подальшого цитоморфологічного дослідження. Це мазок-відбиток або зішкріб з поверхні пухлини, а при відсутності виразки або дефектів поверхневих шарів новоутворення - здійснення делікатної методично правильної тонкоголкової біопсії пухлини [5, 13].

Крім того, існує багато різних діагностичних тестових систем, таких як «Імідж-аналіз», заснованої на реєстрації за допомогою відеокамери клінічних

симптомів певного шкірного утворення з подальшою комп'ютерною обробкою цієї інформації з використанням бази даних, що міститься в програмі [50].

Сучасні дослідження вказують на зв'язок мутацій в юкстамембранному домені гена *c-kit* з розвитком агресивних мастоцитом і ступенем проліферації мастоцитів. Такі мутації були виявлені у 20-30 % собак з низкодиференційованими мастоцитомами. Тести на виявлення мутації проводяться за допомогою ПЛР діагностики.

1.4. Етіологія, патогенез, діагностика за мастоцитоми собак

Мастоцитома (Mast cell tumors, MCT, Mastocytoma) – неоплазійне захворювання різних видів тварин та людини обумовлене надмірною проліферацією мастоцитів - клітин мезенхімального походження, так званих mast cell (MC), син.: лаброцитів, тучних (ТК), опасистих клітин (ОК). Загальновідомо, що мастоцити є одними з основних клітинних форм, які регулюють в організмі ссавців гомеостаз сполучної тканини та виконують захисну функцію формування природженого імунітету. Зазвичай, висока концентрація цих клітин акумулюється навколо кровоносних і лімфатичних судин у тканинах, що мають постійний контакт із чинниками зовнішнього середовища, зокрема, в шкірі, слизових оболонках дихальних шляхів та шлунково–кишкового каналу. Відомо також, що мастоцити належать до високоактивних тканинних елементів здатних продукувати цілу низку біологічно активних речовин і медіаторів (гістамін, гепарин, серотонін, хондроїтинсульфати, гіауронова кислота, протеази, глікопротеїни, фактор некрозу пухлин- α (TNF- α), хемотаксичний фактор міграції еозинофілів, інтерлейкіни (IL) 1, -2, -3, -4, -5, -6 та ін.) та депонувати їх у гранулах цитоплазми. Окрім цього на своїй поверхні ОК містять специфічні IgE-антитіла, відповідальні за розвиток алергічних реакцій. Водночас, активація та дегрануляція мастоцитів супроводжується вивільненням біологічно активних речовин, що відіграє одну із провідних ролей в ініціюванні та перебігу як фізіологічних, так і патологічних процесів. Результати сучасних наукових

досліджень [37, 40, 93] засвідчують, що синдром активації мастоцитів (САМ), є досить поширеним розладом у патогенезі як для дуже рідкісних, так і поширених захворювань. При цьому відмічено, що кількість ОК суттєво збільшується при імунних реакціях і запаленні. Відповідно до сучасного трактування у гуманній медицині [37, 38] САМ, обумовлений вивільненням медіаторів з активованих мастоцитів, об'єднує гетерогенну групу захворювань, які характеризуються клінічними ознаками ураження шкіри, слизових оболонок шлунково-кишкового тракту і дихальних шляхів, органів серцево-судинної та нервової систем, у тому числі й системними реакціями, зокрема, алергією та анафілаксією. Як свідчить аналіз літературних повідомлень [188, 195] перебіг захворювань, за безпосередньої участі активованих ОК, у людини та в тварин має певні відмінності. За даними медичної літератури [85, 112, 162] на мастоцитоз частіше хворіють діти у яких хвороба перебігає у шкірній формі (зазвичай, як пігментна кропив'янка, рідше солітарна мастоцитома) і при досягненні пубертатного віку хвороба, як правило, регресує. Водночас, серед дорослих доброякісні форми мастоцитозу трапляються рідко. Як правило, дорослі, незалежно від статі, хворіють системним мастоцитозом, який проявляється ураженням не лише шкіри, а й кісткового мозку, печінки, слезінки та інших органів, при цьому хвороба має надзвичайно агресивний перебіг, несприятливий прогноз та короткий період виживаності за лікування. Згідно повідомлень вище вказаних дослідників значна варіабільність мастоцитозу на сьогодні створює труднощі як за встановлення діагнозу та ідентифікації хвороби, так і при призначенні адекватного лікування.

На підставі даних багаторічного вивчення мастоцитозу за ініціативи Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) у 2016 році сформовано клінічну класифікацію [89, 191], відповідно до якої асигнують шкірний мастоцитоз, системний мастоцитоз та локалізовані пухлини ОК. За деталізації класифікаційної характеристики захворювання, зокрема, за шкірного мастоцитозу (Cutaneous mastocytosis (CM)), виділяють три підтипи: пігментну кропив'янку (Urticaria pigmentosa (UP)) або макуло-папульозний мастоцитоз ((Maculo-papular cutaneous mastocytosis (MPCM)) – мономорфний та

поліморфний тип, дифузний шкірний мастоцитоз (Diffuse cutaneous mastocytosis (DCM)) та солітарну мастоцитому шкіри (Solitary mastocytoma of skin (SMS)). При системному мастоцитозі (Systemic mastocytosis (SM)) виокремлюють: індолентний (уповільнений) системний мастоцитоз (Indolent systemic mastocytosis (ISM)), системний мастоцитоз, асоційований з гематологічним захворюванням (не з опасистих клітин) (Systemic mastocytosis with associated clonal haematological non-mast cell lineage diseases (SM-AHNMD)), агресивний системний мастоцитоз (Aggressive systemic mastocytosis (ASM)), лейкемія з опасистих клітин (Mast cells leukemia (MCL)), саркома опасистих клітин (Mast cells sarcoma (MCS)), позашкірна мастоцитома (Extracutaneous mastocytoma (ECM)). Відповідно до чинної класифікації клінічний перебіг захворювання дуже варіабельний, що обумовлює потребу наукового пошуку як новітніх діагностичних маркерів, так і розробки нових удосконалених лікувальних заходів. Безперечно, на сьогодні мастоцитоз і, зокрема, гетерогенні пухлинні та системні прояви хвороби залишається однією із актуальних проблем не лише сучасної гуманної медицини, а й ветеринарії.

Згідно повідомлень дослідників, які працюють в галузі ветеринарної онкології [47, 77, 82, 83, 98, 125, 142, 182, 183], найбільш поширеною пухлиною шкіри в собак на сьогодні визнано мастоцитому. Відомо, що пухлинні ураження опасистих (тучних) клітин трапляються в тварин різних видів, в тому числі і в людини, проте в собак дане онкологічне захворювання відзначається певною унікальністю, що пов'язано з проявом різних форм неоплазії, їх локалізацією та клінічним перебігом. Залежно від топографії ураження тих чи інших органів [195, 196] виділяють шкірні (сМСТ) та підшкірні мастоцитні пухлини (scМСТ), слизові (mМСТ), за ураження слизової ротової порожнини та шлунково-кишкового тракту, позашкірні/екстрамукозні мастоцитні пухлини (eМСТ) виявлені в будь-якому васкуляризованому органі (лімфатичні вузли, селезінка, печінка) та системне ураження - лейкоз тучних клітин (МКЛ). Водночас сМСТ та scМСТ розділяють на локалізовані, регіональні метастатичні (за ураження лімфатичного вузла) та віддалені метастатичні ураження внутрішніх органів.

Мета-аналіз джерел літератури засвідчує, що в клінічній практиці лікарів ветеринарної медицини в усіх країнах та на різних континентах шкірна форма мастоцитом у собак реєструється найчастіше і становить в структурі неоплазій шкіри від 7 до 21 %. У численних повідомленнях акцентовано увагу на тому, що шкірні МСТ мають розмаїтий зовнішній вигляд і клінічну симптоматику, непередбачувані біологічну поведінку та прогноз, чим і створюють багато клопотів у прийнятті рішень щодо алгоритму лікування. Етіологія мастоцитом до нині невідома, однак, більшість дослідників вважають, що провідними детермінантами для розвитку пухлини є мутації в протоонкогені *c-kit* та хронічна стимуляція опасистих клітин у місцях їх найбільшого скупчення (шкіра, підшкірна клітковина, слизова оболонка ротової порожнини та шлунково-кишкового тракту, вісцеральні органи). З позицій сьогодення надмірна проліферація атипових мастоцитів, а також їхня патологічна активація та дегрануляція, що супроводжується вивільненням в навколишні тканини і кров надмірної кількості біологічно активних речовин, медіаторів та специфічних IgE-антитіл, так званих регуляторів запалення та алергії, відіграють провідну роль в патогенезі пухлини та обумовлюють непередбачуваність хвороби щодо клінічного перебігу, біологічної поведінки, лікування та прогнозу [39, 117, 118, 142, 193].

Широкомасштабні дослідження МСТs у собак проведені впродовж останніх 50-ти років суттєво розширили пізнання природи та клініки неоплазії. Узагальнені результати досліджень та сучасні досягнення у цій галузі було представлено науковій спільноті на численних вузькоспеціалізованих форумах присвячених проблемі мастоцитних неоплазій, зокрема Південноєвропейській ветеринарній конференції (SEVC) у Барселоні (2008), конференції з новоутворень мастоцитів в собак у Відні (2019), першій (2012) та другій (2021), конференціях Бразильської асоціації ветеринарної онкології (ABROVET). Консенсусні документи цих конференцій, а також пропозиції щодо діагностики, лікування та прогнозу мастоцитних пухлин шкіри у собак опубліковані [47, 48, 62, 195, 196] і широко використовуються у науковій і практичній роботі. Однак,

стрімкий розвиток ветеринарної онкології потребує постійного переоцінювання та перегляду поточного стану знань в даній галузі. Так, запроваджену Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) чотирьох стадійну клінічну систему класифікації пухлин [160] консенсусним рішенням низки науковців та практиків [92, 196] на сьогодні уніфіковано відповідно до особливостей клінічного прояву різних форм МСТs. Зважаючи на важливість патоморфологічної верифікації неоплазій за результатами фундаментальних гістопатоморфологічних досліджень [164] була запроваджена триступенева гістологічна класифікація МСТs, а згодом двохступенева [100]. Нині доведено [54], що для виявлення та ідентифікації МСТs, а також вибору тактики лікування, достатньо цитологічного дослідження біоптату, отриманого шляхом тонкоголкової аспіраційної біопсії пухлини. Водночас для встановлення заключного діагнозу, а також прогнозу біологічної поведінки неоплазії та виживаності тварин важливим є результат гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу. Однак, встановлення заключного діагнозу на мастоцитому і її класифікація за ступенем злоякісності, а також призначення адекватного лікування, прогнозування біологічної поведінки та виживаності тварин ґрунтуються на результатах гістологічного дослідження [90, 175, 189].

Мета-аналіз сучасних наукових джерел засвідчує, що завдяки застосуванню передових технологій, за вивчення молекулярно-генетичних та імунобіологічних властивостей клітин МСТs, численними дослідниками встановлено низку змін та атиповостей в субклітинних структурах, які можуть чітко вказувати на злоякісність неоплазії. Упродовж тривалого часу у ветеринарній онкології найбільш вживаною була триступенева гістологічна класифікація МСТs за Patnaik et al. (1984) [164]. Згідно даної класифікації мастоцитоми розподіляються на високо- (G1), помірно- (G2) та низькодиференційовані (G3). Найбільш характерними морфологічними ознаками мастоцитом I ступеня вважають, як правило, їх обмежене шкірне розташування, наявність добре диференційованих опасистих клітин з помітними метакроматичними цитоплазматичними гранулами. Водночас

низький ступінь клітинної диференціації, агресивний характер росту, помірна або висока мітотична активність, мітотична атипія, наявність поодиноких або відсутність взагалі цитоплазматичних гранул є основними ознаками неоплазій III ступеня. У такому контексті мастоцитоми II ступеня становлять проміжну варіативну форму між двома попередніми групами. Відповідно, за оцінювання потенційної біологічної поведінки MCTs найвища ймовірність виживання притаманна для тварин із встановленою категорією G1 і найгірший прогноз (виживання до року) - за G3. За повідомленнями численних дослідників [155, 187] неоплазії із помірним ступенем диференціації (G2) є найбільш проблематичними щодо прогнозу їх біологічної поведінки, адже до даної категорії патоморфологи можуть зараховувати неоплазії як G1, так G3, у випадках сумнівних або не чітко виражених гістологічних ознак. Передбачити агресивність подальшого розвитку таких пухлин важко.

У 2011 році колективом науковців з різних країн запропоновано двоступеневу класифікацію MCTs [100], згідно якої мастоцитоми поділено на дві категорії - високозлоякісні та низькозлоякісні. До неоплазій з високим ступенем злоякісності віднесено пухлини з агресивним перебігом хвороби, схильністю до рецидиву і метастазування та досить коротким терміном виживання (медіана до 4 місяців) тварин.

Згідно повідомлень дослідників [54, 183, 187] двоступенева класифікація (Kiupel) усуває прогностичні невизначеності системи Patnaik, має високу прогностичну цінність, мінімальну варіабельність, високий показник (96,8 %) узгодженості за патоморфологічного оцінювання, тим не менше вона не забезпечує зі 100 % точністю прогнозування біологічної поведінки MCTs. Останніми роками опубліковано ряд робіт [175, 182], які зазначають, що гістологічний метод з фенотипізацією клітин слід розглядати як базовий для остаточного діагнозу та класифікації неоплазій, проте, незалежно від використовуваної системи оцінки, прогноз має ґрунтуватися на комбінованому підході із аналізом цілої низки параметрів MCTs.

Гістологічний ступінь за даними Andy Yale (2022) [63] є вельми прогностичним. Собаки з пухлинами 3 ступеня за Patnaik мають значно коротшу виживаність порівняно з пухлинами 1 та 2 ступеня. Подібним чином собаки з пухлинами високого ступеня злоякісності за критеріями класифікації Kiupel мають гірші результати порівняно з пухлинами низького ступеня злоякісності. Наразі в клінічній практиці найбільш часто застосовується дворівнева гістологічна класифікація [100], яка поділяє MCTs собак виключно на пухлини низького та високого ступеня злоякісності і відповідно до встановленого ступеня приймаються рішення щодо терапевтичних заходів [173, 174, 183, 187]. Однак, незважаючи на те, що гістопатологічна оцінка (встановлений ступінь злоякісності) неоплазії та клінічна стадія є надійними критеріями для прогнозування ефективності лікування на практиці нерідко трапляються випадки неочікуваного перебігу хвороби. Тому більшість дослідників рекомендують зважати на низку інших важливих прогностичних чинників. Зокрема, за планування та проведення лікувальних заходів важливо враховувати анатомічне розташування пухлини та кількість пухлинних уражень [77, 101, 189], швидкість росту неоплазій, їх розмір, загальний вигляд [147, 167, 187], хірургічні краї [74, 176-179] тощо. За повідомленням низки науковців [45, 73, 99, 184, 185] особливої уваги заслуговують молекулярні маркери проліферації Ki-67, AgNOR, PCNA, а також експресія білка KIT [42, 189], які мають важливе діагностичне й прогностичне значення, дозволяють вчасно верифікувати MCTs з високим ризиком агресивної поведінки та застосувати адекватне лікування.

У сучасній ветеринарній практиці за лікування собак з мастоцитомою застосовують як класичні (хірургічний, хіміотерапію, променеву терапію), так і інноваційні методи (імунотерапію, таргетну терапію (інгібітори тирозинкінази), а також місцеве протипухлинне лікування (тигіланолю тиглат) тощо). Варто зазначити, що лікувальні заходи провадять відповідно до гістологічної стадії неоплазії та клінічного стану пацієнта і кожен з перелічених методів, може застосовуватися окремо або в комплексі з іншими. Тим не менше, відповідно до результатів численних досліджень MCTs [47, 48, 158, 195, 196], в алгоритмі

першої лінії лікування пріоритет надається хірургічному методу. Так, за одиноких пухлин, при відсутності ураження лімфатичних вузлів та доказів метастазування (MCTs низького ступеня злоякісності за класифікацією Kiupel або 1-2 ступеня за Patnaik), екстирпацію неоплазії проводять із відступом 2-3 см навколо її видимих меж та захопленням однієї фаціальної площини нижче ураження. У випадках інтраопераційного досягнення „чистих країв екстирпації”, що обов’язково має бути підтверджено гістологічним дослідженням, подальше лікування не проводиться [74, 179]. Окремі дослідники [97] для отримання чистих країв рекомендують проводити екстирпацію мастоцитом із відступом бокових хірургічних країв пропорційно найширшому діаметру пухлини. Однак, як свідчить практика серед вищевказаної категорії MCTs трапляються неоперабельні пухлини, наприклад, великі за розмірами або неоплазії, що локалізуються в ділянці голови, на кінцівках, в ділянці паха, промежини. Як альтернативу до проведення операції за лікування таких неметастатичних, неоперабельних MCTs рекомендовано [141] внутрішньопухлинне введення тигіланол тиглату (*Tigilanol tiglate*).

Алгоритм лікування собак за мастоцитоми високого ступеня злоякісності [47, 145] ґрунтується на проведенні хірургічного видалення пухлини та застосуванні променевої терапії [154] або хіміотерапії. Аналогічно поступають і за пухлин низького ступеня злоякісності у разі інтраопераційного виявлення пухлинних клітин в хірургічних краях або/чи за неможливого виконання екстирпації пухлини в межах „чистих країв” [176], а також за рецидиву хвороби. Численними дослідженнями [72, 130, 131] доведено також, що лімфатичні вузли є зазвичай місцем нагромадження опасистих клітин, тому одномоментна екстирпація високо злоякісної MCTs разом із регіонарним лімфатичним вузлом та застосування ад’ювантної хіміотерапії суттєво покращує терапевтичний потенціал, знижує ймовірність локального рецидиву та розвитку віддалених метастазів.

На сьогодні для лікування собак з пухлинами опасистих клітин запроваджено різноманітні варіанти хіміотерапії із застосуванням вінкристину,

вінбластину, циклофосфаміду, ломустину, інгібіторів тирозинкінази, зокрема масітинібу, тоцеранібу, іматинібу, кортикостероїдів (преднізолону, гідрокортизону). Залежно від терапевтичних підходів різних дослідників до лікування [41, 47, 170] вищевказані препарати застосовуються в протоколах як монопрепарати або в комбінаціях, в режимі ад'ювантної або неoad'ювантної терапії. За повідомленнями [170, 186], в передопераційному періоді для контролю прогресування захворювання, вгамування запалення, а також зменшення розмірів пухлини та полегшення її хірургічного видалення доцільно застосовувати неoad'ювантно кортикостероїди як монотерапію або їх комбінацію з іншими цитостатиками. Важливо зауважити, що для вгамовування паранеопластичних симптомів, спровокованих дегрануляцією опасистих клітин, окрім кортикоїдів, широкого застосування набула допоміжна медикаментозна терапія антагоністами гістамінових рецепторів HR_1 та HR_2 [47, 170].

За аналізу даних вищевказаних джерел літератури можна відмітити, що запропоновані впродовж останніх років протоколи лікування MCTs у собак не забезпечують бажаного терапевтичного ефекту, тому розробка нових та удосконалення відомих схем лікування залишаються на сьогодні актуальною проблемою як в Україні, так і у світі. Вочевидь, вище наведена інформація стала для нас мотивованим обґрунтуванням для вивчення проблемних питань щодо мастоцитом шкіри у собак в умовах географічної популяції України.

1.5. Сучасні методи лікування собак за мастоцитомі

Лікування раку у ветеринарній медицині співпало з лікуванням раку у людей. Перший звіт про використання хіміотерапії у ветеринарній медицині був опублікований у 1946 р., в якому описано використання уретану для лікування гемопоетичної неоплазії у собаки [95]. Включення хіміотерапії у ветеринарну медицину потім паралельно було інтегровано до людської медицини, з першим комбінованим протоколом хіміотерапії з використанням хлорамбуцилу та преднізону у собак, опублікованим у 1968 р. [51].

У ветеринарній онкології виділяють спеціальне, радикальне, паліативне та симптоматичне лікування. Спеціальне лікування передбачає досягнення ремісії або повне вилікування хворих на злоякісні пухлини. Радикальним вважають лікування тварин, кінцевою метою якого є повне вилікування хворої тварини від раку. Тобто, радикальне лікування є також спеціальним.

Паліативним лікуванням вважають лікування тварин, внаслідок якого вдається досягти часткової елімінації пухлини (циторедукції) або стабілізації пухлини та продовжити тривалість життя хворої тварини.

Симптоматичне лікування тварин направлене на боротьбу з конкретними симптомами хвороби, найчастіше – з ускладненнями раку та сприяє покращенню якості життя хворих. При первинному поступленні тварини у клініку, як правило, призначають Преднізолон у дозі 2 мг/кг маси тіла на добу, щодня. При наявності пухлин діаметром до 3-х см, в деяких випадках відзначається ремісія захворювання. При поодиноких мастоцитомах розміром більше 3-х см і множинних пухлинах преднізолон показаний для зниження запалення тканин ложа пухлини. До теперішнього часу залишається спірним, чи володіють глюкокортикоїди протипухлинним ефектом або мають протизапальну дію. У разі, коли власники відмовляються від хіміотерапевтичного лікування, Преднізолон призначають паліативно в монорежимі.

Оскільки мастоцитома володіє значною інвазією в навколишні тканини, хірургічне видалення пухлини показано тільки при можливості видалення її із захопленням здорових тканин не менше ніж 2-3 см і 1 фасцію вглиб, тобто при 1-й і 2-й стадіях захворювання. Пухлини, віддалені без широкого захоплення, а також низько диференційовані мастоцитоми мають високу частоту рецидивування [161].

При проведенні оперативного втручання, спрямованого на видалення пухлини, дотримуються правила, згідно з яким лінія розрізу проводиться на відстані від пухлини в три рази перевищує розмір самої мастоцитоми за межами лінії демаркації пухлини. Така техніка операції дозволяє знизити ризик рецидиву новоутворення. Другий момент полягає в обов'язковому

гістологічному дослідженні країв хірургічної рани для виявлення можливої присутності в здоровій тканині тучних клітин.

Променева терапія може бути як основним, так і додатковим методом лікування мастоцитом. Їх чутливість до дистанційної променевої терапії визначається ступенем диференціювання клітин і розміром первинної пухлини. Зі збільшенням розміру новоутворення ефективність опромінення знижується. Променева терапія, таким чином, показана при мастоцитомах низького ступеня диференціювання клітин. Променеву терапію також проводять в передопераційному періоді в протизапальному режимі і післяопераційному періоді при наявності великих за розміром пухлин.

Лазерна деструкція є більш ефективним методом лікування новоутворень шкіри, ніж електро-, радіо- і кріодеструкція. Кріодеструкція раку шкіри проводиться тільки при невеликих поверхневих і високодиференційованих пухлинах, що розташовуються на тулубі тварини.

Фотодинамічна терапія злоякісних пухлин реалізується за допомогою опромінення пухлинної тканини, попередньо сенсibilізованої спеціально підібраним барвником - фотосенсibilізатором, який введений в організм. В основі фізичного механізму пошкодження ракових клітин лежить фотодинамічний ефект. При наявності віддалених метастазів показана системна хіміотерапія. Як правило, в усі хіміотерапевтичні схеми включається препарат Преднізолон. Якщо у собаки виявляються множинні неоперабельні пухлини і метастази в лімфовузлах, а також у віддалених від пухлини внутрішніх органах хороші результати дає хіміотерапія, в тому числі, і системна хіміотерапія. Основними препаратами при цьому типі лікування виступають Вінкристин, Ломустін, Доксорубіцин і деякі інші ліки за показаннями. Побічні ефекти при використанні препаратів для хіміотерапії виражаються в пригніченні функції кровотворення, і, як наслідок, розвиток анемії, а також різними порушеннями у функціонуванні травного каналу [13].

Ще одним способом лікування мастоцитоми є таргентна терапія мастоцином. Відноситься до розряду способів впливу на пухлину-мішень і

полягає в застосуванні фармакологічних засобів, здатних пригнічувати ріст клітин з органічними рецепторами.

Класичний спосіб лікування пухлин – це радіотерапія з опроміненням оперованої ділянки. Цю процедуру виконують під місцевою короткочасною анестезією на апараті гамма-установки АТАR-R. Опроміненню піддають як саму пухлину, так і регіонарний лімфовузол, який знаходиться неподалік від пухлини.

Висновок до розділу 1

Наявність неоднозначних оцінок та певних розбіжностей щодо діагностики, застосування різних методів лікування та їх ефективності, а також прогнозу біологічної поведінки МСТs засвідчує про актуальність проведення більш скрупульозних та різнопрофільних наукових досліджень даних пухлин. Важливо зазначити також, що дане питання є актуальним і для вітчизняної ветеринарної науки та практики, адже вивчення клініко-біологічних та патоморфологічних особливостей мастоцитом в умовах географічних популяцій України має не тільки науковий та загальнобіологічний інтерес, але й важливе практичне значення для вітчизняної ветеринарної медицини.

Виходячи із вище висвітленої проблемності щодо питання пухлин опасистих перед нами постала низка завдань, які потребують вирішення. Зокрема, це встановлення реальних даних щодо частоти поширення і рівня захворюваності собак в умовах нашого регіону та з'ясування структури даної онкопатології залежно нозологічних форм захворювання, породи, статі та віку, вивчення питань етіології, патогенезу, особливостей клінічного прояву шкірної форми мастоцитом. Важлива увага акцентується на застосування сучасних методів досліджень результати яких будуть покладені в основу розробки патогетично обґрунтованого мультимодального лікування собак з МСТs, яке включає комбінацію хірургічного втручання, хіміотерапії та імунотерапії, адаптованої до профілю кожного пацієнта, що підвищить показники виживання та якості життя тварин.

РОЗДІЛ 2

ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Дизайн проведення досліджень

Дисертаційна робота виконана впродовж 2016–2025 років в умовах кафедри хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. Дослідження проводилися в рамках програми підготовки доктора філософії. Основна ідея виконання наукових досліджень спрямована на вирішення окремих питань у забезпеченні здоров'я тварин та його якості у разі виникнення онкологічних захворювань.

Немає сумніву, що на сьогодні вкрай важливим є встановлення реальних даних щодо частоти поширення і рівня захворюваності собак на неоплазії опасистих клітин, вивчення їх етіології та патогенезу, а також розроблення, удосконалення та запровадження у вітчизняну ветеринарну практику сучасних науково обґрунтованих стандартів діагностики та лікування. Зважаючи на вище вказане виконання клініко-експериментальних досліджень було розділено нами на три етапи, їх зміст та об'єм відображено на рис. 2.1 і, відповідно, в табл. 2.1.

Перший етап роботи передбачав моніторинг щодо поширення неоплазій у собак в умовах м. Львова та ОТГ. При цьому було передбачено провести аналіз захворюваності собак на неоплазії та встановити нозологічну, вікову, статеву та породну структуру спонтанних онкологічних захворювань. Матеріалом для досліджень були 5277 собак, в тому числі 848 тварин з онкологічними захворюваннями, які впродовж 2016–2024 рр. надходили в клініку кафедри хірургії ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. При цьому основним об'єктом досліджень стали 49 собак з мастоцитомою шкіри, які впродовж цього періоду в умовах клініки хірургії проходили повний курс діагностично-лікувальних заходів. На кожну із цих тварин заведено історію хвороби, де вносили реєстраційні дані, а також інформацію про загальний стан тварини, дані щодо проведення діагностично-лікувальних заходів та їх результат тощо.

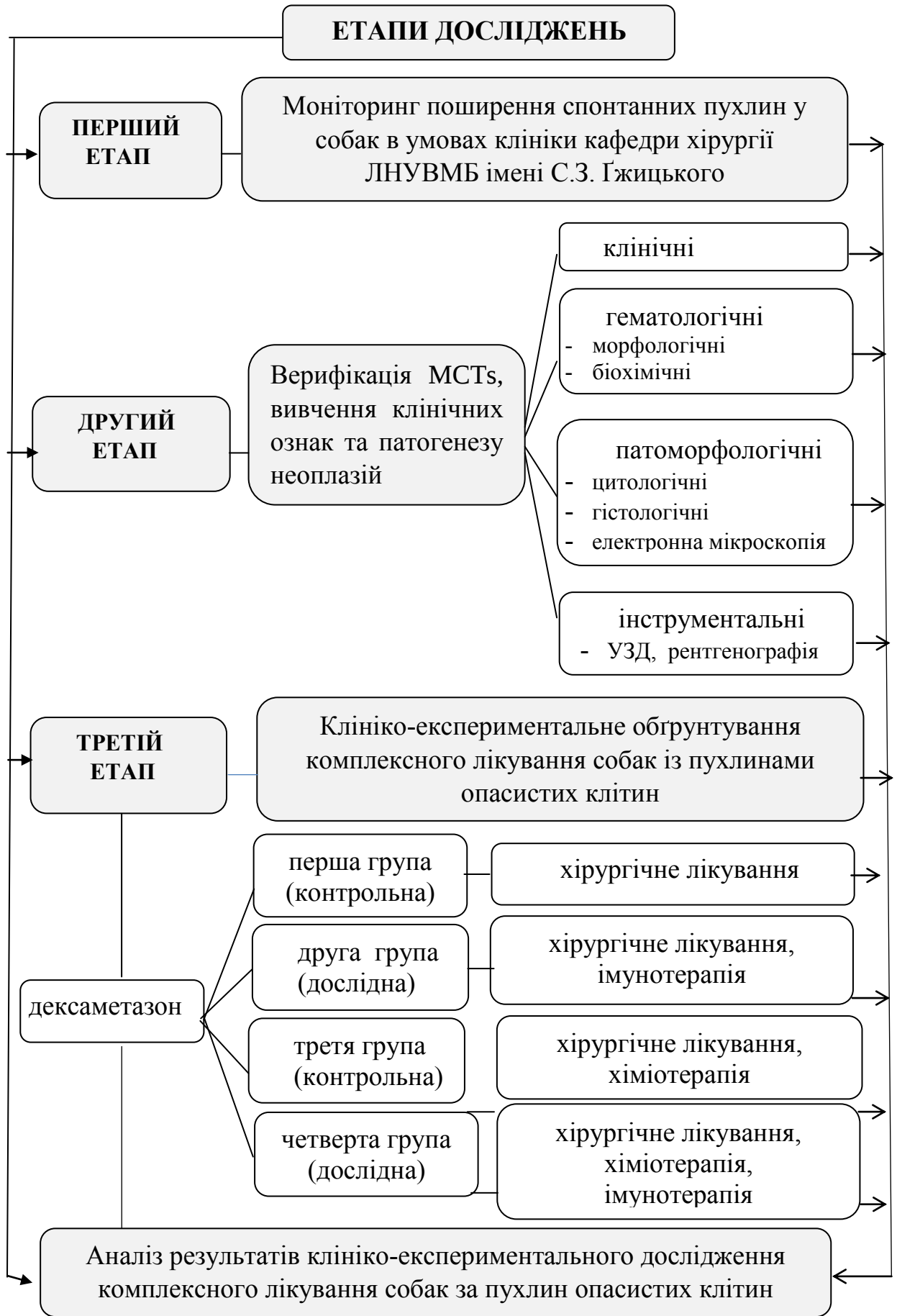


Рис. 2.1. Схема досліджень

Таблиця 2.1

Об'єм виконаних досліджень за вивчення мастоцитоми шкіри у собак

№ п/п	Дослідження	Всього досліджено (к-ть тварин, проб)
1	Моніторинг поширення неоплазій: – обстежено, всього собак – із новоутвореннями різної локалізації, в т. ч. з мастоцитомою шкіри	5277 собак 848 гол. 49 гол
2	Рентгено- та ультразвукографічні дослідження (на усіх етапах діагностичних досліджень та в процесі лікування)	49 собак
3	Цитологічні дослідження: – біопсійний матеріал, – мазки-відбитки із країв рани	49/196 проб, в т.ч. 49/98 49/98
4	Гістологічне дослідження пухлин	49 /147
5	Електронно-мікроскопічне дослідження	4
6	Загальноклінічний аналіз крові клінічно здорових та тварин з пухлинами МСТs: морфологічні та біохімічні дослідження (кількість еритроцитів, лейкоцитів (лейкограма, ВГЛ), тромбоцитів, величина гематокриту, МСН, МСV, вміст гемоглобіну, загального протеїну і альбумінів, білірубіну, активність АсАТ та АлАТ, вміст креатиніну, сечовини, неорганічного фосфору та загального кальцію)	клінічно здорових собак -10/10 онкологічно хворих - 49/196
7	Клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак з пухлинами МСТs – хірургічне видалення пухлин – хірургічне видалення пухлин та імунотерапія – хірургічне видалення пухлин та хіміотерапія – хірургічне видалення пухлин, хіміотерапія та імунотерапія	49 собак, в т.ч. 16 17 8 8
8	Клінічна апробація запропонованої схеми комплексного лікування в умовах мережі клінік «Совет» та «Клініки доктора Маркевича» м. Львів	28 собак

Слід відмітити, що при надходженні онкологічно хворих собак (n=848) у клініку, реєстрацію та нозологічну стандартизацію спонтанних неоплазій проводили згідно рекомендацій ВООЗ (відповідно до анатомічної локалізації та клінічної характеристики). При цьому виявлені неоплазії розприділяли на: пухлини шкіри, до яких до речі, віднесено МСТs, а також неоплазії молочної залози, зовнішніх статевих органів, голови і шиї, кісток і суглобів, кровотворної і лімфоїдної тканин, внутрішніх органів (в тому числі нервової системи, залоз внутрішньої секреції). Отримані дані використано нами для встановлення статистичного обліку щодо поширення патології, визначення показника превалентності, а також встановлення нозологічної, вікової, статевої та породної структури онкологічних захворювань собак.

Другий етап досліджень передбачав вирішення низки питань діагностичного характеру і полягав у розпізнаванні (диференційній діагностиці) пухлин опасистих клітин поміж інших спонтанних неоплазій шкіри на етапі первинного обстеження, при поступленні онкологічно хворих собак в клініку; встановлені особливостей клінічного прояву та патогенезу МСТs; проведенні клінічної класифікації, згідно критеріїв чотирьох стадійної системи TNM (Owen, 1980; Horta et al., 2018), а також патоморфологічної верифікації неоплазії із встановленням гістологічного типу і ступеня злоякісності та, відповідно, до отриманих даних, класифікації МСТs за двоступеневою класифікацію KiupeI.

Відомо, що активовані ОК підчас процесу дегрануляції можуть проявляти різно-специфічну біологічну поведінку, яка провокує запальну реакцію, прискорює розвиток проліферативних процесів, негативно впливає на онкологічну патологію, спричиняє її розмаїту клінічну симптоматику, що відповідно ускладнює діагностику неоплазій. Тому за вибору алгоритму встановлення діагнозу на МСТs було застосовано комплексний підхід, який ґрунтується на узагальнених результатах клінічного, низки лабораторних (гематологічних, патоморфологічних) та інструментальних (рентгено- та сонографічних) методах дослідження тощо.

За надходження тварин у клініку велику увагу приділяли анамнестичним даним як про життя тварини, так і анамнезу про хворобу. Оскільки місцевий прояв мастоцитом, як правило, супроводжується алергічно-запальною реакцією, що періодично проявляється рецидивами, увага акцентувалася передусім на встановлення чинників алергічної реакції, механічного подразнення, інформації щодо годівлі, умов утримання, догляду, господарського використання тварин, проведення профілактичних заходів (дегельмінтизації, вакцинації, контрацепції), захворювання тварин (в минулому) інфекційними, інвазійними та незаразними захворюваннями. Також з'ясовували статевий статус тварин кастровані чи некастровані, а у некастрованих сук дані щодо перебігу статевого циклу, кількості пологів тощо.

Анамнез про хворобу включав дізнання про час виникнення пухлини і її первинні симптоми, динаміку захворювання та можливі чинники, що впливають на перебіг хвороби, у випадках проведення попередніх обстежень чи лікування уточнювали ким, коли, в якому об'ємі вони надавалися і якою була їхня ефективність. Особливо актуальною була інформація щодо швидкості росту новоутворення, зокрема, період часу, упродовж якого пухлина подвоювала свій розмір, що є важливим за встановлення прогнозу хвороби.

Клінічні обстеження собак при поступленні в клініку, а також під час виконання усіх подальших діагностично-лікувальних заходів, проводили за використання загальноприйнятих у ветеринарно-медичній практиці фізикальних методів. Метою таких досліджень, як правило, було встановлення загального стану онкологічно хворих собак, а також виявлення в них супутніх захворювань. Особливу увагу під час клінічного обстеження тварин звертали на стан шерсті і шкірного покриву в цілому і в зоні пухлинного ураження зокрема.

За дослідження місцевого непластичного процесу проводили візуальний огляд та пальпацію пухлини, визначали її анатомо-топографічну локалізацію, форму, величину, межі та характер розростання, консистенцію, рухливість чи фіксованість щодо навколишніх тканин, стан шкіри над пухлиною, розвиненість і стан підшкірних судин, наявність супутнього запалення, а також

специфічних ознак злоякісності новоутворення (наявність виразок, нориць, виділень, ослизнення тощо). Отримані дані узгоджували з результатами УЗД.

Розміри кожної неоплазії вимірювали штангенциркулем. Встановлений розмір величини пухлинного вузла (см) - Т (tumour) використовувався нами як показник величини пухлини за TNM класифікації.

Особливу увагу зосереджували на дослідженні регіонарних лімфатичних вузлів (РЛВ) - визначали їх величину, форму, контури, місцеву температуру, рухливість/фіксованість щодо навколишніх тканин. Отримані дані узгоджували також з даними УЗД, адже стан (РЛВ) є важливим показником - N (nodulus), який в системі клінічної TNM класифікації пухлин свідчить про наявність чи відсутність метастатичного ураження в РЛВ.

З метою встановлення показника М (metastasis), що вказує у системі класифікації пухлин про наявність або відсутність метастатичного ураження інших органів, застосовували інструментальні методи дослідження. Зокрема рентгенографію ділянки пухлинного ураження, грудної та черевної порожнин, а за потреби й інших частин тіла тварин, проводили за використання цифрового рентгенівського апарату "ZooMax LC". Оглядові рентгенограми виконували у двох стандартних взаємно перпендикулярних проекціях (прямій і боковій).

Підчас досліджень більш продуктивно був задіяний нами метод УЗ дослідження, яке виконували приладом "ESAOTE MyLab 40". Ультразвуковому дослідженню піддавались: безпосередньо сама пухлина, навколишні тканини, регіонарні лімфатичні вузли, а також, з метою виявлення віддалених метастазів, органи черевної і тазової порожнин. Безпечність такого методу та можливість отримувати результати в режимі реального часу дозволяли нам застосовувати УЗД як метою верифікації діагнозу, в тому числі за проведення прицільної біопсії, так і для оцінювання перебігу пухлинної патології в динаміці.

Таким чином, за результатами первинного обстеження собак нами було отримано важливу інформацію щодо розміру первинної пухлини Т (tumour), стану регіонарних лімфатичних вузлів N (nodulus) та по віддалених метастазах М (metastasis), що використано за визначення клінічної стадії пухлин ОК.

Важливо зауважити, що визначним пунктом за встановлення діагнозу на мастоцитому та за диференційної діагностики MCTs від низки пухлин та пухлиноподібних уражень шкіри є процедура ідентифікації опасистих клітин. Згідно Європейських консенсусних рекомендацій [47, 54, 182] скринінгом для верифікації MCTs на етапі первинного чи до операційного обстеження є проведення тонкоголкової біопсії пухлини та ідентифікація опасистих клітин за цитологічного дослідження біоптату. Отже, за первинного обстеження тварин було проведено відбір матеріалу із пухлин та регіонарних лімфатичних вузлів. Процедуру тонкоголкової біопсії виконували у двох варіантах - класично, коли пункцію виконували “сліпим” методом та шляхом прицільної біопсії під контролем УЗД (апарат “ESAOTE MyLab 40”) за використання тонкоголкової та трепан-біопсії напівавтоматичними голками гільйотинного типу Spring Cut 14G. Із отриманих аспіратів виготовляли 2–3 мазки, підсушували їх на повітрі, фіксували 5 хвилин метиловим спиртом, фарбували за Романовським-Гімзою та вивчали при імерсійній мікроскопії. Критерієм для верифікації мастоцитоми було виявлення в цитологічних препаратах гомологічних круглих пухлинних клітин із азурофільними гранулами в цитоплазмі.

Виявлення в цитологічних та гістологічних препаратах, тобто на клітинному і, відповідно, тканинному рівнях, клітин різних за розмірами, темно-фіолетового та світло-фіолетового забарвлення, наштовхнуло нас на думку про доцільність проведення детальних морфометричних досліджень (визначення об’єму клітини, ядра, ядерно-цитоплазматичного відношення), а також електронної мікроскопії. Адже з літератури відомо, що підвищення показника ЯЦВ вказує на клітинну атипію, ознаки малігнізації тощо. Щодо даних електронної мікроскопії опасистих клітин як за норми, так і за патології, то можна відмітити, що у доступній літературі ми не знайшли жодної інформації. Тому можна вважати, що встановлення змін на ультраструктурному рівні є актуальним і перспективним напрямком досліджень.

Особливу увагу за обстеження онкологічно хворих тварин нами було надано гематологічним дослідженням, адже морфологічні та біохімічні

показники крові є тестами, які широко використовуються в терапевтичній практиці як для оцінки здоров'я тварин, так і для визначення функціонального стану життєво важливих органів і систем за патології.

Отже, для встановлення загального стану тварин, виявлення паранеопластичних синдромів супутніх захворювань (поліморбідності патології), а також вивчення окремих ланок патогенезу неоплазій опасистих клітин було сформовано три групи собак: контрольну та дві дослідні. Контрольну групу сформовано із клінічно здорових собак ($n=10$), що надходили в клініку для проведення планової вакцинації (зразки крові у тварин відбирали за згодою господарів). Критерієм відбору собак в першу та другу дослідні групи було взято ступінь злоякісності мастоцитом, встановлений згідно двоступеневої гістологічної класифікації (Kiupel, 2011) [100]. А саме, на підставі останньої було сформовано першу дослідну ($n=20$) групу із собак в яких встановлено ураження низько злоякісною мастоцитомою. У другу дослідну групу ($n=10$) входили собаки з високо злоякісними неоплазіями ОК клітин.

Загальноклінічні дослідження крові включали визначення кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, величини гематокриту, гемоглобіну, MCH, середнього об'єму еритроцитів (MCV), виведення лейкограми. Із біохімічних показників у сироватці крові визначали вміст загального протеїну, альбуміну, загального білірубіну, активність АсАТ та АлАТ, вміст креатиніну, сечовини, неорганічного фосфору та загального кальцію. Для визначення морфологічних і біохімічних показників крові використовували ветеринарний гематологічний аналізатор Heska Element HT5 та автоматичний біохімічний експрес-аналізатор FUJI DRI-CHEM NX500 (IRISMED).

При підрахунку лейкограми вираховували лейкоцитарні індекси (ІЛЗ /LSI/, ЛГІ /LGI/), які застосовуються зазвичай для встановлення цілісного уявлення про реакцію системи крові та організму на вплив різноманітних чинників. Вони дають змогу оцінити роботу імунної системи та рівень імунологічної реактивності. Серед легко доступних та інформативних

досліджень можна вважати визначення великих грануловмісних лімфоцитів (ВГЛ), так званих НК-клітин, або природніх кілерів, які відіграють важливу роль в природньому імунітеті. Дані клітини здатні розпізнавати і знищувати клітини пухлин безпосередньо самі, а також стимулюють Т-лімфоцити.

Отож, за сукупністю результатів клінічних, рентгено- та сонографічних, гематологічних і цитологічних досліджень, відповідно до критеріїв TNM класифікації, було встановлено клінічну стадію неоплазій, що є основою для вибору лікування та оцінки його ефективності. Водночас слід зауважити, для передбачення прогнозу перебігу захворювання та виживання тварин важливим є остаточний діагноз, який ми встановлювали за результатами гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу відібраного під час операції (n=49).

Третій етап досліджень був спрямований на клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак за мастоцитоми шкіри, встановлення його терапевтичної ефективності та виживаємості тварин.

За проведення клініко-експериментального дослідження, щодо обґрунтування терапевтичної ефективності схем комплексного лікування, дослідних собак, уражених MCTs (n=49), було розподілено на чотири групи за принципом тварин аналогів. При формуванні дослідних груп з ідентичною патологією за основу був взятий ступінь злоякісності (підтверджений патоморфологічно) та клінічна стадія неоплазій, враховували також клінічний прояв захворювання, анамнестичні дані, вік, стать, живу масу та породу собак, локалізацію пухлин тощо. Відповідно до вище вказаних критеріїв 33 тварини, з верифікованими мастоцитомами низької злоякісності, рандомізовано розподілили на дві групи - першу (контрольну, n=16) та другу (дослідну, n=17).

Водночас, поміж 16 собак з MCTs високого ступеня злоякісності створено також дві групи – третю (яка була контрольною) і четверту (дослідну), по 8 тварин у кожній.

У першій групі, собакам із мастоцитомою низького ступеня злоякісності, застосовано лише традиційний хірургічний метод видалення пухлини та подальше спостереження за процесом видужання й життя тварин.

Водночас, у тварин другої групи після екстирпації новоутворення було застосовано вітчизняний лікарський препарат імуностимулюючої дії – Анфлурон.

У третій групі, собакам з пухлинами опасистих клітин високого ступеня злоякісності, після екстирпації пухлини застосували загальноприйнятую схему хіміотерапії, що включала цитостатичні препарати вінбластин і циклофосфамід та глюкокортикоїд преднізолон. У нашому дослідженні преднізолон було замінено на препарат активнішої дії - дексаметазон.

У собак четвертої групи, аналогічно як і у третій хірургічно видаляли пухлину і за такою ж схемою застосували цитостатичні препарати. Проте, після завершення курсу хіміотерапії тваринам даної групи застосовано анфлурон.

Слід зауважити, що у схемі лікування в усіх собак було застосовано хірургічний метод і, якщо у собак першої групи хірургічне видалення пухлин було основним лікувальним заходом, то в тварин другої, третьої та четвертої груп операція була першим етапом лікування.

За виконання екстирпації пухлин передопераційну підготовку собак проводили за загальноприйнятою методикою. Анестезіологічне забезпечення здійснювали відповідно до важкості і тривалості операції, зокрема, тваринам застосовано комбінований наркоз за схемою: премедикація - атропіну сульфат (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця». Україна) - 0,03 мг/кг (п/ш). Індукція загальної анестезії - тилетамін/золазепам (Virbac.S.A, Франція) 10-15 мг/кг (в/м), та після катетеризації вени - пропофол (Propofol Lipuro: B. Braun, Німеччина) 8 мг/кг (в/в). Для підтримання наркозу – інгаляційна анестезія із застосуванням ізофлурану (Isoflurane, USP, Vetpharma, Іспанія) від 1 % до 5 %. Для місцевого знеболювання використовували 0,5 % розчин лідокаїну.

З метою превенції дегрануляції опасистих клітин та, відповідно, недопущення виникнення запалення й набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, а також з метою зменшення об'єму пухлин (в першу чергу нерезектабельних) було проведено неoad'ювантну глюкокортикоїдну терапію. За 10 днів до операції та в день її проведення застосовували

внутрішньом'язово або під основу пухлини препарат Дексаметазон (для тварин), 2 мг/мл (Alfasan Diergeneesmiddelen BV, Нідерланди). В цілому неoad'ювантна терапія полягала у проведенні трьох ін'єкцій дексаметазону з інтервалом дві доби, в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини. Оцінювання терапевтичної ефективності неoad'ювантної терапії проводили за результатами фізикального обстеження та за зміною об'єму пухлини до та після застосування дексаметазону. Розміри кожної пухлини вимірювали штангенциркулем, а потім обчислювали об'єм, який визначали за формулою для еліпсоїдних фігур:

$$V = \frac{4}{3}\pi abc,$$

де, a – радіус довжини, b – ширини і c – радіус висоти неоплазії.

Як представлено у схемі дизайну досліджень (рис. 2.1), у собак першої групи так як і у тварин усіх інших дослідних груп на першому етапі лікування застосовано хірургічний метод (усі операції виконувалися, практично, за однакових умов).

За проведення екстирпації пухлин строго дотримувалися вимог абластики й антибластики. Розріз шкіри навколо новоутворення проводили скальпелем, дотримуючись хірургічних меж. Для виконання подальших маніпуляцій використовували хірургічний біозварювальний генератор ЕК-300М “СВАРМЕД” (УКРАЇНА). Ексцизію пухлин здійснювали в зоні здорових тканин із відступом 2-3 см навколо видимих меж неоплазії та захопленням у глибину однієї фасціальної площини нижче ураження. У разі бокового відступу менше 2 см екстирпацію вважали крайовим висіченням. Під час виконання операції строго уникали травмування пухлини. За ураження лімфатичних вузлів одночасно проводили лімфаденектомією. Після завершення операції рановий дефект зменшували пошаровим з'єднанням глибоких тканин, після чого накладали другий поверх шва на шкіру. За потреби виконували пластику ран.

У післяопераційний період досліджували загальний стан тварин, вивчали перебіг ускладнень з боку рани (початок, тривалість та інтенсивність лімфореї, виникнення сером, інфікування рани, розходження її країв тощо),

встановлювали термін загоєння ран. За потреби, відповідно до ситуації, застосовували симптоматичне лікування.

Після виконання операції, згідно з дизайном досліджень, тваринам усіх груп, окрім першої, було застосовано медикаментозне лікування (рис 2.1).

Собакам в другій групі після екстирпації пухлини, а в четвертій, після операції та хіміотерапії, застосовували вітчизняний лікарський препарат імуностимулюючої дії – Анфлурон (для тварин) – водний розчин рекомбінантних α - γ -інтерферонів, аналогів людських α -2а і γ -інтерферонів, (ПрАТ «Укрзооветпромпостач»). Препарат вводили внутрішньом'язово, перші три дні у дозі 1 млн. (малим) і 2 млн. МО/гол. (великим собакам) один раз на добу, в подальшому підтримуючі дози ($\frac{1}{2}$ ударної дози) упродовж трьох тижнів.

Ад'ювантну хіміотерапію за схемою VCD (вінбластин, циклофосфамід, дексаметазон) у тварин третьої та четвертої груп розпочинали на 7-14 добу після загоєння післяопераційних ран та проводили відповідно до протоколу представленого в табл. 2,2.

Таблиця 2.2.

Протокол проведення післяопераційної хіміотерапії VCD та застосування препарату Анфлурон

Препарат	тиждень								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Вінбластин	<u>X</u> 1 день	<u>X</u> 1 день	<u>X</u> 1 день						
Циклофосфан	<u>X</u> 5 день		<u>X</u> 5 день		<u>X</u> 5 день				
Дексаметазон	<u>X</u>	<u>X</u>	X						
	1 день і через кожні 2 доби								
Анфлурон					<u>X</u> 5.6.7день	<u>X</u> 1-7 день	<u>X</u> 1-7 день	<u>X</u> 1-7 день	

Примітка: x – тижні проведення хіміотерапії;

1; 5; 1–7 – дні тижня, коли застосовували хіміотерапевтичні препарати.

Вінбластин-Тева (розчин для ін'єкцій, 1 мл розчину містить 1 мг вінбластину сульфату) (Фармахемі Б.В., Нідерланди) вводили собакам довенно

шляхом болюсної ін'єкції через внутрішньовенний катетер (22 G), у дозі 2,0 мг/м² площі тіла один раз на тиждень упродовж 3 тижнів поспіль.

Циклофосфамід (препарат Ендоксан, Baxter Oncology GmbH Німеччина). Ендоксан 200 мг розчиняли 10 мл фізіологічного розчину, вводили внутрішньовенно (повільно) у дозі 250 мг/м² площі тіла, трьохкратно один раз на 14 днів (курс розпочинали з п'ятого дня після ін'єкції вінбластину).

Дексаметазон (для тварин), 2 мг/мл (Alfasan Diergeneesmiddelen BV, Нідерланди) застосовували одночасно із використанням цитостатиків впродовж трьох тижнів (табл. 1). Внутрішньом'язеві ін'єкції дексаметазону розпочинали в перший день застосування хіміотерапії і повторювали через кожні дві доби протягом двох тижнів (5 ін'єкцій), в дозі 0,25-0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини, а впродовж третього тижня (2 ін'єкції) дозу препарату зменшували наполовину.

В цілому в тварин третьої та четвертої груп виконували два циклових курси ад'ювантної хіміотерапії за схемою вінбластин-циклофосфамід-дексаметазон (VCD). Інтервал між циклами становив 21 день, а повний курс хіміотерапії тривав 16 тижнів.

Під час застосування цитостатичних препаратів та імунотерапії регулярно здійснювали фізикальне обстеження собак та лабораторне дослідження крові. При цьому особливу увагу акцентували на результати дослідження морфологічних показників (визначенню кількості еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів, виведенню лейкограми).

Відомо, що у системі протипухлинного імунного захисту важливе значення мають імунний контроль (специфічна протипухлинна відповідь) і природна резистентність. Першою лінією такого захисту є неспецифічна імунна відповідь, зумовлена природною кілерною активністю (ПК-активністю). ПК (NK - natural killer cells) становлять, зазвичай, до 15 % кількості лімфоцитів крові. Морфологічно вони ідентифікуються як великі гранульовані лімфоцити (ВГЛ), що містять 3-15 азурофільних гранул. Отож, зважаючи на вище вказане, для визначення імунологічного стану організму досліджуваних тварин одночасно із виведенням лейкограми підраховували відсотковий уміст великих

гранульованих лімфоцитів (ВГЛ), а також визначали у їх цитоплазмі кількість азурофільних гранул.

З метою встановлення терапевтичної ефективності проведених заходів за дослідними тваринами здійснювали щотижневий контроль під час лікування, окрім цього, впродовж двох років вели спостереження за станом життя тварин. Відповідно до результатів спостереження було встановлено загальну та безрецидивну виживаність собак, а також медіану тривалості життя тварин.

Показники виживаності собак з побудовою графіків розраховували за методом Каплана-Мейєра [204]. Загальну виживаність (час виживання) визначали як інтервал від дати проведення операції до дати смерті/евтаназії тварини внаслідок неопластичної хвороби. Інтервал без захворювання визначався як час між датою встановлення діагнозу і датою локального або віддаленого розвитку МСТs або метастазування, залежно від того, що сталося раніше. Собаки, втрачені для подальшого спостереження чи вибули з контролю з невідомих причин, здорові собаки та собаки, які померли від причин, не пов'язаних із захворюванням опасистих клітин, були піддані цензурі, відповідно, часу смерті або до часу їх останнього клінічного обстеження та включені для аналізу виживання. За побудованими графіками кривих Каплана-Мейєра визначали медіану виживаності – час, протягом якого 50 % тварин загинули, а 50 % ще залишалися живими.

Під час виконання роботи проводили фотографування тварин та об'єктів дослідження. Результати клінічних, сонографічних, цитологічних, гістологічних, гематологічних, біохімічних досліджень подано у вигляді фото, сонограм, електронограм, діаграм, таблиць і рисунків, що дозволило ілюструвати нашу роботу при висвітленні фактичного матеріалу.

Статистичну обробку цифрових даних проводили відповідно з загально прийнятими методами варіаційної статистики за використання комп'ютерної програми MS Excel. Визначали середньоарифметичне (M), статистичну помилку середньоарифметичного (m), вірогідність різниці між середнім

арифметичним двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (p). Різницю між двома величинами вважали вірогідною за $p < 0,05$, $0,001$ і $0,0001$.

При роботі з дослідними тваринами дотримано біоетичних вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», а також положення про використання хребетних тварин для дослідних та інших наукових цілей у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького (протокол № 20 від 10.04.2025 р.), На проведення експерименту згоду отримано від усіх власників тварин.

2.2. Методи клініко-експериментальних досліджень

Розвиток пухлин опасистих клітин (MCTs), як правило, супроводжується поєднанням проліферативних та алергічно-запальних процесів, що відповідно, прискорює та ускладнює ріст неоплазій, урізноманітнює їх симптоматику та ускладнює діагностику. Зважаючи на вище вказане та можливе метастазування пухлин, дослідження тварин, з моменту надходження у клініку, ми проводили у найстисліші терміни. При цьому застосовано загальноклінічне (фізикальне) обстеження та низку спеціальних й інструментальних методів дослідження, зокрема: клінічні (клінічне обстеження собак), інструментальні (рентгенографія, сонографія), морфологічні (еритроцити, лейкоцити, тромбоцити, лейкограма, ВГЛ), фізичний (гематокритна величина), біохімічні (гемоглобін, загальний протеїн та альбуміни, загальний білірубін, активність АсАТ, АлАТ, загальний кальцій, неорганічний фосфор, сечовина, креатинін), патоморфологічні (цитологічні, гістологічні, трансмісійна електронна мікроскопія, морфометричний аналіз), статистичні.

Клінічне дослідження собак проводили за загальноприйнятою методикою, описаною в різних посібниках і підручниках. Встановлення загального стану онкологічно хворих тварин та дослідження місцевого неопластичного процесу ґрунтувалося на використанні адекватних, згідно критеріїв клінічної TNM класифікації, методів досліджень.

Гематологічні дослідження проводили з метою встановлення загального стану тварин, виявлення супутніх захворювань, а також вивчення окремих ланок патогенезу МСТs. Кров у собак відбирали зранку, надще. Найчастіше відбирали кров з латеральної підшкірної вени передпліччя (v. cephalica lateralis) рідше яремної вени (v. jugularis externa) у стерильні вакуумні пробірки з наповнювачем K2 EDTA. Із гематологічних показників включали визначення кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, величини гематокриту, гемоглобіну,. Із біохімічних показників у сироватці крові визначали вміст загального протеїну, альбумінів, загального білірубіну, активність аспарагінової (АсАТ) та аланінової (АлАТ) амінотрансфераз, вміст креатиніну, сечовини, неорганічного фосфору та загального кальцію. Для визначення морфологічних і біохімічних показників крові використовували ветеринарний гематологічний аналізатор Heska Element HT5 та автоматичний біохімічний експрес-аналізатор FUJI DRI-CHEM NX500 (IRISMED).

Визначення кількості природних клітин-кілерів (ВГЛ – великих грануловмісних лімфоцитів). Для морфологічного дослідження готували мазок крові, висушували на повітрі, фіксували в метанолі і фарбували його за Паппенгеймом (Май-Грюнвальд-Романовським) впродовж 8 - 15 хвилин, промивали проточною водою, висушували на повітрі та досліджували під світловим мікроскопом. Підраховували 100-200 лейкоцитів. За підрахунку лімфоцитів ідентифікували ВГЛ за більшим розміром, в порівнянні з іншими лімфоцитами, округлим або бобовидним ядром, блідо-блакитною цитоплазмою, яка містить в собі три та більше еозинофільних гранул, яскраво-червоного або вишнево-фіолетового кольору. Абсолютну кількість ВГЛ в 1 л крові (Г/л) обчислюють із їх процентного вмісту і загального числа лейкоцитів.

Інструментальні методи дослідження: Ультрасонографію та рентгенографію проводили у собак як з метою верифікації діагнозу, так і для оцінки перебігу пухлинної патології у динаміці, а також для встановлення в органах грудної і черевної порожнин метастазів.

Ультразвукове дослідження виконували приладом “ESAOTE MyLab 40” за використання мультичастотного лінійного та конвексного датчиків у В-режимі при частоті 5,0 – 7,5 та 15 мГц на різних глибинах. Сонографічному дослідженню піддавались: безпосередньо сама неоплазія і навколишні тканини, РЛВ, а також, з метою виявлення віддалених метастазів, органи черевної і тазової порожнин. Одержане сонографічне зображення зберігали на цифрових носіях та аналізували ехоструктуру досліджуваних об’єктів. Під контролем сонографії проводили також тонкоголкову пункційну біопсію неоплазій (FNAB) з метою відбору матеріалу для цитологічного дослідження.

Рентгенографію ділянки пухлинного ураження, черевної порожнини, та грудної клітки, а при потребі й інших частин тіла тварин проводили за використання цифрового рентген апарата “ZooMax LC”. Оглядову рентгенографію проводили у двох стандартних взаємно перпендикулярних проекціях (прямій і боковій). Експозицію, напругу струму на трубці та фокусну відстань при рентгенографії вибирали за індивідуальними параметрами для кожної тварини залежно від маси її тіла (відповідно до програмного забезпечення приладу).

Патоморфологічні (цитологічні гістологічні, електронно-мікроскопічні) дослідження проводили на кафедрі нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії та в лабораторії електронної мікроскопії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького за сприяння та допомоги завідувача лабораторії О.О. Зайцева.

Матеріалом для цитологічних досліджень були біопсійні пунктати (FNAB) пухлин та РЛВ, отриманих під контролем УЗД і мазки-відбитки із поверхні стінки ран. Із отриманого матеріалу виготовляли 2–3 мазки, підсушували їх на повітрі, фіксували 5 хвилин метиловим спиртом, фарбували

за Романовським-Гімзою та вивчали під мікроскопом, використовуючи імерсійну систему. Виявленні в цитологічних препаратах гомологічні круглі пухлинні клітини із азурофільними гранулами в цитоплазмі були критерієм для верифікації мастоцитоми.

Гістологічне дослідження ексцизійного матеріалу, зокрема 49 вилучених пухлин, виконували згідно з стандартною методикою [9, 208]. З кожної пухлини відбирали 3-4 зразки з різних ділянок. За виготовлення гістопрепаратів матеріал фіксували в розчині 10 % нейтрального формаліну, проводили через кілька порцій етилового спирту висхідної міцності і заливали у парафінові блоки. З останніх на мікротомі МС-2 виготовляли зрізи товщиною 7 мкм, фарбували гема-токсиліном і еозином та альдегід-фуксином.

Фарбування гематоксиліном та еозином. Гістозрізи депарафінізували у двох порціях ксилолу по 2 хв в кожній, потім переносили у спирти знижуючої міцності по 2 хв в кожному (96°, 80°, 70°) і у дистильовану воду на 3 хв. Забарвлювали гематоксиліном Ерліха на 5 хв, споліскували у дистильованій воді протягом 3 сек та переносили зрізи у водопровідну воду на 5 хв. Проводили диференціацію в 1% розчині соляної кислоти (3 сек), промивали у водопровідній (5 хв) та дистильованій (3 сек) водах. У подальшому гістозрізи фарбували 0,1 % водним розчином еозину (0.5 хв) та промивали у дистильованій воді і переносили у спирти зростаючої міцності (70°, 80°, 96°) - по 2 хв у кожній, просвітлювали у двох порціях ксилолу по 2 хв та заводили у канадський бальзам [9].

В процесі виконання дослідження пухлин застосовували також гістохімічний метод, забарвлення альдегід-фуксином за Габа-Дибаном (для ідентифікації опасистих клітин та виявлення в їх цитоплазмі гранул) [9].

Приготування альдегід-фуксиону за прописом Габа: 0,5 г основного фуксину розчиняють у 100 мл кип'яченої дистильованої води, кип'ятять ще 1 хвилину. Після охолодження відфільтровують через паперовий фільтр. До фільтрату додають 1 мл концентрованої соляної кислоти паральдегіду. Фарбу залишають стояти протягом 4 днів до випадання осаду (у колбі чи флаконі зі

скляною пробкою), після чого відфільтровують. Для фарбування: основний розчин розводять таким чином: до 2,5 мл основного розчину фарби додають 7,5 мл 70° спирту 0,1 мл льодяної оцтової кислоти (2 краплі).

Метод забарвлення: 1) Перед фарбуванням гістозрізи депарафінують і зневоднюють (ксилол-I, ксилол- II, спирти 96°; 80°; 79°; дистильована вода); 2) Скельця з гістозрізами переносяться для окислення в розчин (1 мл 2,5% марганцевокислого калію, 1 мл 5% сірчаної кислоти та 6 мл дистильованої води) на 1 хвилину; 3) Знебарвлюють зрізи в 2-5 % р-н бісульфіті або метабісульфіті натрію 30 сек.; 4) Споліскують в дистильованій воді; 5) Занурюють скельця з гістозрізами в розчин альдегід-фуксину на 5 хвилин (250 мг сухої фарби розчинити в 25 мл 70° спирту і додати 0,3 мл льодянової оцтової кислоти); 6) Диференціюють у підкисленому спирті (100 мл. спирту + 0,5 мл соляної кислоти) під контролем мікроскопа, поки всі клітини не знебарвляться (від 10 секунд до 2-5 хвилин в залежності від фіксації та якості АФ); 7) Споліскують у 70° спирті і промивають у проточній воді; 8) Забарвлення у суміші Гельмі 60 сек. (Приготування суміші Гельмі: в 100 мл дистильованої води розчиняють 0.3 г світлого зеленого, 1 г оранжа Ж, 0.5 хромотропу 20 і додають 1 мл оцтової льодяної кислоти і 0,5 фосфорно-молібденової кислоти). Розчин може зберігатися тривалий час; 9) Споліскують в 0,2 % розчині оцтової кислоти; 10) Зневоднюють у 96° спирті та заводять в бальзам.

Препарати вивчали під світловим мікроскопом Leica DM-2500 з камерою Leica DFC450C та програмним забезпеченням Leica Application Suite 4.4, при збільшенні у 50–1000 разів. Патоморфологічну верифікацію ексцизійного матеріалу здійснювали згідно гістологічної класифікації Kiupel [100]. За гістологічного оцінювання MCTs виокремлювали неоплазії з високим та низьким ступенем злоякісності. Критеріями для перших пухлин було встановлення в 10 полях високої активності (hpf) при великому збільшенні (у 400 разів) наступних показників: мітотичний індекс - 7 або більше, наявність 3 або більше багатоядерних клітин, трьох або більше химерних ядер з найвищою мітотичною активністю або з найвищим ступенем анізокаріозу або виявлення

каріомегалії (тобто ядерний діаметр принаймні 10 % пухлинних клітин був зміненим щонайменше вдвічі). Усі інші мастоцитоми, які не відповідали цим критеріям, класифікували як пухлини з низьким ступенем злоякісності.

Матеріалом для проведення *електронно-мікроскопічного дослідження* були післяопераційні біоптати MCTs величиною 1 мм³, які відразу ж після вилучення фіксували у 2 % розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері Міллоніга рН 7,36 упродовж 2 годин в термосі за температури +2 - 4 °С. Після цього препарати тричі промивали у цьому самому буфері, дегідратували за допомогою серії спиртів висхідної концентрації (по 10 хвилин у 70, 80, 90 розчинах та трьох порціях 100 % по 10 хв. у кожному), переносили у 2 порції пропілен-оксиду по 5 хв. і просмолювали 24 год. в суміші аралдіту (Аралдіт М) та ущільнювача НУ964 1:1, ретельно змішавши. До 20 мл цієї суміші додавали 0,4 мл каталізатора DY064 та 0,6 мл дибутилфталату. Просмолені фрагменти переносили у поліпропіленові форми із свіжою сумішшю аралдіту на 24 год за 60 °С для полімеризації.

Після формування блоки закріплювали у тримачах і за допомогою скляного ножа отримували напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм та ультра тонкі зрізи товщиною 90 нм на ультрамікротомі LKB-2188 (Швеція). Зрізи фіксували на предметному склі, підігрівуючи на приладі фірми LKB-2208 MULTIPLATE (Швеція). Прикріплені зрізи фарбували метиленовим синім з дофарбовуванням кислим фуксином з наступним додаванням 1 краплі розчину синтетичного бальзаму та подальшим покриттям покривним склом. Ультратонкі зрізи монтували на опорні сітки, виловлюючи їх з дистильованої води з подальшим висушуванням у термостаті за 60 °С упродовж доби з наступним контрастуванням цитратом свинцю по Рейнольдсу та ураніл ацетатом. Зрізи вивчали і фотографували в трансмісійному електронному мікроскопі Tesla BS-500 при прискорювальній напрузі 60 кV. Оцифровували негативи за допомогою фотосканера Epson perfection V500 photo та пакету програмного забезпечення до нього.

РОЗДІЛ 3

**ПОШИРЕННЯ СПОНТАННИХ НЕОПЛАЗІЙ У СОБАК В
УМОВАХ м. ЛЬВІВ Й ПРИМІСЬКІЙ ЗОНІ ОБЛАСНОГО ЦЕНТРУ;
ДІАГНОСТИКА УРАЖЕННЯ ТВАРИН МАСТОЦИТОМОЮ**

**3.1. Моніторинг поширення онкологічних хвороб та структура
спонтанних неоплазій у собак**

За період 2016–2024 рр. в клініку кафедри хірургії поступило 5277 собак із хірургічною патологією. Серед них, згідно з показником превалентності онкологічних захворювань (кількості випадків хвороби за певний період часу), неоплазії були діагностованими у 848 тварин, що складає 16,2 %. В розрізі років превалентність захворювання собак на неоплазії знаходилася в межах 10,56-23,74 % (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Превалентність онкологічних захворювань собак у розрізі 2016–2024 рр.

Показники		Обстежено собак із хірургічною патологією	Виявлено онкологічно хворих	
			Кількість голів	%
Роки	2016	492	52	10,56
	2017	529	79	14,93
	2018	581	86	14,8
	2019	671	96	14,3
	2020	632	85	13,44
	2021	596	91	15,26
	2022	705	121	17,16
	2023	612	129	21,7
	2024	459	109	23,74
Всього		5277	848	16,20

За обстеження 848 онкологічно хворих собак виявлені спонтанні новоутворення та пухлино подібні захворювання були представлені значною різноманітністю нозологій і потребували певного систематизування. Тому, реєстрацію та нозологічну стандартизацію неоплазій проводили згідно з рекомендацією ВООЗ за клінічною характеристикою та анатомічною локалізацією, розподіляючи пухлини на неоплазії шкіри, молочної залози, зовнішніх статевих органів, голови і шиї, кісток і суглобів, кровотворної і лімфоїдної тканин, внутрішніх органів (у тому числі нервової системи, залоз внутрішньої секреції). Як показали результати досліджень (рис.3.1) та їх аналіз поміж онкологічних захворювань найчастіше реєстрували неоплазії молочної залози 311 (36,7 %) випадків та пухлини шкіри 285 (33,6 %) відповідно, рідше – пухлинні ураження органів репродуктивної системи 104 (12,3 %), неоплазії внутрішніх органів 72 (8,5 %), новоутворення у ділянці голови та шиї 49 (5,8 %). Для пухлинних уражень кровотворної і лімфоїдної тканин 20 (2,4 %) та пухлин кісток і суглобів 7 (0,8 %) характерними були спорадичні випадки захворювання.

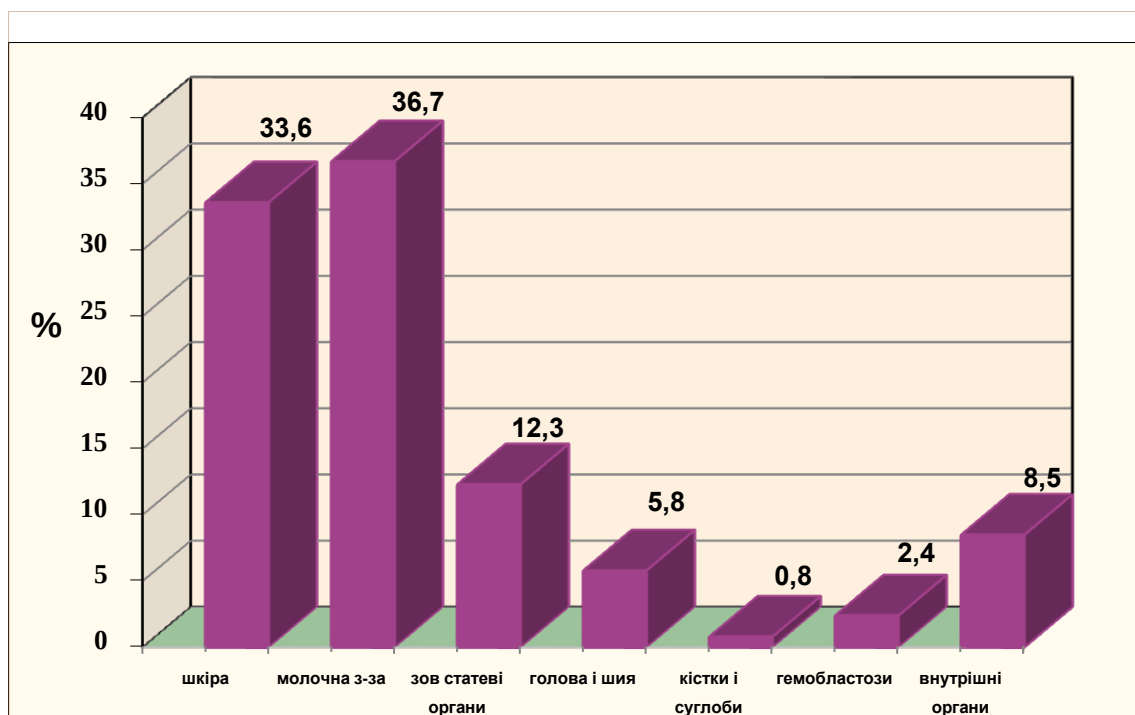


Рис. 3.1. Структура онкологічних хвороб собак за анатомо-топографічною локалізацією

Як засвідчили результати обстежень у 141 собаки, що становить 16,6 %, встановлено симультантне ураження пухлинами різних нозологічних форм; найчастіше траплялися новоутворення шкіри та молочної залози, рідше – шкіри і пухлини у ділянці голови та шиї. На підставі аналізу структури онкологічних захворювань упродовж 2021–2024 років відмічено тенденцію до збільшення випадків захворювання собак на неоплазії внутрішніх органів та шкіри і, водночас, зменшення випадків ураження пухлинами зовнішніх статевих органів, зокрема захворювання на венеричну трансмісивну саркому.

За обстеження 848 онкологічно хворих тварин нами з'ясовано породну, статеву та вікову структури захворюваності, а саме: 197 (23,2 %) собак були безпородними і 651 (76,8 %) – породні; з них - 401 пес (47,3 %) та - 447 (52,7 %) сук. Вік тварин сягав від 4 місяців до 16 років, проте найбільшу кількість пухлинних уражень діагностовано в собак віком 7-12 років, медіана захворюваності становила 8,5, а мода (найбільша кількість хворих) – 9,5 років.

Встановлено також, що серед тварин різних вікових груп частота захворюваності на різні нозологічні форми неоплазій характеризувалася певними особливостями. Зокрема, у молодих собак віком до 2 років реєстрували, зазвичай, папіломатозні ураження ротової порожнини та шкіри. У тварин віком 3–6 років найчастіше діагностували пухлини шкіри, статевих органів, зокрема трансмісивну венеричну саркому, пухлини кісток, дещо рідше новоутворення молочної залози та інших органів. Зростання показників захворюваності на 7–10 році життя тварин було зумовлене частими випадками неоплазій молочної залози та шкіри, а також новоутвореннями у ділянці голови та ураженнями кровотворної й лімфоїдної тканини. Серед тварин віком 11 років і старших, в цілому, відмічена тенденція до зниження захворюваності на пухлини, що, очевидно, пов'язано з геріатричним чинником, а саме невеликою кількістю собак, які доживають до цього віку. У тварин цієї вікової категорії неоплазії були представлені в основному новоутвореннями шкіри, молочної залози та внутрішніх органів. Отже можна стверджувати, що пухлини шкіри на відміну від інших неоплазій траплялися у тварин усіх вікових груп.

Як було повідомлено вище, у породній структурі захворюваності собак, неоплазії встановлено у 23,2 % безпородних та в 76,8 % породних тварин. При цьому пухлинною патологією було охоплено собак понад 40 порід (табл. 3.2).

Слід зауважити, що встановити породну схильності до конкретного неопластичного захворювання не завжди можливо. Адже кількість собак тої чи іншої породи в межах міста не є сталою, в т.ч. різною в розрізі років, а значить і кількість спорадичних випадків захворювання може бути адекватною кількості тварин даної породи. Відмічено, що серед собак найбільш поширених у Львівському регіоні порід прослідковується певна тенденція схильності до тих чи інших новоутворень. Так, окрім неоплазій молочної залози, які траплялися у тварин незалежно від породи, пухлини шкіри та підшкірної клітковини досить часто реєстрували у собак таких порід як пудель, німецька вівчарка, ротвейлер, стаффордширський тер'єр, спанієль, рідше у представників порід: шарпей, різеншнауцер, ердельтер'єр, фокстер'єр, боксер, пекінес, такса, французький бульдог, лабрадор-ретривер, доберман, кане-корсо та інших (таблиця 3.2).

Таблиця 3.2

Неоплазії шкіри та підшкірної клітковини у собак в розрізі порід

Порода	Кількість уражених тварин	%	Характер пухлин			
			доброякісні		злроякісні	
			к-ть	%	к-ть	%
Безпородні, метиси	26	9,12	19	6,6	7	2,45
Пудель	15	5,26	7	2,45	8	2,80
Німецька вівчарка	15	5,26	9	3,15	6	2,10
Стаффордш. тер'єр	15	5,26	8	2,80	7	2,45
Спанієль	14	4,9	6	2,10	8	2,80
Ротвейлер	13	4,56	6	2,10	7	2,45
Шарпей	12	4,2	5	1,75	7	2,45
Пекінес	12	4,2	7	2,45	5	1,75
Різеншнауцер	11	3,85	5	1,75	6	2,10
Англійський бульдог	11	3,85	5	1,75	6	2,10

продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	
Франц. бульдог	10	3,5	4	1,4	6	2,10
Чау-чау	9	3,15	4	1,4	5	1,75
Кері-блю тер'єр	9	3,15	6	2,10	3	1,05
Боксер	9	3,15	4	1,4	5	1,75
Фокстер'єр	8	2,8	5	1,75	3	1,05
Доберман	8	2,8	4	1,4	4	1,4
Такса	7	2,45	5	1,75	2	0,7
Мопс	7	2,45	3	1,05	4	1,4
Лабрадор	6	2,1	2	0,7	4	1,4
Ердельтер'єр	6	2,1	3	1,05	3	1,05
Йоркширський тер'єр	6	2,2	4	1,4	2	
Кане-корсо	5	1,75	2	0,7	3	1,05
Англійський мастиф	5	1,75	3	1,05	2	0,7
Алабай	5	1,75	3	1,05	2	0,7
Бульмастиф	5	1,75	4	1,4	1	0,35
Кавказька вівчарка	4	1,4	2	0,7	2	0,7
Скотч-тер'єр	4	1,4	1	0,35	3	1,05
Бордоський дог	4	1,4	3	1,05	1	0,35
Лайка	3	1,05	2	0,7	1	0,35
Бультер'єр	3	1,05	2	0,7	1	0,35
Басет	3	1,05	2	0,7	1	0,35
Джек-расел-тер'єр	2	0,7	1	0,35	1	0,35
Ши-тцу	2	0,7	2	0,7	0	-
Далматин	2	0,7	1	0,7	1	0,35
Курцхар	2	0,7	2	0,7	0	-
Інші породи	7	1,4	4	1,4	3	1,05
Всього	285	100	155	54,4	130	45,61

Для собак порід боксер, бордоський дог, кокер-спанієль, крім цього, були властиві також ураження органів ротової порожнини та гемобластози. Шкірну форму лімфоми діагностовано у собак породи стаффордширський тер'єр, спанієль, фокстер'єр. Ураження кісток та суглобів остеосаркомою встановлено у собак великих порід (кавказька вівчарка, алабай, ротвейлер, різеншнауцер. Дещо вищий рівень захворюваності сук (51,8 %) проти псів зумовлений більш частими випадками неоплазій молочної залози. При цьому частота ураження пухлинами іншої локалізації в собак обох статей була майже однаковою.

Зважаючи, що поміж усіх верифікованих неоплазій найбільш різноманітними за клінічним проявом були пухлини шкіри та підшкірної клітковини, нами було проведено аналіз їхньої нозологічної структури. Так, за обстеження 285 собак з неоплазіями шкіри у 155 або 54,4 % тварин гістологічно верифіковано доброякісні пухлини і в 130 або 45,6 % випадках – злоякісні. Доброякісні пухлини (рис. 3.2, а) були представлені, здебільшого, папіломою – 64 (22,45 %) випадки, рідше ліпомою – 37 (13,0 %), дерматофібромою – 29 (10,2 %) трихоепітеліомою – 15 (5,26 %). У 10 (3,5 %) випадках траплялися поодинокі пухлинні ураження (гемангіома, гістіоцитома, гепатоцелюлярна аденома, атерома, дермоїд та ін.). Злоякісні новоутворення (рис. 3.2, б) розподілені таким чином: мастоцитома – 49 (17,2 %), плоскоклітинний рак – 27 (9,47 %), меланома – 12 (4,2 %), базаліома – 11 (3,86 %), Т-клітинна лімфома шкіри – 11 (3,86 %), аденокарцинома – 9 (3,16 %), саркома (веретенноклітинна фібросаркома) – 8 (2,8 %), інші пухлини (неоплазії пара анальних та сальних залоз – 3 (1,05 %).

Слід зауважити, що встановлені нами результати моніторингу щодо поширення неоплазій в собак та їх нозологічна структура є досить схожими з повідомленнями зарубіжних дослідників [49, 50, 51], що свідчить про єдино спільні проблеми, які потребують консенсусного вирішення. Це торкається передусім пухлин шкіри в собак і зокрема мастоцитоми (MCTs), яка трапляється в щоденній практиці лікарів ветеринарної медицини досить часто, проте залишається на сьогодні недостатньо вивченою [69].



а



б

Рис. 3.2. Структура доброякісних (а) та злоякісних (б) пухлин шкіри в собак

Згідно з даними моніторингового дослідження, в умовах географічної популяції в м. Львів та ОТГ мастоцитому шкіри встановлено у 49 собак, що становить 17,2 % від загальної кількості тварин з неоплазіями шкіри. У розрізі породної приналежності (табл. 3.3) найбільшу кількість випадків уражень відмічено у собак породи стафордширський тер'єр, ротвейлер та спанієль, а також французький бульдог, чау-чау та лабрадор, відповідно, у перших встановлено по 5, а в других по 4 випадки МСТs.

Таблиця 3.3

Захворюваність собак на мастоцитозу шкіри в розрізі порід, (n=49)

Порода собак	Кількість тварин	%
стафордширський тер'єр	5	10,2
ротвейлер	5	10,2
спанієль	5	10,2
французький бульдог	4	8,1
чау-чау	4	8,1
лабрадор	4	8,1
шарпей	3	6,1
англійський бульдог	3	6,1
боксер	3	6,1
німецька вівчарка	3	6,1
безпородних собак	3	6,1
кане-корсо	2	4,0
доберман	2	4,0
мопс	2	4,0
середньоазіатська вівчарка	1	2,0
Всього	49	100

Серед собак породи шарпей, англійський бульдог, боксер, німецька вівчарка та безпородних собак встановлено по 3 випадки, а таких як кане-корсо, доберман

та мопс - по 2 випадки захворювання. Один випадок ураження МСТs був зареєстрований у пса породи середньоазіатська вівчарка (алабай). Тварини, 26 (53,06 %) псів і 23 (46,94 %) сук були віком від 4 до 16 років, некастровані.

У віковому аспекті кількість випадків захворювання на МСТs розподілено наступним чином (рис.3.3): собаки віком 4 роки – 1 випадок (2,0 %); відповідно, 5– 6 років – 4 (8,16 %); 7–8 років – 9 (18,4 %); 9–10 – 20 (40,82 %); 11–12 – 9 (18,37 %); 13–14 – 3 (6,12 %); старші 15 років – 3 (6,12 %).

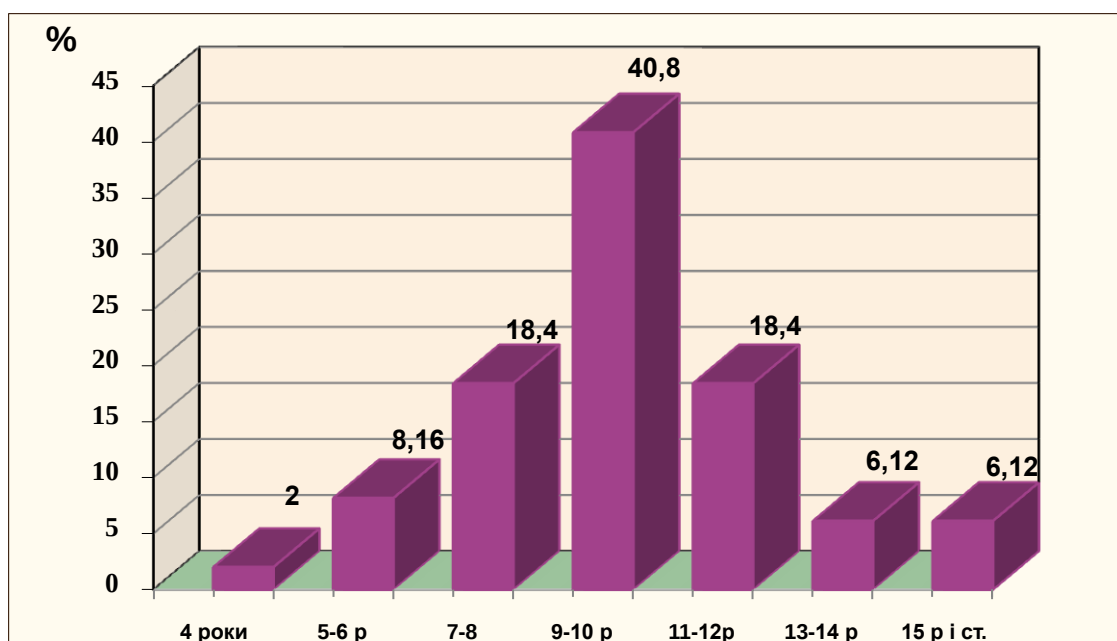


Рис. 3.3. Захворюваність собак на мастоцитому шкіри залежно від віку

Згідно аналізу статистичних даних найвищі показники захворюваності на мастоцитозу шкіри встановлено поміж тварин віком від 7 до 11 років, медіана захворюваності становила 9,5 роки, а мода (найбільша кількість хворих тварин) припадала на вік 9-10 років.

Отже, констатовані показники поширеності спонтанних неоплазій у собак Львівського регіону засвідчують, що на сьогодні пухлини шкіри, в тому числі МСТs, є найбільш пріоритетним та перспективним напрямом досліджень, особливо з питань розробки сучасних методів діагностики та лікування.

Результати досліджень опубліковані у наукових працях: [14, 98, 202].

3.2. Клініко-морфологічна та інструментальна діагностика мастоцитом шкіри у собак

Діагностика пухлин та пухлиноподібних захворювань потребує комплексного підходу і ґрунтується, як правило, на узагальнених результатах клінічного, низки лабораторних та інструментальних методів дослідження. Такий підхід є вельми важливим за дослідження мастоцитом, які, як відомо, з причини специфічної біологічної поведінки опасистих клітин (ОП) мають розмаїту клінічну симптоматику та непередбачуваний прогноз, чим і створюють багато клопотів при прийнятті рішень щодо алгоритму проведення діагностично-лікувальних заходів. Згідно Європейських консенсусних рекомендацій [47, 48, 54, 182] скринінгом для верифікації MCTs на етапі первинного чи доопераційного обстеження є проведення тонкогolkової біопсії пухлини та ідентифікація опасистих клітин за цитологічного дослідження біоптату. Водночас у рекомендаціях відмічено, що на сьогодні потребує постійного доповнення, переоцінювання та перегляду поточний стан знань патогенезу MCTs, а також вивчення питань поширення та можливих особливостей перебігу захворювання собак на мастоцитому шкіри у різних країнах чи на певних територіях. Безперечно, що важливим є встановлення таких даних в географічній популяції України.

Упродовж 2016–2024 рр. в умовах клініки кафедри хірургії ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького проходили повний курс діагностично-лікувальних заходів 49 собак з мастоцитомою шкіри. За надходження тварин в клініку, діагноз на мастоцитому встановлювали комплексно на підставі даних фізикального, соно- та рентгенографічного дослідження тварин та цитологічної ідентифікації неоплазій після виконання тонкогolkової трепан-біопсії. Верифіковані пухлини були оціненими згідно критеріїв клінічної класифікації за системою TNM.

Результати фізикального обстеження собак на момент поступлення в клініку, а також спостереження впродовж діагностично-лікувального періоду показали значну поліморфність зовнішнього вигляду і клінічного прояву MCTs. Так, у досліджуваних собак траплялися новоутворення які мали вигляд:

невеликих (0,5–1 см) щільних вузликів (рис. 3.4); вузлів величиною 3–5 см, зазвичай, схожих на ліпому (рис. 3.5); гігантських пухлин величиною 10 см та більше (рис. 3.6). В цілому, за первинного огляду встановлені розміри пухлин коливалися від 0,5 до 8,6 см в діаметрі і лише в одного собаки пухлина була гігантською (10,2 x 11,0 см) за величиною. В трьох собак ураження шкіри були плоскими, екземо подібними, схожими на нодулярний панікуліт (рис. 3.7). Встановлено, що у 44 (89,8 %) собак мастоцитоми були поодинокими і лише в 5 (10,2 %) випадках – множинні. Найбільш частим місцем локалізації мастоцитом були: тулуб - 22 (44,9 %) та кінцівки - 20 (40,8 %) випадків, рідше траплялися ураження в пахвовій, пахвинній та промежинно-перианальній ділянках 4 (8,2 %), а також на голові та шії – 3 (6,1 %), відповідно.

З'ясовано, що невеликі новоутворення (до 3 см), як правило, розміщувалися в товщі шкіри і були у вигляді добре відмежованого, рухомого пухлинного вузла округлої або еліпсоподібної форми (рис. 3.4.). На початковому етапі розвитку, в окремих тварин МСТ проявлялася лише як слабо оконтуроване вузлувате ущільнення в товщі шкіри з якого, з перебігом певного часу, формувався пухлинний вузол, який захоплював усю товщину шкіри.



Рис. 3.4. Пес породи англійський бульдог, вік 8 років. Мастоцитома на вентральній ділянці живота



Рис. 3.5. Сука породи чау-чау, вік 9 років. МСТs в ділянці тулуба (величиною 6,2х4,7 см, з виразковими дефектами у зоні пухлини та багряно-синюшним відтінком шкіри)



Рис. 3.6. Пес породи ротвейлер, вік 10 років. Гігантська мастоцитома в ділянці стегна

Слід відмітити, що для більшості мастоцитом, на відміну від інших солідних пухлин шкіри, збільшення їх величини було спровоковане, зазвичай, епізодичним виникненням запального процесу та набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, що очевидно пов'язано з синдромом активації та дегрануляції мастоцитів, надмірною проліферацією атипових опасистих клітин і, відповідно, збільшенням об'єму пухлинної маси.

Встановлено, що у 40,8 % досліджуваних тварин швидкість розвитку неоплазій була надзвичайно стрімкою, оскільки за $56,5 \pm 1,91$ діб пухлини подвоїли свою величину що є свідченням значної агресії пухлинного росту (рис. 3.5). Досить швидким був ріст неоплазій у 28,5 % собак, в яких час подвоєння величини первинної пухлини сягав, в середньому, чотири місяці ($122,1 \pm 10,6$ доби). Водночас, за даними анамнезу з'ясовано, що в 18,4 % собак період розвитку новоутворень тривав впродовж двох років. Інформація щодо розвитку пухлин у 12,2 % інших собак на час проведення дослідження була невідомою. Слід відмітити, що в окремих тварин швидкий ріст і, відповідно, збільшення величини показника T пухлин ми спостигали і під час проведення діагностично-лікувальних заходів. Таким чином, можна вважати, що швидкість подвоєння пухлинної маси мастоцитом є одним із вагомих клінічних прогностичних чинників при оцінюванні мастоцитоми.

Результати дослідження місцевого процесу та дані спостережень за перебігом хвороби засвідчили значну варіабельність клінічного прояву MCTs. Так, при пальпації неоплазії були м'якої (на початковому періоді розвитку), а з перебігом часу, щільно-еластичної консистенції, з гладкою або горбистою поверхнею. У 43 (87,7 %) випадках характерними ознаками мастоцитоми були: набряк та запалення як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, алопеція над пухлиною, еритема та наявність виразок шкіри, болючість при пальпації тощо (рис. 3.8, 3.9). Можна зауважити, що ріст та розвиток мастоцитом маскується, зазвичай, запальним процесом, дифузним набряком, алергічною реакцією та іншими патологічними процесами, які обумовлюють розмаїтість зовнішнього вигляду і симптоматики цих неоплазій

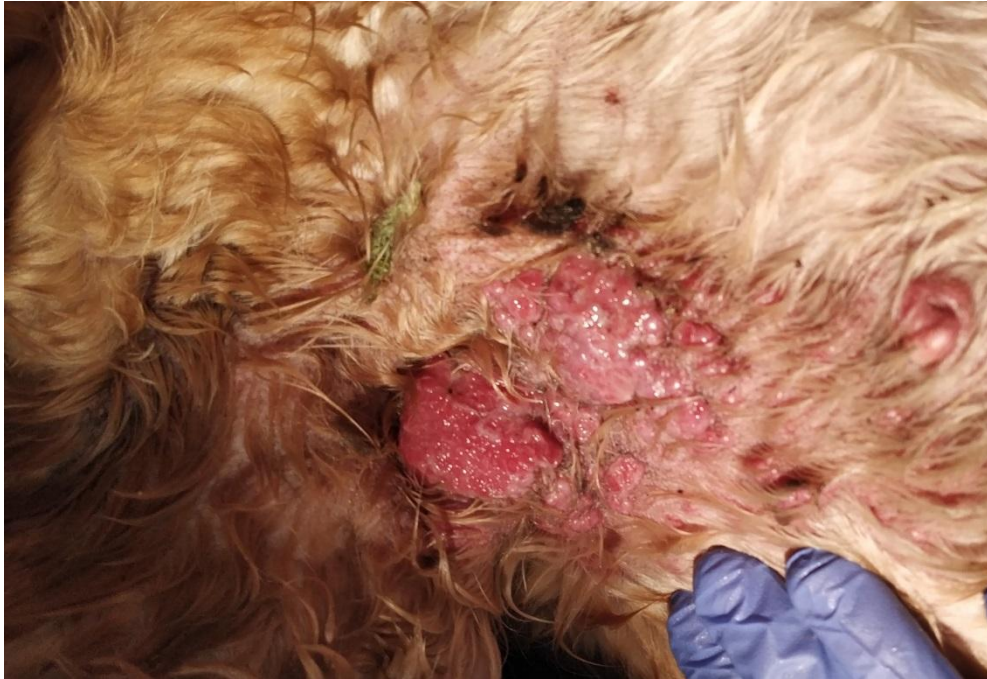


Рис. 3.7. Пес породи спанієль, вік 9 років. Мастоцитома в ділянці лівої пахвової ділянки та грудної клітки (екземо подібне ураження шкіри)



Рис. 3.8. Безпородний собака, вік 11 років. Мастоцитома розміром 2,5 х 2,0 см в ділянці стегна



Рис. 3.9. Пес породи лабрадор, вік 7 років. МСТs в середній третині бокової поверхні шиї (виразки та рубці на поверхні пухлини, набряк і запалення навколишніх тканин)

Усі перелічені вище симптоми вказують на позитивний симптом Дар'є, що зазвичай є клінічним підтвердженням діагнозу МСТs.

Результати спостережень засвідчили також, що постійне подразнення та травмування пухлин є одним із чинників періодичного чи постійного загострення набряково-запального процесу, утворення виразок, збільшення пухлинного вузла та, відповідно, швидкого росту неоплазій. Відмічено також, що окрім підвищеної місцево вираженої реактивності шкіри та болю для МСТs характерним був свербіж в ділянці пухлини, спричинений вивільненням ОК біологічно активних речовин, зокрема, гістаміну та специфічних IgE-антитіл. З причини дії таких агентів собаки постійно лизали (рис. 3.10), дряпали і навіть гризли пухлину, провокуючи тим її подразнення і ріст. Безперечно підтвердження причетності вищевказаних чинників до прогресування пухлин було встановлено нами за стрімко прогресуючого перебігу мастоцитоми при локалізації на тазових кінцівках, в ділянках пахвини, промежини, шиї, тобто частинах тіла тварини доступних до само травмування (рис. 3.11).



Рис. 3.10. Пес породи ротвейлер, вік 10 років. Гігантська мастоцитома в ділянці колінного суглобу та ураження підколінного лімфатичного вузла

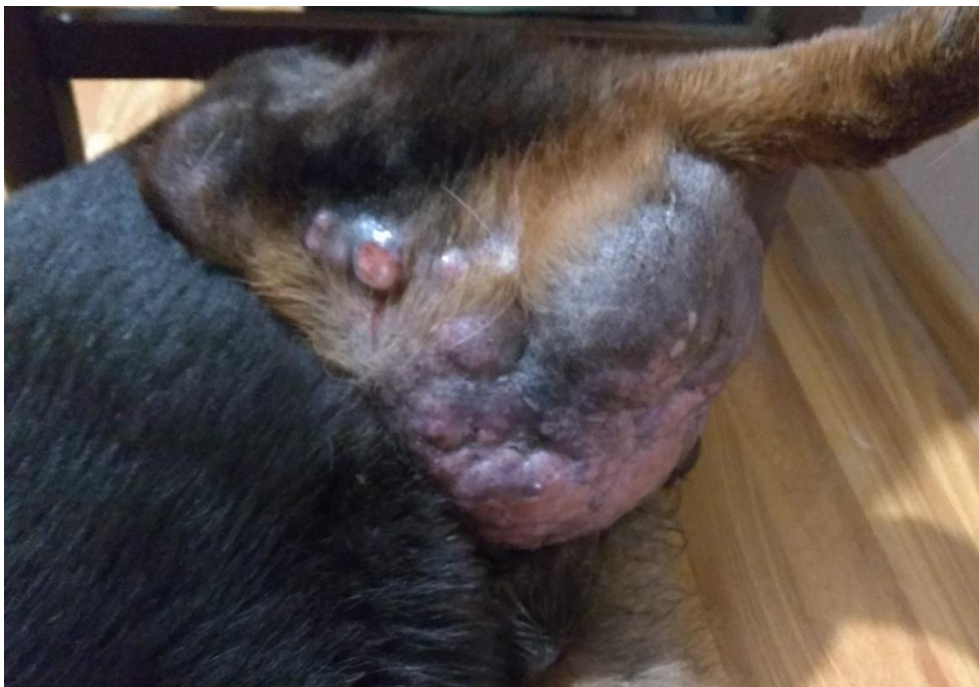


Рис. 3.11. Пес породи ротвейлер, вік 10 років. Динаміка прогресування МСТs та поширення неоплазії впродовж 45 діб на медіальну поверхню стегна і в ділянку паху

Важливими показниками, що можуть свідчити про злоякісність MCTs є її величина, швидкість росту, а також ступінь проростання в навколишні тканини, насамперед, ураження регіонарних лімфатичних вузлів. Тому, за клінічного обстеження увагу звертали на підщелепні, пахвові (аксиллярні), поверхневі пахвинні, підколінні, а за потреби й інші регіонарні лімфатичні вузли.

За результатами первинного обстеження 49 собак у 29 (59,2 %) із них суттєвих змін зі сторони лімфатичних вузлів не виявлено, останні практично не пропальповувалися, що свідчило про відсутність їхньої реакції на патологічний процес. У 10 (20,4 %) собак регіонарні лімфатичні вузли дещо збільшені, проте не болючі, рухливі, не ущільнені, з гладкою поверхнею. Водночас у 10 (20,4 %) інших собак із пухлинами великих розмірів (більше 10 см в діаметрі) лімфатичні вузли були величиною 2–3 см, малорухомі, щільної консистенції. У окремих тварин пальпація регіонарних лімфатичних вузлів була досить ускладненою, а інколи і не доступною через їх зростання та фіксацію до навколишніх тканин. Результати цитологічного дослідження вказували на генералізацію патологічного процесу в лімфатичні вузли та можливе поширення (метастазування) у внутрішні органи.

Підсумовуючи результати досліджень можна зробити висновок, що отримані дані доповнюють та розширюють знання щодо особливостей симптоматики мастоцитом шкіри у собак, що є надзвичайно важливим за розпізнавання даної неоплазії поміж багатьох інших пухлинних і не пухлинних уражень шкіри (гістіоцитома, ліпома, шкірна лімфома, карцинома сальних залоз, гранульма, нодулярний панікуліт, хронічне запалення шкіри тощо ін.).

Згідно TNM класифікації пухлин схема обстеження тварин передбачає доповнення результатів клінічного дослідження даними інструментальної діагностики. Однак, на сьогодні у доступній вітчизняній літературі не завжди можна віднайти достатній об'єм інформації щодо застосування рентгено- та ультразвукографічного методів досліджень, та, відповідно, їх результативності за диференційної діагностики окремих патологій шкіри у собак і мастоцитом

зокрема. Зважаючи на це, кожна із досліджуваних собак піддавалася рентгено- та ультразвуковому дослідженню як при поступленні в клініку, так і через певні проміжки часу, що дозволило прослідкувати динаміку патологічних процесів і поведінку пухлин. За результатами досліджень мастоцитом встановлено три типи візуалізації і, відповідно, різновиди ознак, що характеризували обмежено вузловий, інфільтративно вузловий та дифузно-інфільтративний типи рентгенологічної візуалізації таких неоплазій. Як показав аналіз рентгенограм, для обмежено вузлового росту властива гомогенна, рідше неоднорідна рентгенологічна тінь пухлинного вузла округлої або овальної форми, яка розміщена в товщі шкіри. У випадках інфільтративно вузлових пухлин візуалізувалися тіні пухлини без чітких контурів, при цьому структурні зміни були вираженими як у товщі шкіри, так і в підшкірній клітковині. При дифузно-інфільтративному типі росту пухлин, із-за потовщення шкіри та також набряку підшкірної клітковини встановити чітку межу новоутворення було ускладненим. Рентгенографічна тінь такої мастоцитоми виглядає за об'ємом значно меншою від її фактичної величини, встановленої за фізикального обстеження. Аналіз динаміки росту мастоцитом показав, що інфільтративно вузловий та дифузно-інфільтративний типи рентгенологічної візуалізації неоплазій характеризують процес їх малігнізації.

За рентгенографічного обстеження органів грудної та черевної порожнин у досліджуваних собак при поступленні в клініку чітко виражених рентгенологічних змін, що могли вказувати на метастазування первинної пухлини у внутрішні органи не виявлено. Проте, за результатами моніторингу динаміки захворювання в однієї собаки на 183 добу спостереження встановлено позитивно-сумнівне рентгенографічне зображення, що могло свідчити про метастазування мастоцитом в органи черевної порожнини, зокрема, селезінку. Тому основна увага за досліджень акцентована на результат УЗД ділянки локалізації неоплазії та внутрішніх органів.

Встановлено, що сонографічна структура мастоцитом залежить від стадії неопластичного процесу, місця локалізації та анатомічного поширення

патологічного процесу. Зазвичай мастоцитоми, які локалізувалися в товщі дерми мали вигляд неоднорідних, з нерівними краями і нечіткими контурами, переважно, гіпоехогенних структур. Ознаки інфільтрації навколишніх тканин свідчили про поширення в глибше лежачі шари шкіри та низьку тенденцію таких пухлин до капсулоутворення. Сонографічні дослідження пухлин в динаміці показали, що для більшості мастоцитом характерною була дифузна кістозна дегенерація, що сонографічно візуалізувалася комірчастими утвореннями з перегородками та анехогенним вмістом. З перебігом часу такі утворення зливалися в одну солідно-кістозну структуру з ексцентричним вузловим гіпоехогенним компонентом (рис. 3.12). Посилена периферична васкуляризація мастоцитоми та гіпоехогенна дифузна інфільтрація прилеглих тканин в таких випадках були ознакою запального набряку перинеопластичного компоненту (рис. 3.12).



Рис. 3. 12. Локалізація мастоцитоми в дермальному шарі. Периферична васкуляризація псевдо кісти

За проведення сонографії окремих мастоцитом, що характеризувалися постійно превалюючим запаленням, у товщі неоплазії відмічено відкладення солей кальцію. Мікро- та макрокальцинати в товщі тканин (рис. 3. 13), мали

вигляд гіперехогенного тінеутворюючого вузлового утворення без ознак інтранодулярної васкуляризації.

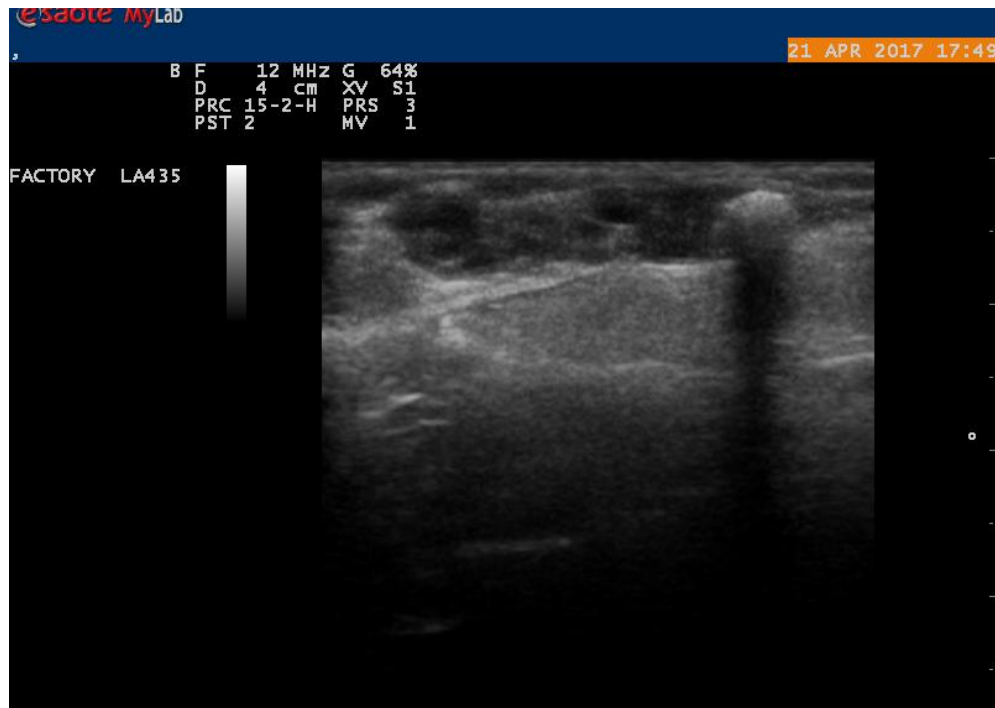


Рис. 3. 13. Локалізація мастоцитом в дермальному шарі. Наявність макрокальцинату в пухлинній тканині

Як показав аналіз результатів сонографічних досліджень найбільш виражені ознаки малігнізації неоплазій встановлено у випадках поширення мастоцитом в глибшележачі шари шкіри та інфільтрації в підшкірну клітковину. За таких умов непластичний процес набував вигляду солідного гіперваскулярного вогнища з центральним типом васкуляризації, яка була переважно хаотичною, з великою кількістю анастомозуючих ділянок з турбулентним потоком (рис. 3. 14). Утворення таких вогнищ вказувало на високоактивну фазу неопластичного процесу, тобто інтенсивний його ріст на тлі дифузної інфільтрації прилеглих тканин та вираженої запальної реакції.

За генералізації неопластичного процесу та поширенні мастоцитом у внутрішні органи, вторинних уражень зазнавали селезінка та печінка, що може свідчити про переважання гематогенного шляху метастазування мастоцитом.

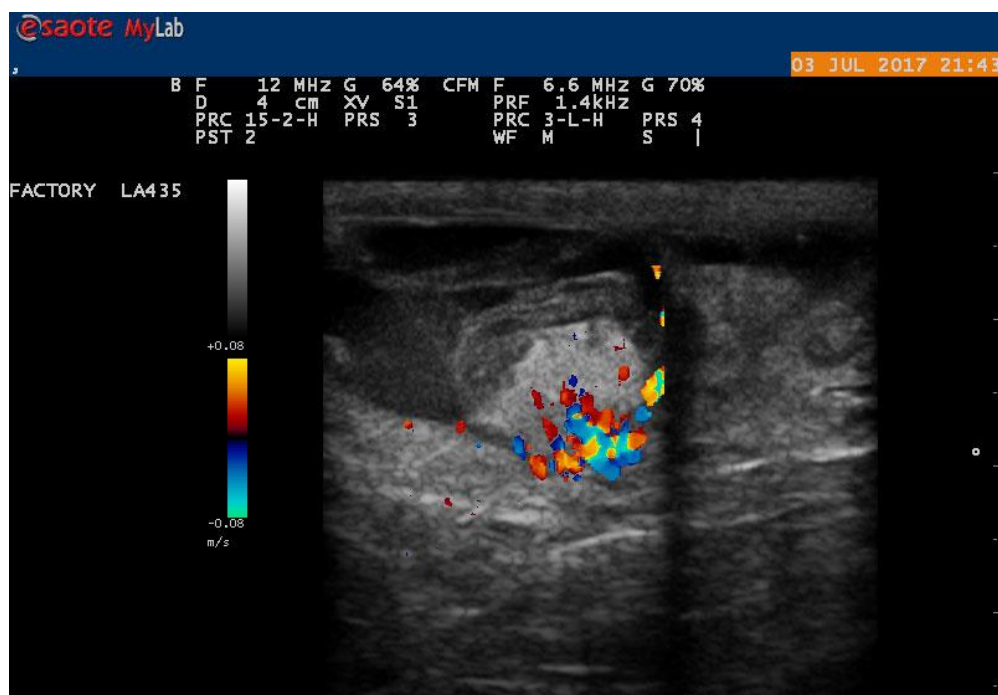


Рис. 3. 14. Проростання мастоцитом в підшкірну клітковину. Солідне гіперваскулярне вогнище неоплазії. Перинеопластичний набряк

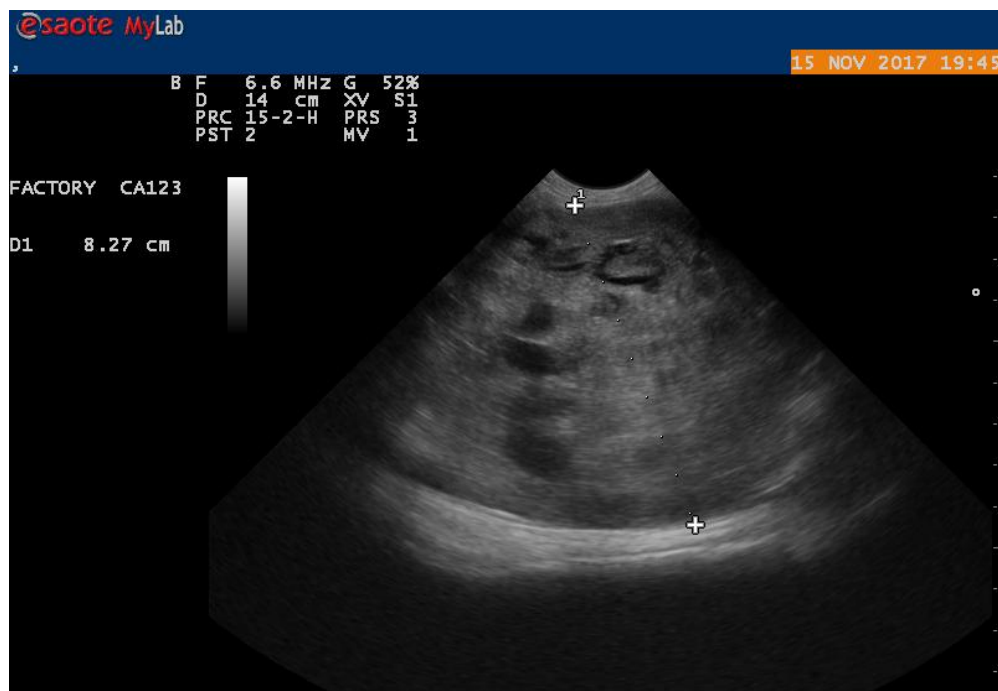


Рис. 3. 15. Метастази мастоцитом у селезінку. Щільне об'ємне утворення з вогнищами некротичного розпаду та псевдокістозної дегенерації

Сонографічно вогнища у внутрішніх органах мали схожу між собою структуру і візуалізувалися як щільні, неоднорідні, з чіткими контурами утворення, які мали посилену хаотичну васкуляризацію з ознаками турбулентного кровотоку, а також високу тенденцію до псевдокістозної та некротичної дегенерації, про що свідчила присутність в пухлинній тканині множинних осередків різного розміру з анехогенним вмістом (рис. 3,15.).

Таким чином, за первинного обстеження тварин на момент поступлення в клініку, на підставі вище вказаних результатів дослідження було встановлено клінічну класифікацію мастоцитом за системою TNM (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Класифікація мастоцитом у собак за системою TNM, (n=49)
(станом на момент поступлення в клініку)

Стадія пухлини	T, величина пухлини	N, лімфатичні вузли	M, метастази	Кількість тварин	%
1	T1a	N0	M0	9	18,4
	T1a	N1	M0	1	2,04
2	T2a	N0	M0	7	14,3
	T2a	N1a	M0	6	12,2
3	T2a	N1б	M0	10	20,4
	T2б	N1б	M0	1	2,04
	T3a	N0	M0	6	12,20
	T3a	N1б	M0	4	8,18
	T3б	N1a	M0	4	8,18
4	T3б,в	N1б	M1	1	2.04

Примітка: T1 – пухлина не більше 3 см; T2 – пухлина величиною 3–5 см; T3 – пухлина більше 5 см; а – не фіксована, б – фіксована до шкіри, в – фіксована до глибше розташованих тканин; N0 – регіонарний лімфовузол не пальпується; N1 – регіонарний лімфовузол пальпується на стороні ураження; N1a – наявність метастазу в лімфовузлі сумнівна; N1б – наявність метастазу у лімфовузлі доведено морфологічно (цитологічно); M0 – відсутність віддалених метастазів; M1 – наявність віддалених метастазів. (n) – кількість тварин, у яких встановлено зміни за показниками TNM.

Як засвідчив аналіз даних таблиці 3.4, за первинного обстеження, проведеного відповідно до критеріїв клінічної TNM класифікації пухлин, поміж 49 собак із мастоцитомою шкіри встановлено I клінічну стадію розвитку пухлинного процесу (T1aN0M0, T1aN1M0) у 10 (або 20,5 %) тварин, II (T2aN0M0, T2aN1aM0) – в 13 (26,5 %) випадках, III (T2aN1bM0, T2bN1bM0, T3aN0M0, T3aN1bM0, T3bN1aM0), відповідно, у 25 (51,0 %) собак і IV стадію (T3b,b N1bM1) в 1 (2,0 %) тварини.

Отже, підсумовуючи результати комплексного обстеження онкологічно хворих тварин, можна зробити висновок, що отримані дані клінічного, ультразвукового та рентгенографічного дослідження, проведеного нами при поступленні собак в клініку, а також оцінювання виявлених у них пухлин за алгоритмом системи TNM, суттєво доповнили та розширили знання щодо особливостей симптоматики і клінічного перебігу, а також окремих ланок патогенезу мастоцитоми шкіри у собак. Водночас, встановлена клінічна стадія MCTs була використана нами для планування адекватного протоколу лікувальних заходів, а в подальшому, у комплексі із результатами патогістологічного дослідження видаленої пухлини та встановлення ступеня її злоякісності (pTNM), для визначення перебігу захворювання та прогнозу.

Результати досліджень опубліковані у наукових працях: [14, 98, 202]

3.3. Цитологічна та гістологічна верифікація мастоцитом

Незважаючи на стрімкий розвиток та значні новітні досягнення в галузі ветеринарної онкології патоморфологічні дослідження на сьогодні не втратили своєї актуальності і залишаються «золотим стандартом» в алгоритмі діагностики онкологічних захворювань. Важливо відзначити, що особливо важливе значення за діагностики пухлин опасистих клітин відводиться результатам морфологічної верифікації (застосуванню як цитологічного, так і гістологічного методу). Як представлено у попередньому розділі провідну роль в ідентифікації MCTs, з поміж виявлених в собак за первинного обстеження різних пухлин шкіри, було покладено на результат цитологічного дослідження. Водночас, для встановлення заключного діагнозу, гістологічного типу новоутворення і ступня його злоякісності, а також для класифікації пухлин, відповідно, прогнозу біологічної поведінки неоплазій ОК та виживаності тварин основну увагу акцентовано на результат гістологічного дослідження ексцизійного чи операційного матеріалу.

Згідно результатів досліджень (розділ 3.2), клінічний прояв мастоцитом, на відміну від інших пухлин шкіри, часто супроводжується запаленням, дифузним набряком та іншими процесами, які як правило, обумовлюють структурні зміни не лише пухлинного вузла, а й навколишніх тканин. За таких умов нерідко виникають труднощі у виконанні тонкоголкової біопсії (FNAB) пухлин і регіонарних лімфатичних вузлів, а якість отриманого біоптату при цьому не завжди може бути придатною для цитологічного дослідження. Так, за результатами порівняльних досліджень біопсійного матеріалу, отриманого “сліпим” методом тонкоголкової біопсії та прицільно під контролем УЗД (рис. 3.16), нами обґрунтовано суттєві переваги останнього. Встановлено, що понад 38 % біоптатів, отриманих “сліпою” біопсією були непридатними або малоінформативними для цитологічних досліджень через недостатній або неякісний (непрезентабельний) клітинний вміст отриманого матеріалу, і це потребувало повторного проведення процедури. Серйозною загрозою за такої біопсії є ризик дисемінації пухлинних клітин у випадках

наскрізного проколу пухлинного вузла або потрапляння голки в судини. Водночас, використання сонографії дозволяло встановити межі, форму і розміри пухлини, її ехоструктуру, тканинну перфузію (за доплерографії) що, відповідно, забезпечило візуальний контроль прицільного відбору матеріалу з конкретних вогнищ неоплазії. Окрім цього, проведення сонографії дозволило отримати також додаткову клінічну інформацію про стан неоплазії, причому в режимі реального часу. Наприклад, сонографічна візуалізація солідних гіперваскулярних вогнищ з центральним типом васкуляризації, на тлі дифузної інфільтрації неоплазії в підшкірну клітковину, за вираженої перинодулярної запальної реакції навколишніх тканин є свідченням малігнізації мастоцитом. Безперечно, що такі дані є вкрай важливим доповненням для цитологічного оцінювання біоптату та інтерпретації діагнозу.



Рис. 3. 16. Виконання прицільної тонкоголкової біопсії під контролем УЗД

Таким чином можна відмітити, що незважаючи на більш кропітку підготовку та затрати більшого часу на виконання тонкоголкової біопсії під контролем УЗД, дана маніпуляція дозволила нам отримати якісний матеріал для проведення цитологічної верифікації мастоцитом.

Згідно повідомлень численних літературних джерел скринінгом для верифікації мастоцитом за цитологічного дослідження біоптатів пухлин є виявлення атипових ОК. Отож, встановлення первинного діагнозу в нашому дослідженні ґрунтувалося на цитологічній ідентифікації мастоцитів – великих округлих клітин із гранулами пурпурового кольору в базофільній цитоплазмі.

Атипові опасисті клітини різні за величиною, з великими, округлими ядрами зі світло-голубуватим забарвленням, що вказує на низький вміст хроматину. Площа цитоплазми одних клітин відносно велика, в інших – представлена у вигляді вузького обрамлення (рис. 3.17). Слід зазначити, що інтенсивність забарвлення цитоплазми опасистих клітин різна. В цитограмі відзначали групи клітин з блідо-бузковою цитоплазмою та поодинокими фіолетовими вкрапленнями, які проглядались на тлі слабо оконтурованих світлих опасистих клітин. Серед них чітко виділялись темні ОК, цитоплазма яких інтенсивно всіяна дрібно-фіолетовими (азурофільними) гранулами, що надавало їм темно-фіолетового забарвлення (рис. 3.17). Інтенсивно забарвлені гранули в мастоцитах притаманні для клітин у спокої, а слабо забарвлені - характерні для активних клітин в стані дегрануляції.

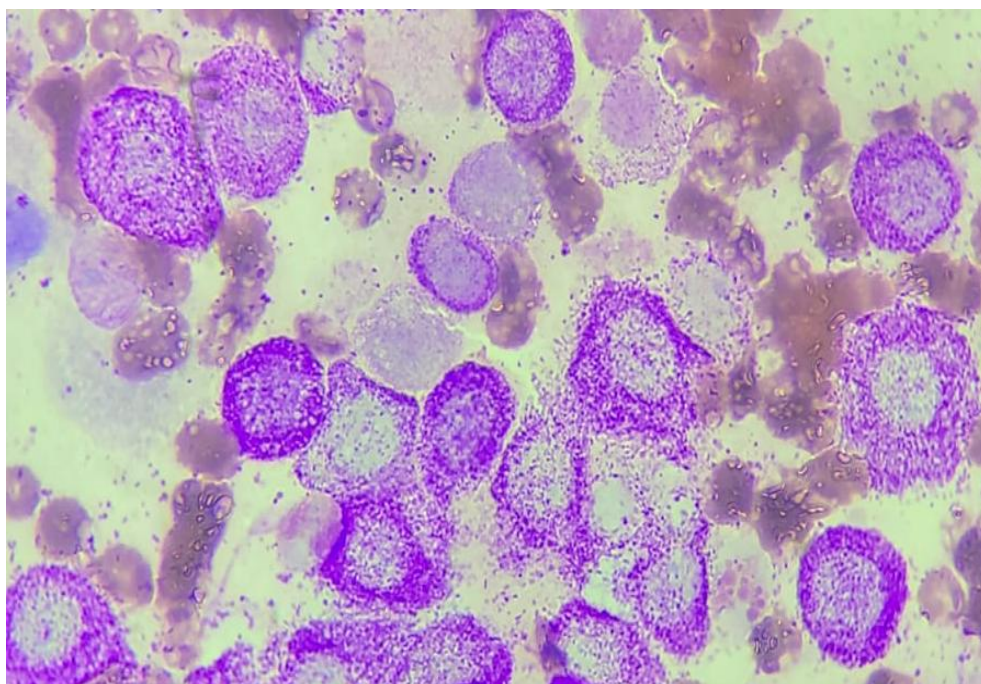


Рис.3.17. Цитограма. Скупчення різних за величиною, атипових світлих і темних опасистих клітин. За Романовським. x1000

Потрібно зауважити, що під час цитологічного дослідження увагу було акцентовано також на морфологічну структуру опастистих клітин, зокрема, окрім присутності внутрішньо цитоплазматичних гранул, проводили оцінювання щодо наявності ядерного плеоморфізму, мітотичних фігур, дво- або багатоядерності та анізокаріозу тощо. Тобто, критеріїв дворівневої класифікації за системою Kiupel, за якими розділяють MCTs на низько- та високозлоякісні.

Встановлено, що за MCTs низького ступеня злоякісності найбільш типовою цитологічною ознакою було виявлення мастоцитів округлої або овальної форми, розміром в 1,5–3 рази більше нейтрофіла, які розташовувались групами з різною чисельністю клітин (рис. 3.18). Ядра таких мастоцитів круглої або овальної форми, чітко окреслені. Візуалізація ядра ускладнена, оскільки воно слабо профарбовується та вкрите гранулами, що абсорбують велику кількість барвника і затінюють його. Цитоплазма більшості клітин густо заповнена темно-фіолетовими гранулами, внаслідок чого такі клітини мали інтенсивне синьо-фіолетове забарвлення. Водночас клітини з меншим вмістом гранул в цитоплазмі набували світло-фіолетового відтінку.

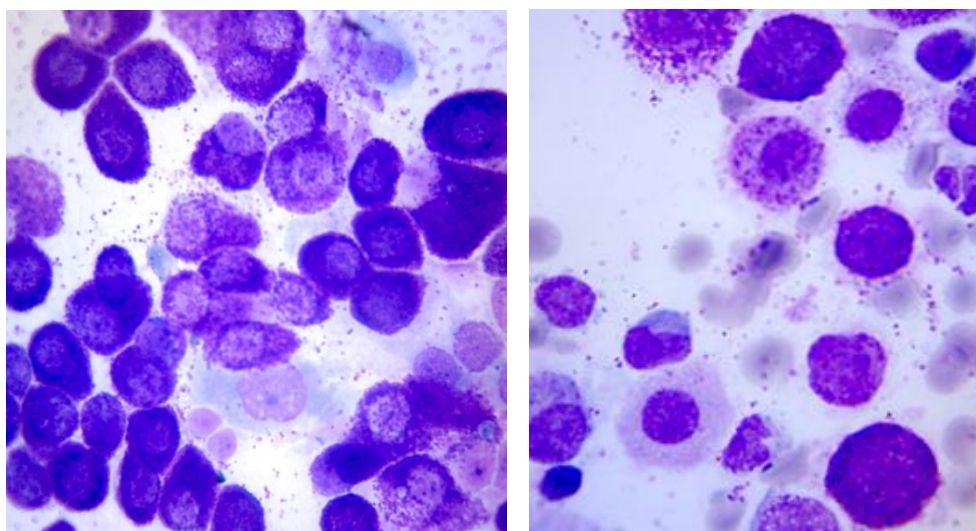


Рис. 3.18. Цитограма мастоцитомою з низьким ступенем злоякісності. Мономорфне скупчення атипових ОК різних за величиною та інтенсивністю забарвлення, змішаної зернистості (більшість клітин сильно гранульовані і менша кількість менш гранульованих) За Романовським. x1000

У мазках біоптатів отриманих з низько злоякісних МСТs траплялися поодинокі двоядерні та гігантські мастоцити (рис. 3.19), а також, при великому збільшенні, в цитограмах окремих пухлин виявлено поодинокі клітини у стані мітозу.

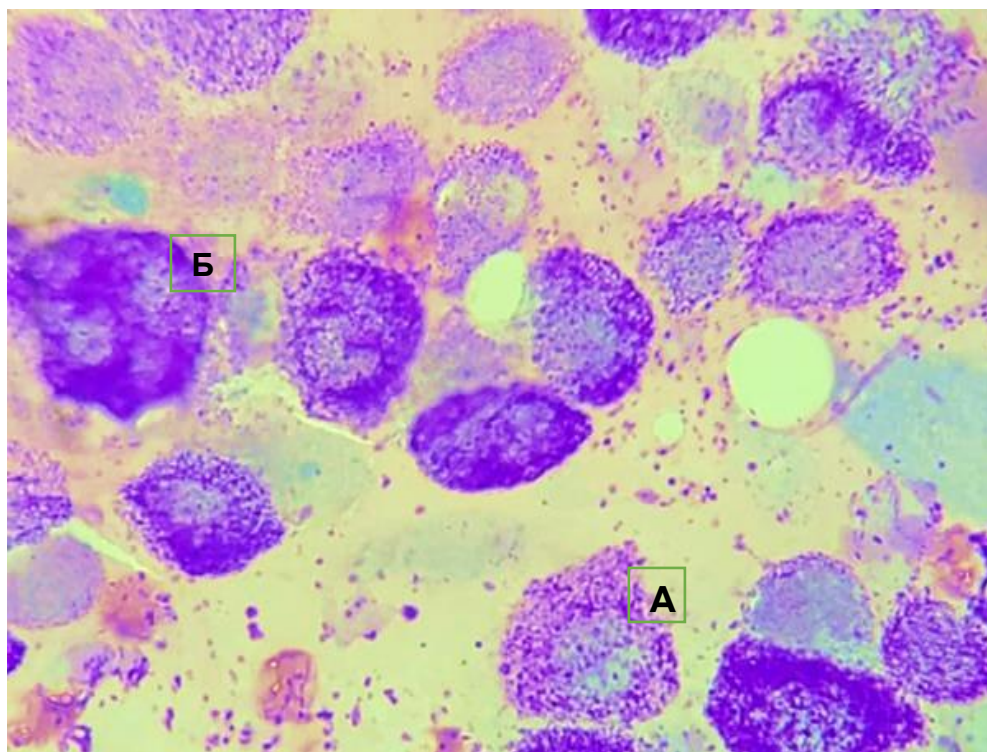


Рис. 3.19. Цитограма. Популяція світлих і темних атипових мастоцитів, серед яких двоядерні (А) і гігантські (Б). За Романовським x1000

Для цитограм МСТs високого ступеня злоякісності (рис. 3.20) характерною була візуалізація в досліджуваних мазках атипових опасистих клітин які розташовувались у вигляді щільних скупчень або пластів. Цитоплазма більшості клітин з нечіткими контурами та низьким вмістом світло-фіолетових гранул. В окремих клітинах внутрішньо цитоплазматичні гранули відсутні взагалі.

У досліджуваних мазках часто траплялися клітини із ядрами неправильної форми, а також двоядерні і рідше багатоядерні мастоцити. При великому збільшенні мікроскопа в окремих цитологічних мазках число виявлених мітозів могло сягати до п'яти фігур.

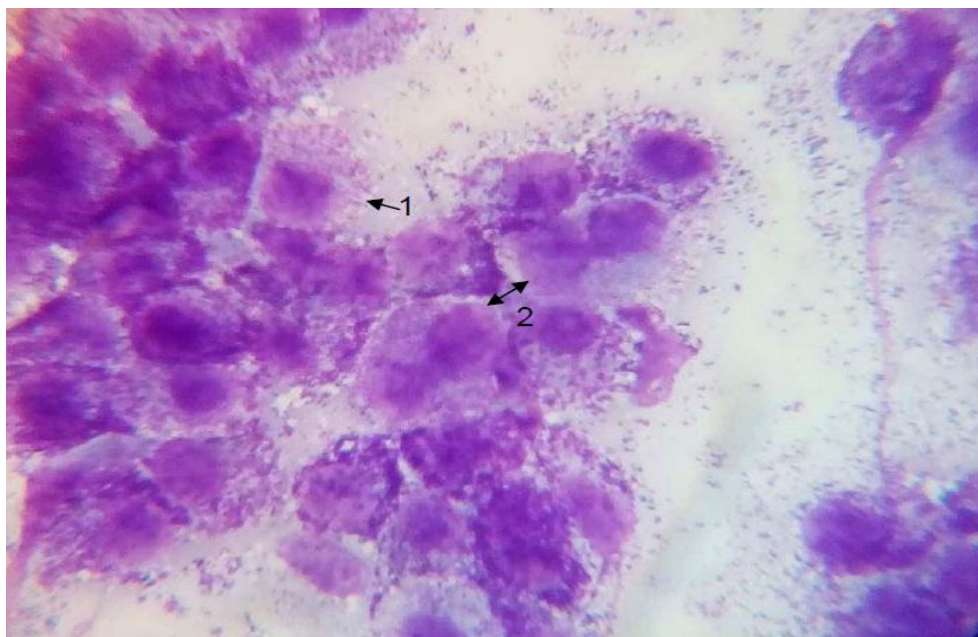


Рис. 3. 20. Цитограма мастоцитомы високого ступеня злоякісності. Мастоцити з невеликою кількістю внутрішньо цитоплазматичних гранул й незначним анізокаріозом; ядерний плеоморфізм – присутність не округлих ядерних форм (1); наявність двоядерних (2) або багатоядерних клітин. За Романовським-Гімза. Ок.10, об.100

За результатами досліджень встановлено кореляцію між даними цитології та клінічним проявом МСТs. За цитологічного оцінювання аспіратів регіонарних лімфатичних вузлів від 13 собак поряд з лімфоїдними клітинами та нейтрофілами було виявлено скупчення атипових поліморфних мастоцитів у вигляді гнізд по 3–5 клітин, що є свідченням метастазування пухлин. В усіх цих собак, згідно клінічної (TNM) класифікації, пухлини мали III і IV стадії, були великими за розмірами, а регіонарні лімфатичні вузли збільшеними. У цитологічних мазках восьми собак із I та II клінічною стадією неоплазії виявлено скупчення великої кількості нейтрофілів та лімфоїдних елементів (великих лімфоцитів, пролімфоцитів і лімфобластів) і, водночас, наявність поодиноких мастоцитів. Беручи до уваги дані фізикального дослідження (виразки на поверхні шкіри в ділянці пухлини, лімфаденомегалія) у даних випадках можна було передбачати реактивний лімфаденіт. За цитологічного дослідження аспіратів із лімфатичних вузлів що не були збільшеними патоморфологічних змін не встановлено.

Таким чином, за результатами доопераційного клінічного обстеження 49 досліджуваних собак та цитологічної оцінки біопсійного матеріалу відібраного із пухлин і регіонарних лімфатичних вузлів мастоцитому низького ступеня злоякісності констатовано у 38 (77,55 %) тварин і у 11 (22,45 %) випадках неоплазії були охарактеризовані як високозлоякісні.

Отримані дані використано нами за планування лікувальних заходів, зокрема для визначення меж хірургічного поля під час проведення оперативного видалення пухлин, так і для встановлення заключного патоморфологічного діагнозу, який формулювали на підставі результатів гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу.

Аналіз літератури показав, що низка дослідників за класифікації ступеня злоякісності МСТs акцентують увагу в основному на характері морфологічних змін ОК і рідко надають інформацію щодо мікроструктури самої пухлини. Тому, за вивчення МСТs нами проведено цілісний аналіз виявлених змін на тканинному і клітинному рівнях забарвлених гематоксиліном та еозином.

За мікроскопічного дослідження взірців мастоцитоми шкіри встановлено дископлексацію структурної організації епідермісу і дерми (рис. 3.21, 3.22). В епідермісі сосочковий та роговий шари слабо візуалізуються. Епітеліальні клітини епідермісу деформовані та сумбурно розміщені між еластичними волокнами. Значно порушена структура дерми. Волосяні фолікули, потові та сальні залози в пухлині не виявляються. Сосочковий і сітчастий шари потовщені, інфільтровані атиповими мастоцитами.

Трансформовані ОК заселяють всі можливі простори ураженої ними ділянки шкіри та проявляють виражений інфільтративний ріст. Темно-фіолетові ОК більш інтенсивно засилялись у сосочковий шар, а дещо менше – сітчастий шар дерми. Невеликі угруповання мастоцитів знаходились теж у зруйнованому епідермальному пласті, а також серед бузково забарвлених еластичних волокон. Використання гістологічного методу Габа-Дибана дозволяє чітко віддиференціювати мастоцитому від інших пухлин шкіри. Гранули цитоплазми опасистих клітин набувають темно-фіолетового забарвлення.

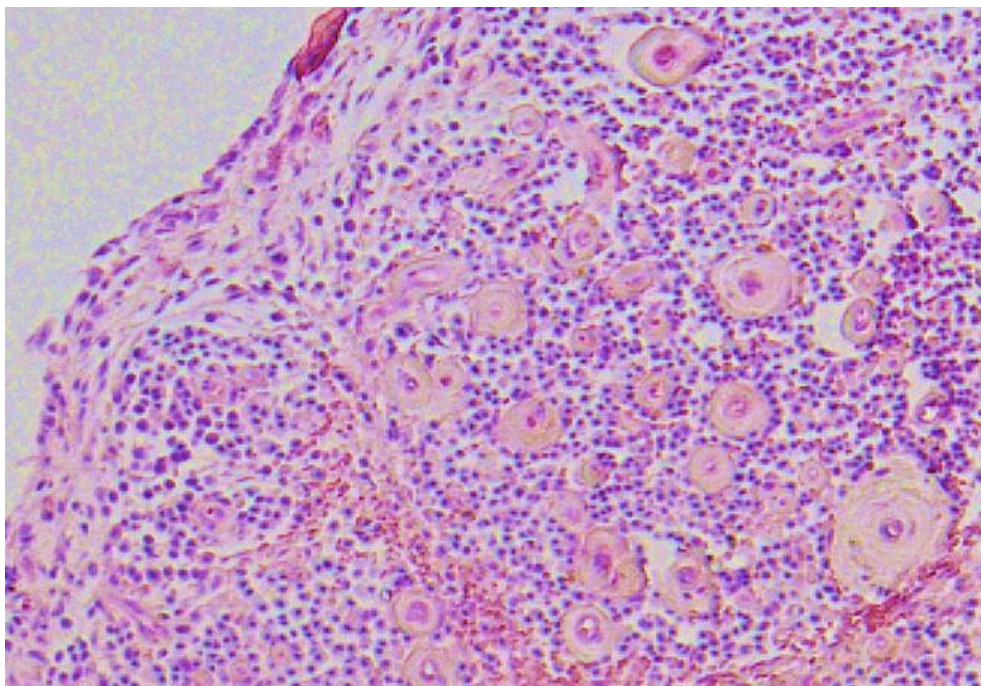


Рис. 3.21. Мастоцитома собаки. Порушення структурної організації епідермального шару та дерми. Інфільтрація дерми мастоцитоми. Гематоксилін Ерліха та еозин. x 200

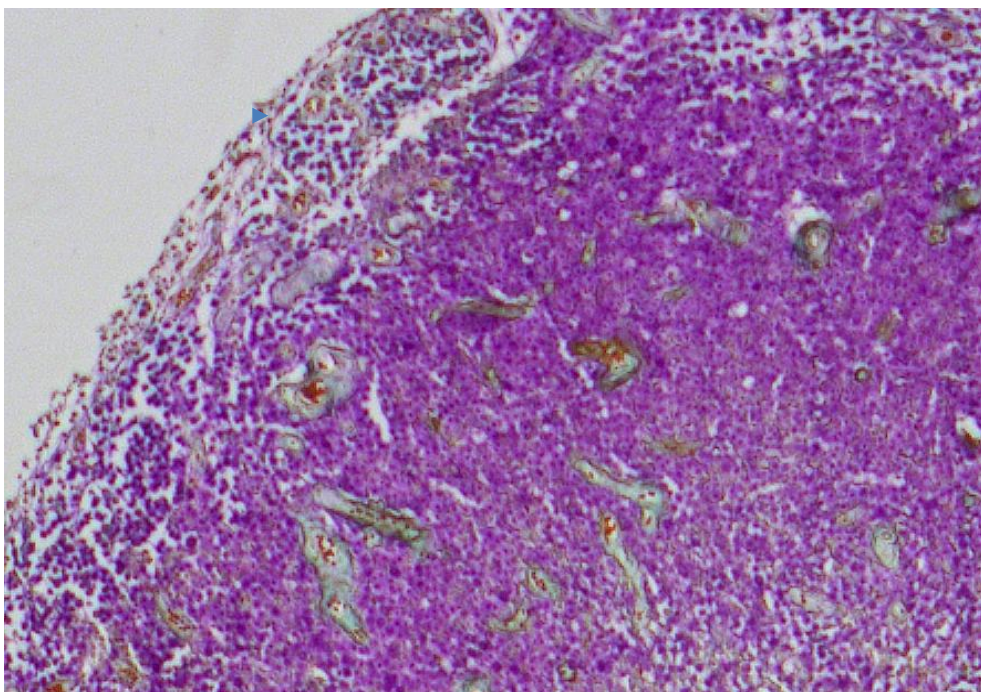


Рис. 3.22. Мастоцитома собаки. Чисельні мастоцити, що утворюють паренхіму новоутворення. Інфільтрація епідермісу і дерми мастоцитами. Альдегід-фуксин за методом Габа-Дибана. x 200

Результати гістологічних і гістохімічних досліджень вказують, що пухлина утворена трансформованими мастоцитами і характеризується вираженим інфільтративним ростом та активною васкуляризацією (рис. 3.23). Чисельні судини різного калібру розміщувались хаотично, місцями утворюючи компактні скупчення, які щільно оточені атипovими опасистими клітинами. Ймовірно, ОК секретують так званий ангіогенний фактор (VEGF), що стимулює проліферацію ендотеліальних клітин з утворення великої кількості судин. Останні, відповідно обумовлюють інтенсивне живлення мастоцитів, їх зростаючу проліферативну здатність, що веде до збільшення новоутвору.

У стінках новоутворених судин візуалізувались чисельні колагенові волокна, що альдегід-фуксином за методом Габа-Дибана забарвлювались у зелений колір (рис. 3.23). Стінки судин переважно потовщені, просочені плазмою крові. У більшості судин новоутворення структурна організація стінок частково порушена, з ознаками розвитку гіалінозу.

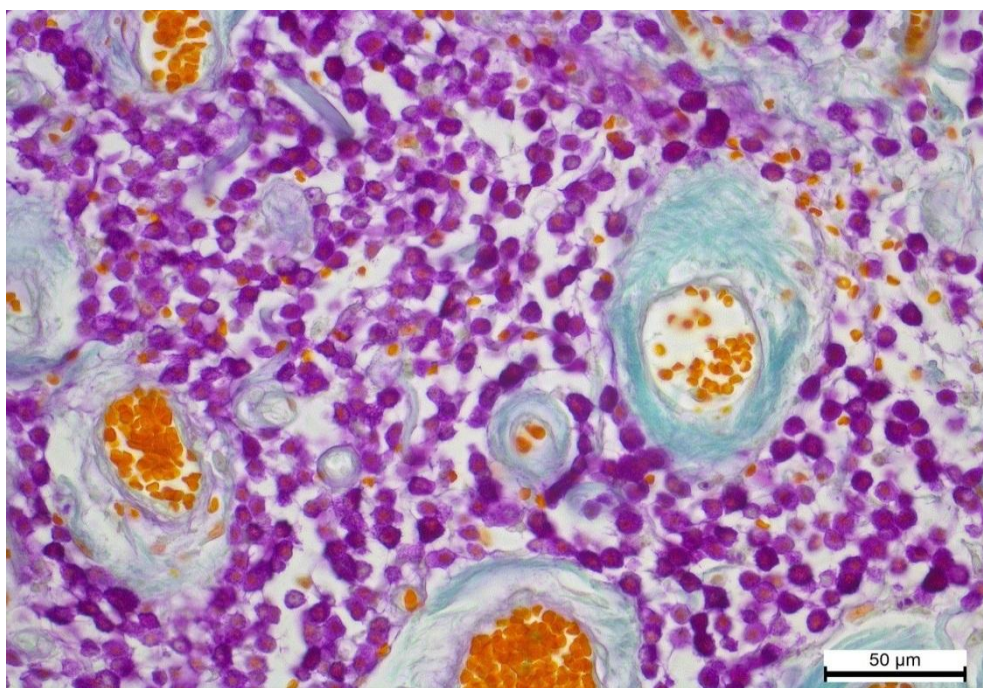


Рис. 3.23. Численні новоутворені судини переповнені еритроцитами.

Колагенові волокна судин набухлі, місцями гомогенізовані. Альдегід-фуксин за методом Габа-Дибана. x 400

У перитумуральній зоні, а також у дермі, що оточує мастоцитому, судини розширені та переповнені еритроцитами, які розташовувались у декілька рядів, формуючи фігури монетного стовпчика, що вказувало на розвиток стазу. Окрім гіперемії, у перитуморальній зоні, також виявили помірний набряк, інфільтрацію основної речовини мастоцитами, еозинофілами, макрофагами, поодинокими нейтрофілами.

Згідно двоступеневої класифікації (Kiupel) низькозлоякісна мастоцитома оцінюється як високодиференційована пухлина. За гістологічного дослідження така неоплазія представлена чисельними пухлинними мастоцитами, що формували пласти з однорідних, рідше незначно плеоморфних клітин (рис. 3.24). Подекуди пласти мастоцитів були розділені тонкими сполучнотканинними прошарками.

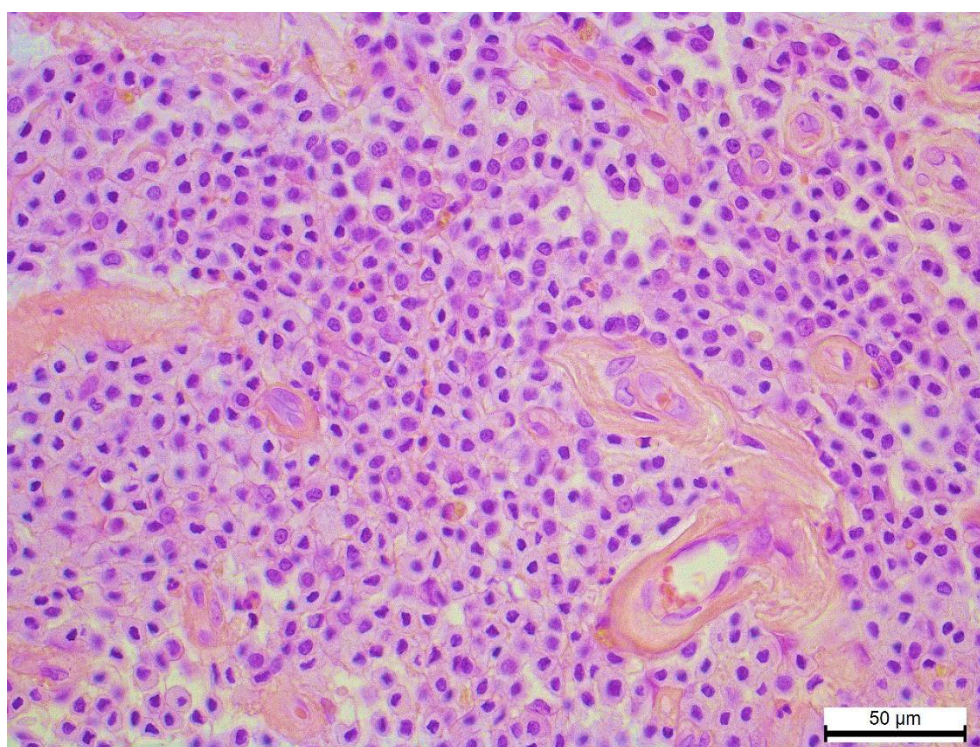


Рис. 3.24. Пласти мастоцитів, що утворюють паренхіму новоутворення. Плазматичне просякання стінок судин. Гематоксилін Ерліха та еозин. х 400

На препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином, клітини переважно полігональної форми (рис. 3.25-3.27). Межі між клітинами чіткі.

Ядра пухлинних ОК розміщувались в центрі клітини, великі, округлі або овальні, заповнені переважно гетерохроматином, займали значний об'єм цитоплазми. Анізоцитоз та анізокаріоз виражені помірно. Гранули у клітинах за даного фарбування не виявляються, тому для їх ідентифікації найкраще застосувати гістохімічні методи: толуїдиновий синій, альціановий синій або метода Габа-Дибана. За фарбування альдегід-фуксином методом Габа-Дибана цитоплазма пухлинних мастоцитів заповнена округлими гранулами, які набувають темно-фіолетового або світло-фіолетового забарвлення, залежно від кількості локалізованих в ній гранул. Переважно мономорфні клітини мали різну інтенсивність забарвлення цитоплазми: світлі і темні (рис. 3.25, 3.26, 3.27). Відомо, що у світлих опастистих клітинах виражена підвищена секреторна діяльність, інтенсивніше виділяється гістамін, гепарин, вазоактивні пептиди тощо. Трапляються поодинокі гігантські та двоядерні клітини. Число мітозів 0–2 в полі зору при великому збільшенні.

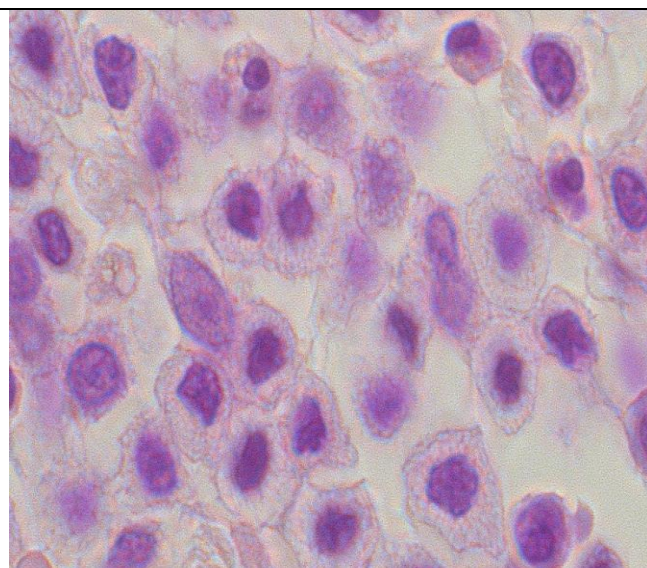


Рис. 3.25. Мастоцитома шкіри собаки.

Мастоцити полігональної форми, з великими округлими, базофільними ядрами. Гематоксилін та еозин. x1000

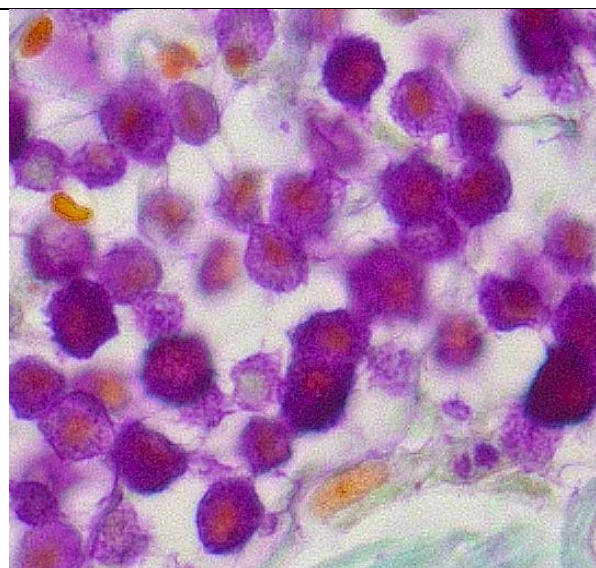


Рис. 3.26. Мастоцитома собаки.

Дрібнофіолетові гранули в цитоплазмі трансформованих мастоцитів. Світлі і темні мастоцити. Метод Габа - Дибана. x1000

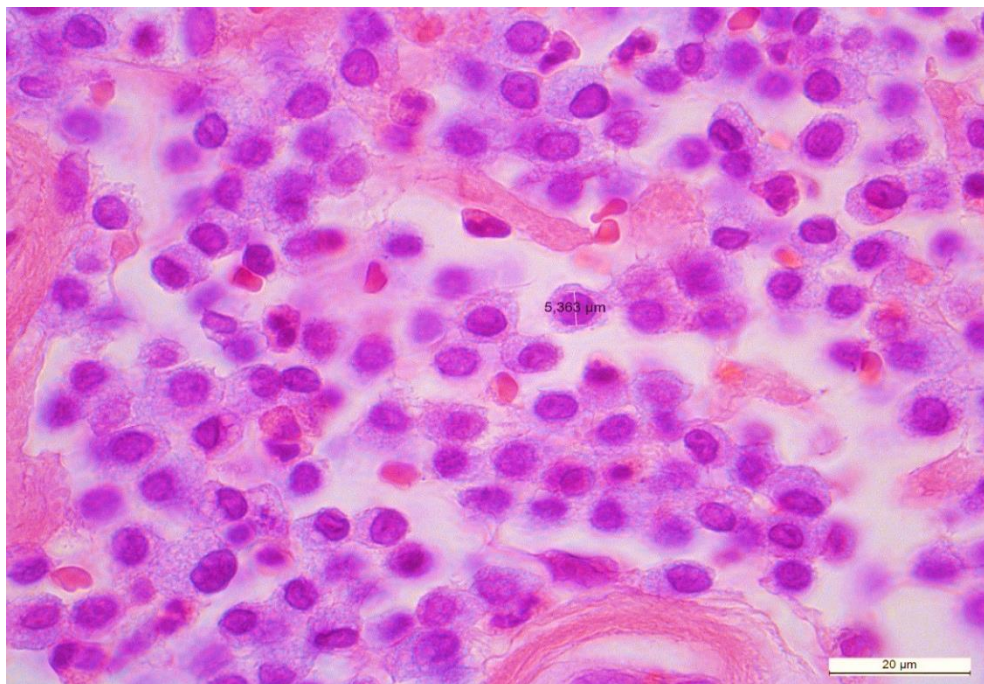


Рис. 3.27. Низькозлоякісна мастоцитома шкіри собаки. Скупчення мономорфних мастоцитів. Гематоксилін та еозин. х400

За гістологічного дослідження препаратів низькодиференційованої неоплазії не візуалізуються в епідермісі роговий, сосочковий шари, волосяні фолікули, потові та сальні залози. Поліморфні мастоцити розташовані групами в фіброваскулярній стромі. Відзначалась значна васкуляризація пухлини із невпорядкованим розміщення чисельних судин (рис. 3.28), які у кількості 5-10 різних за величиною, примикаючи тісно між собою, утворювали осередки судинного сплетіння. Кільцевидні утворення колагенових волокон стінок розшаровані, частіше гомогенізовані. При цьому просвіт в одних судинах помірно розширений і заповнений еритроцитами, в інших – різко звужений, траплялись облітеровані судини.

Поліморфні, середнього розміру атипові мастоцити, розташовані щільними хаотичними скупченнями (рис. 3.29). Ядра округлі або неправильної форми із гіперхромним хроматином.

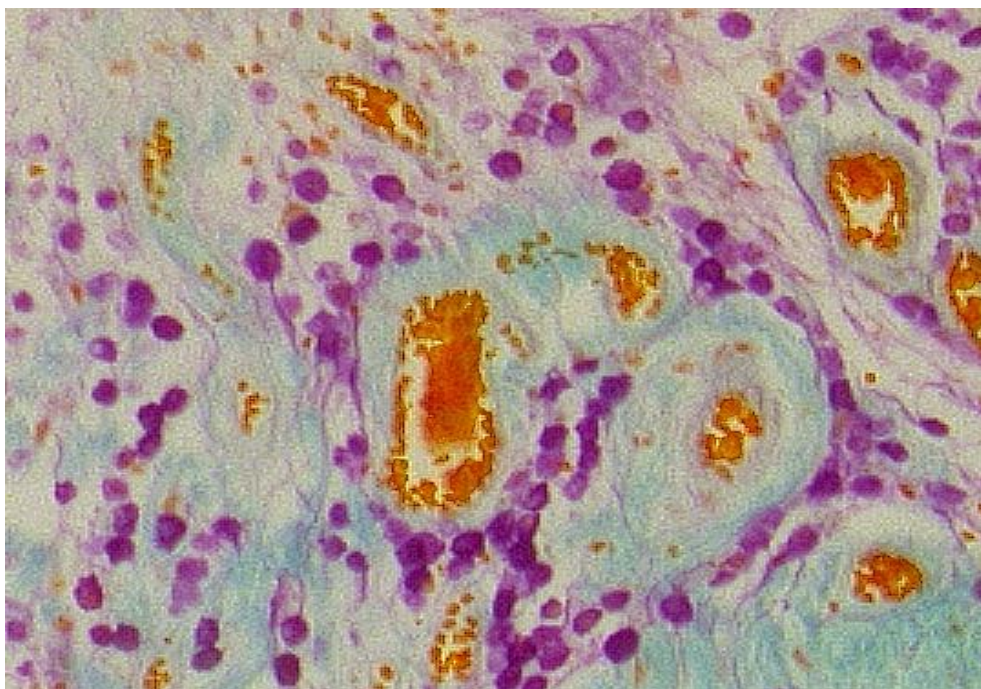


Рис. 3.28. Мастоцитома собаки. Інтенсивна васкуляризація пухлини із сумбурним розміщенням судин. Метод Габа-Дибана. х 200

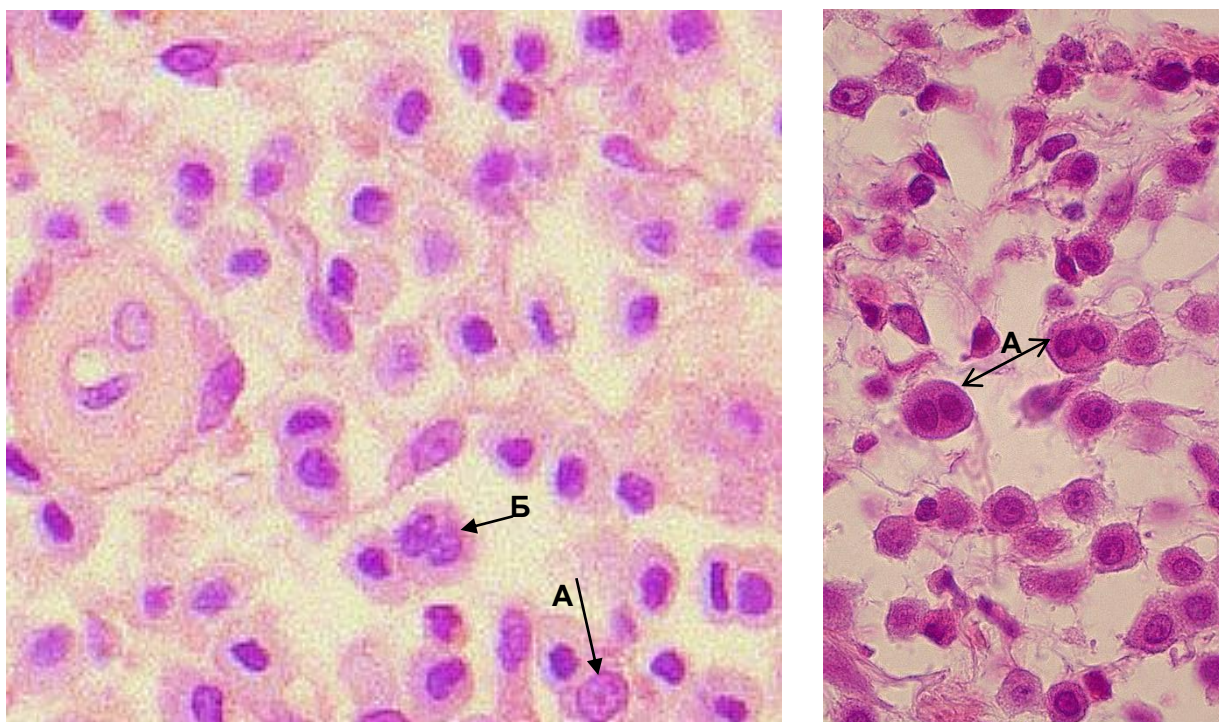


Рис. 3.29. Високозлоякісна мастоцитома собаки. А – двоядерні опасисті атипові клітини. Б – мітоз. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об.100

В одних мастоцитах ядра зменшені, деформовані, в інших клітинах – ядра соковиті, овальні. Цитоплазма клітин з нечіткими контурами, цитоплазматичні гранули відсутні або виявлялись в окремих клітинах. На гістозрізах, порівняно з попередніми зразками часто траплялись двоядерні, багатоядерні і гігантські клітини. Число мітозів у полі зору більше 7 при великому збільшенні, встановлено в 5 собак. Детальна інформація щодо морфометрії ОК та патоморфологічної класифікації досліджуваних МСТs, згідно цитологічних показників, представлена в таблицях 3.5, 3.6.

За морфометричного дослідження онкомастоцитів (табл. 3.5), зокрема визначення розмірів цитоплазми і ядер встановлено, що у випадках високодиференційованої (низько злоякісної) МСТs (згідно класифікації Kiupel), об'єм клітини в середньому становив $545,4 \pm 64,2$ мкм³, а об'єм ядра $77,5 \pm 8,80$ мкм³. Ядерно-цитоплазматичне відношення (ЯЦВ) складало $0,20 \pm 0,011$, що свідчило про зсув ЯЦВ в сторону цитоплазми. Натомість за низько диференційованої (високо злоякісної) МСТs показники об'єму клітини та об'єму ядра були збільшеними і становили в середньому $590,24 \pm 75,61$ мкм³ та, відповідно $102,31 \pm 8,79$ мкм³ ($p < 0,05$). ЯЦВ складало $0,24 \pm 0,013$. Отже, виявлене нами збільшення величини ядра та підвищення показника ЯЦВ клітинного пулу опасистих клітин за низькодиференційованої МСТs вказує на ознаки клітинної атипії та їх малігнізацію.

Таблиця 3.5

Морфометричні показники опасистих клітин за мастоцитоми шкіри собак

Показники	Високодиференційована (низькозлоякісна)	Низькодиференційована (високозлоякісна),
Об'єм клітини, мкм ³	$545,4 \pm 64,2$	$590,24 \pm 75,61$
Об'єм ядра, мкм ³	$77,5 \pm 8,80$	$102,31 \pm 8,79$ *
Ядерно-цитоплазматичне відношення	$0,20 \pm 0,011$	$0,24 \pm 0,013$ *

Примітка: значення p: * – $< 0,05$;

Таблиця 3.6

Клінічна та патоморфологічна класифікація досліджуваних МСТs
(n = 49)

Клінічна стадія пухлин, TNM	кількість тварин	Цитологічні критерії						каріомегалія/ анізокаріоз	двоступенева класифікація (Kiupel)
		мітотичні фігури		багатоядерн ість клітин		химерні ядра			
		<7/10	>7/10	<3/10	>3/10	<3/10	>3/10		
		hpf	hpf	hpf	hpf	hpf	hpf		
T1aN0M0	9	2	0	6	-	6	-	2	H
T1aN1aM0	1	1	-	1	-	1	-	1	H
T2aN0M0	7	3	0	4	-	3	0	1	H
T2aN1aM0	6	2	0	3	-	3	-	2	H
T2aN1bM0	10	2	-	2	-	1	1	1	
T2bN1bM0	1	1	-	-	1	-	1	1	B
T3aN0M0	6	1	-	-	1	-	1	1	B
T3aN1bM0	4	1	2	-	3	1	2	3	B
T3bN1aM0	4	-	2	-	2	1	1	2	B
T3b _в N1bM1	1	-	1	-	1	-	1	1	B

Примітка: H – мастоцитوما низького ступеня злоякісності;

B – мастоцитوما високого ступеня злоякісності

На підставі узагальнених результатів гістологічного, гістохімічного, морфологічного досліджень ексцизійного матеріалу (табл. 3.6) та їх аналізу, відповідно до критеріїв класифікації Kiupel, у 36 (73,47 %) собак верифіковано мастоцитому низького і, відповідно, у 13 (26,53 %) тварин МСТs високого ступеня злоякісності. Відмічено також, що згідно морфометричних показників, встановлених за цитологічних та гістологічних досліджень, у 2 випадках нами отримано помилково негативний результат, а саме цитологічно (за первинного обстеження) було встановлено низький, а гістологічно верифіковано високий

ступінь злоякісності неоплазії). Показник узгодженості цитологічного та гістологічного оцінювання становив 96,8 %.

Згідно результатів порівняльного аналізу клінічних стадій та гістологічних ступенів шкірної масоцитомі встановлено, пряму кореляцію між величиною пухлини та ступіню її злоякісності, оскільки прослідковується тенденція, при якій, поряд із зростанням показника T, що за клінічної TNM класифікації неоплазії відображає її розмір, зростає і кількість випадків верифікації новоутворень, які мають злоякісний характер. Встановлено також, що стрімко прогресуючий і, відповідно, більш злоякісний перебіг захворювання характерний для мастоцитом, що локалізуються в собак в ділянках тіла вільно доступних для постійного травмування (кінцівки, пахвина, промежина, шия).

3.4. Ультраструктурна характеристика мастоцитомі

Проведені цитологічні, гістологічні та гістохімічні дослідження дали нам можливість визначити тканинне походження пухлин і стверджувати, що встановлені новоутворення шкіри слід віднести до неоплазій опасистих клітин. Однак у доступних літературних джерелах ми не знайшли результатів наукових досліджень, які б характеризували ультраструктурну організацію мастоцитом. Тому, виникла потреба в поглибленому дослідженні ультраструктури MCTs.

Електронно мікроскопічне вивчення MCTs дозволило поглибити пізнання тонких структур органел цитоплазми і ядра та простежити за відмінностями в ультраструктурній будові популяції атипових опасистих клітин і ствердити, що пухлина утворена як світлими так і темними онкомастоцитами. Якщо за світлооптичного дослідження гістологічних препаратів, ядра мастоцитів проглядались у вигляді округлих або овальних форм і в значної частини клітин ядерця не проглядались, то за електронно-мікроскопічного вивчення у світлих атипових опасистих клітинах ядра зазвичай неправильної форми, часто з багаточисленними глибокими інвагінаціями каріолеми, що надавало їм виродливого вигляду, а каріоплазма заповнена тонко дисперсним хроматином з 1-2 невеликими ядерцями (рис. 3.30).

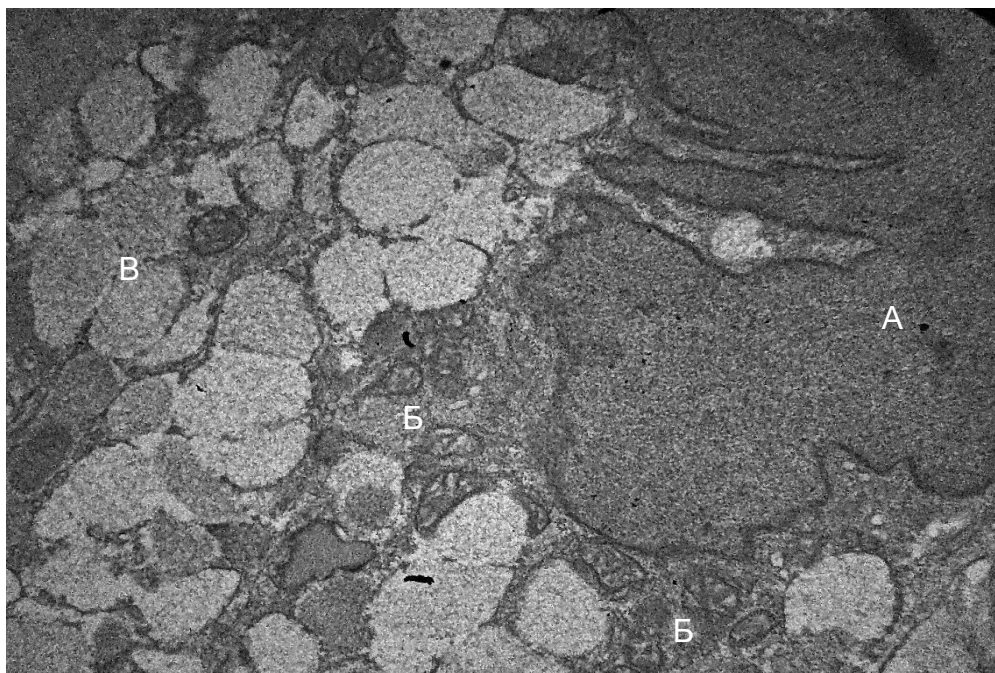


Рис. 3.30. Ультраструктура атипової світлої опасистої клітини. Виродливе ядро з численними глибокими інвагінаціями каріолеми (А). Мітохондрії з хаотично розміщеними кристами (Б). Секреторні гранули (В). Зб. 6000

Слід зазначити, що утворення численних випячувань каріолеми є характерною ознакою для гіперактивних у функціональному стані клітин, тому можемо стверджувати, що світлі ОК – це функціонально-активні клітини.

Ультраструктурні зміни ядер світлих атипових ОК характеризувались не тільки виродливістю їх форми, а також різною інтенсивністю наповнення каріолеми хроматофільною речовиною і поліморфізмом ядерця. В одних ядрах були наявні компактні ядерця (рис. 3.31). В інших клітинах визначались ядерця в ядрі у вигляді дрібних чисельних округлих структур (рис. 3.32). У більшості клітин вміст хроматофільної речовини низький. Траплялись також клітини з ядрами незвичної форми і дифузно розміщеними гранулами конденсованого хроматину в каріоплазмі та дрібних нуклеол (рис. 3.32).

Невеликі за розміром мітохондрії розміщувались перенуклеарно. Кількість і форма розміщених крист мітохондрій в даних ОК відрізнялась від таких в нормі. Матрикс мітохондрій атипових ОК середньої щільності, заповнений невеликою кількістю потовщених крист, які розміщувались не паралельно а хаотично, що вказує на атиповість в будові органели (рис. 3.31).

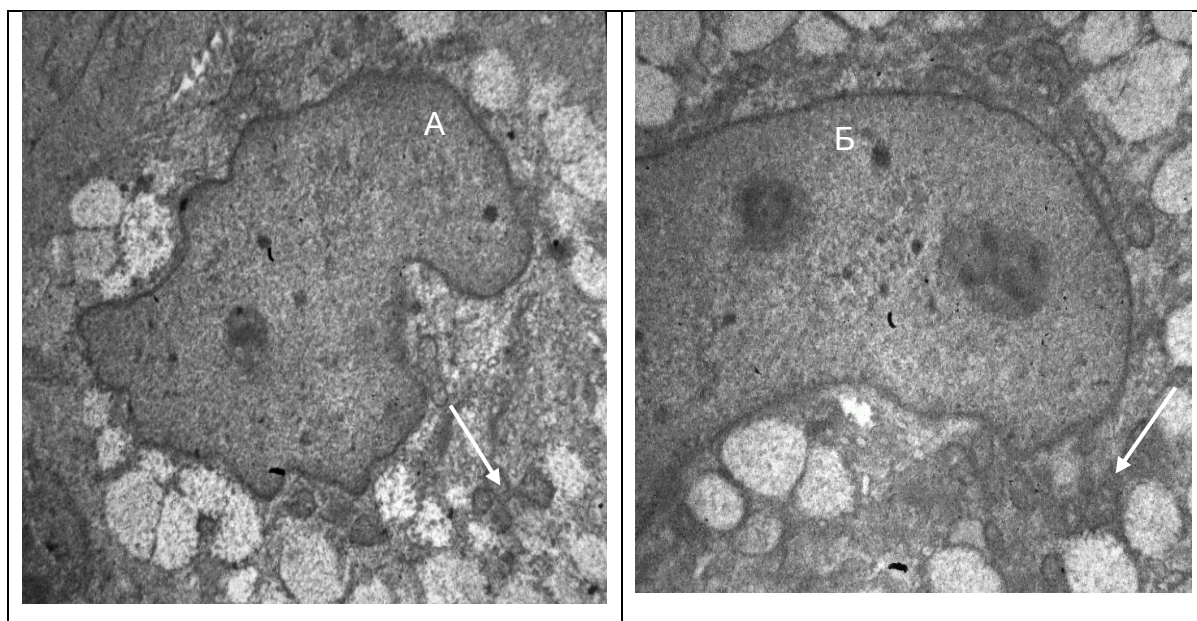


Рис. 3.31. Ультраструктура ядра і перинуклеарної зони цитоплазми атипових світлик опасистих клітин. Дрібні мітохондрії розміщені хаотично перинуклеарно (стрілка). Зміненої форми ядро з нуклеолою (А). Бобоподібна форма ядра з двома ядерцями (Б). 36.6000

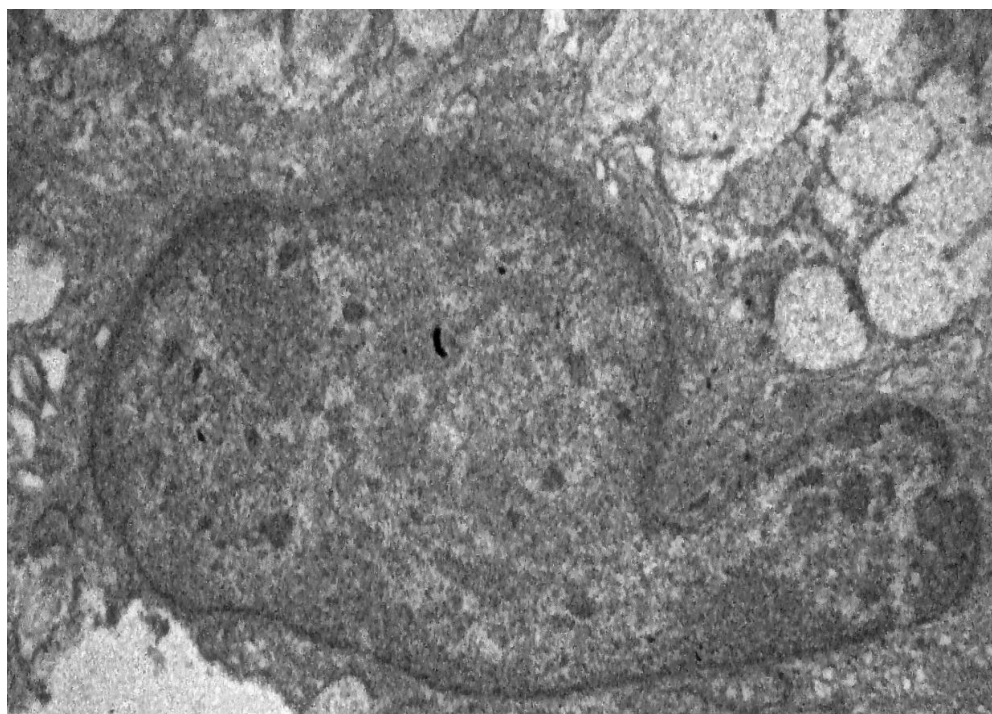
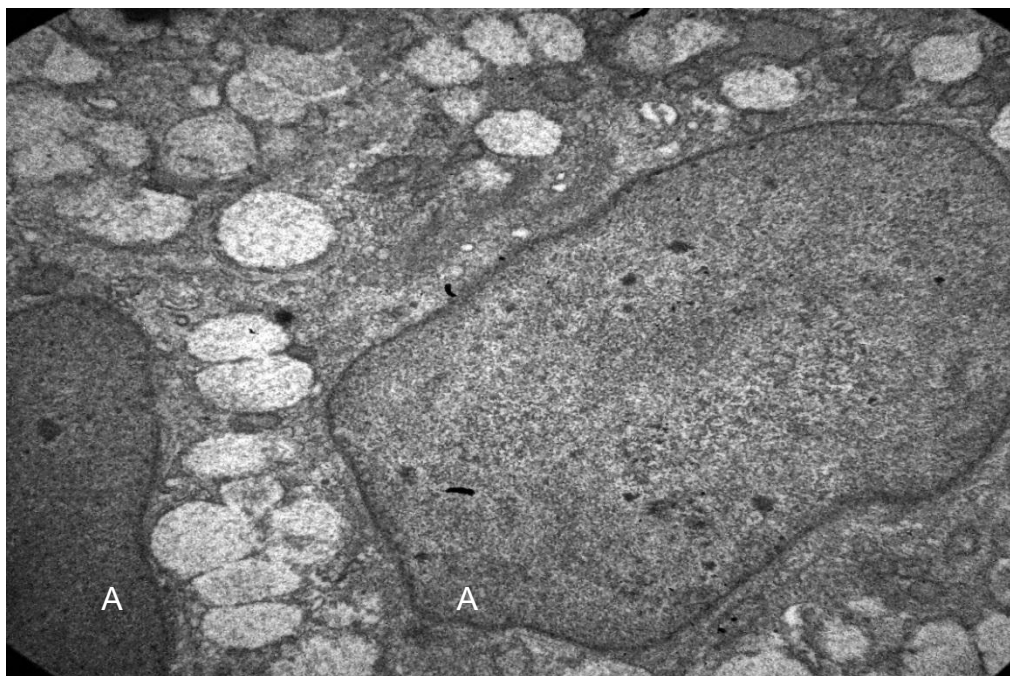


Рис. 3.32. Ультраструктура ядра атипової світлої опасистої клітини. Осміофільні гранули конденсованого хроматину в каріоплазмі. Ядерця у вигляді округлих дрібних чисельних структур 36 6000

Канали ендоплазматичної сітки різко розширені, цитоплазма густо заповнена різними везикулами і гранулами низької щільності, що вказує на підвищену активність таких опасистих клітин, що веде до активного виходу вмістимого гранул в міжклітинний просвіт (рис. 3.30, 3.31). У ядрах більшості клітин вміст хроматофільної речовини низький. Ультраструктурні відмінності ядер світлих атипових ОК характеризується не тільки виродливістю їх форми, а також різною інтенсивністю наповнення каріоплазми хроматофільною речовиною і наявністю 2-3 і більше різновеликих ядерець (рис. 3.30).

Траплялись поодинокі також двоядерні онкомастоцити. Ядра в таких опасистих клітинах, переважно різні за величиною, овальні за формою та з низьким вмістом хроматину в каріоплазмі. Канали ендоплазматичного ретикулуму розширені, кількість рибосом на їх поверхні невелика, більшість розміщена вільно в цитоплазмі. Цитоплазма заповнена гранулами низької щільності. Мітохондрії невеликих розмірів, овально-округлої форми, переважно з гомогенізованим матриксом (рис. 3.33). Конфігурація плазматичної мембрани таких клітин нерівна.



ис. 3.33. Ультраструктура атипової світлої опасистої клітини з двома ядрами (А). 36. 6000

Ультраструктурні відмінності у будові ядра і цитоплазми відзначали також у темних атипових опасистих клітин. Темні опасисті клітини частіше ніж світлі клітини оточені колагеновими фібрилами і пучками колагенових волокон. Ядра клітин різні за величиною та формою: в одних клітинах - великі округло-овальної форми (рис. 3.34), в інших – траплялись різновеликі два ядра, видовженої форми (рис. 3.35). Переважно ядра з низьким вмістом хроматофільної речовини. У цитоплазмі невеликі округлої форми мітохондрії переважно з фрагментованими кристами, інші з просвітленим матриксом а поодинокі – з паралельно розміщеними кристами. Характерною ознакою темних опасистих клітин є вміст в цитоплазмі різних за величиною осміофільних гранул округлої, овальної або чудернацької форм (рис. 3.35). Гранули в клітинах великі, інтенсивно забарвлені (осміофільні). В інших клітинах гранули менш щільні, пористі, в стані дегрануляції (рис. 3.16).

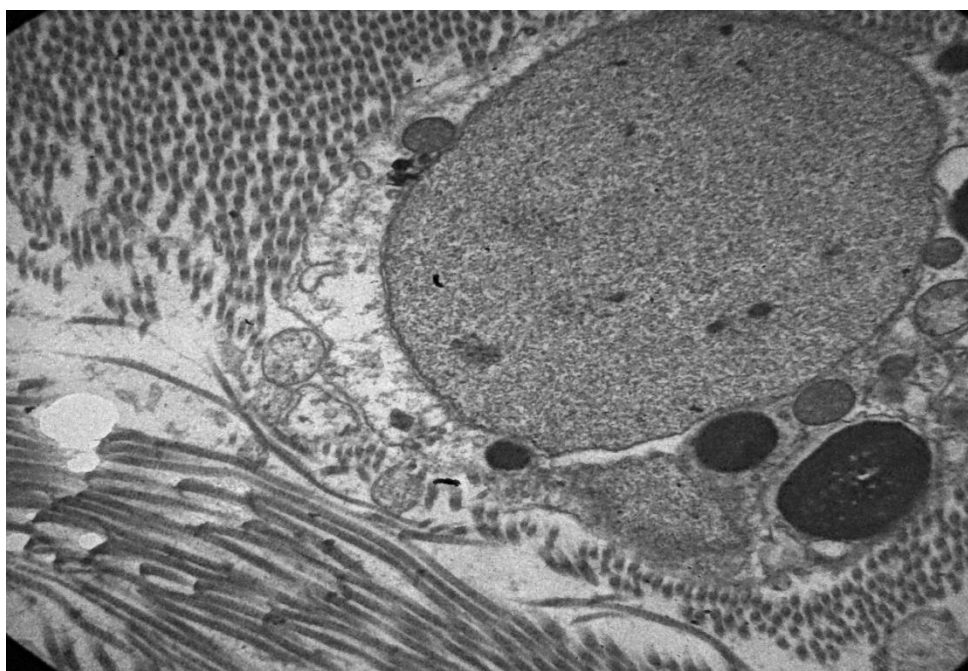


Рис. 3.34. Електронограма. Темна опасиста клітина. Цитоплазма заповнена осміофільними гранулами різної величини. Клітина оточена колагеновими волокнами. Зб. 6000

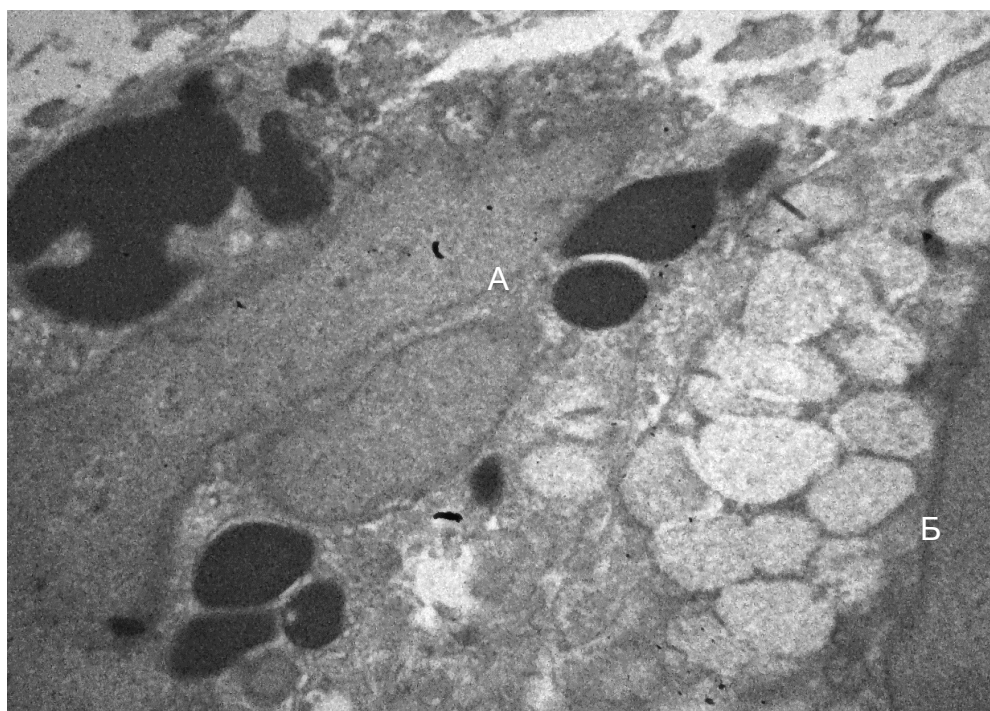


Рис. 3.35. Електронограма темної та світлої опасистої клітини. Темна опасиста клітина з двома різновеликими ядрами (А). Світла опасиста клітина. Зб. 6000

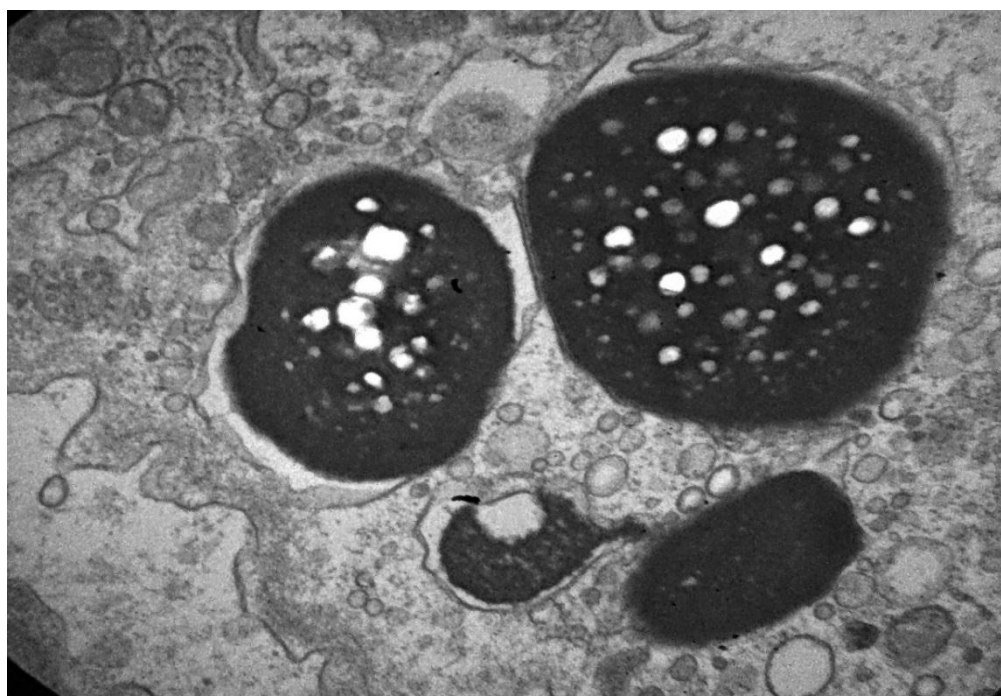


Рис. 3.36. Електронограма. Фрагмент цитоплазми темної опасистої клітини. Внутрішньоцитоплазматичні осміофільні гранули. Зб. 8000

Виявляли онкомастоцити, які перебували в стані дегрануляції. Цілісність плазмолеми порушена. Через порушену клітинну мембрану осміюфільні гранули виходили за межі клітин. Виражена дезорганізація ультраструктур, місцями їх гомогенізація, проглядались поодинокі мітохондрії з просвітленим матриксом і великою кількістю вакуолей та контури двох різновеликих ядер з низьким вмістом хроматину, гомогенізованою місцями каріолемою (рис. 3.37). Виявлені ультраструктурні зміни вказують на прогресуючі некробіотичні процеси в клітині.

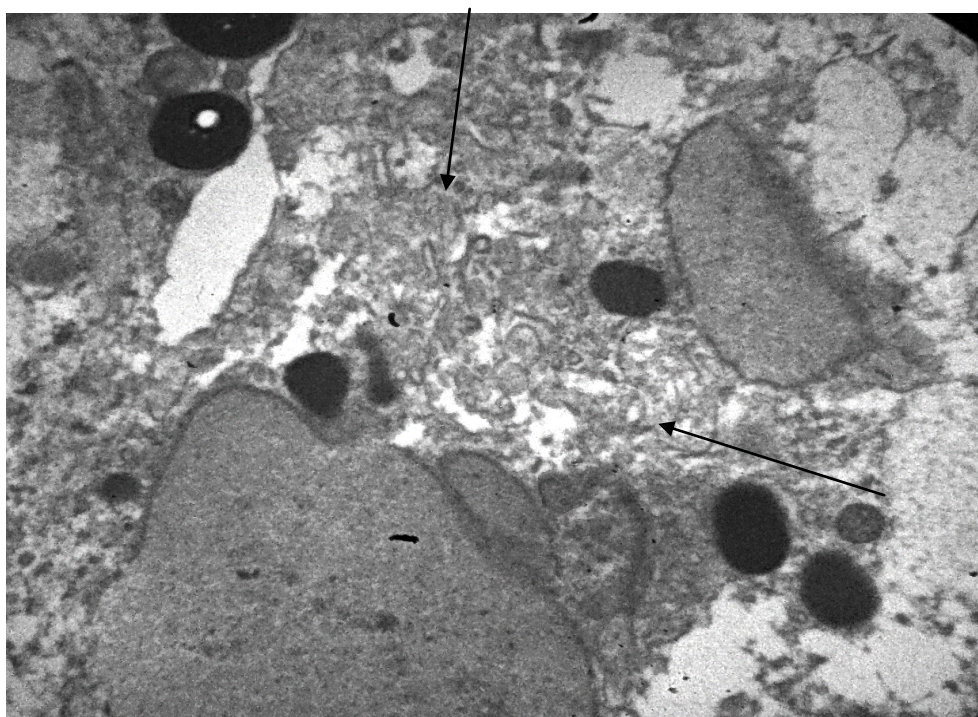


Рис. 3.37. Дегрануляція атипової ОК супроводжувалась розривом зовнішньої мембрани. Дифузна гомогенізація мітохондрій (стрілки).

36. 6000

У пухлині серед опасистих клітин траплялись поодинокі макрофагальні і також фібробластоподібні клітини. Ядро макрофагоподібної клітини неправильної форми, з численними глибокими інвагінаціями каріолеми, що надавало чудернацького вигляду. Конденсований ядерний хроматин у вигляді грудочок та ущільненого вузького шару прилягав до внутрішньої ядерної мембрани. У центрі ядра розміщувалась нуклеолема. У цитоплазмі багато

рибосом, мітохондрій та вакуолей. Невеликі за розміром мітохондрії переважно просвітлені з порушеними кристами або гомогенізованим матриксом (рис. 3.37). Канали ендоплазматичного ретикулума розширені. Плазмолема клітин переважно нерівна, з численними пальцеподібними виростами. Під плазматичною мембраною клітин в цитоплазмі виявляли рибосоми, численні піноцитозні везикули. Така структура плазмолеми свідчить про збільшення поверхневої площі клітин і пов'язана з активною їх рухливістю (рис. 3.38).

Серед атипових мастоцитів траплялись фібробласти. Дані клітини подовгастої форми з оконтурованою цитоплазмою. Ядра клітин різновеликі, в одних, в інших крупні, пальцеподібної або грушеподібної форми, гетерохроматин у вигляді вузької стяжки розміщений біля каріолеми. У ядрах деяких фібробластів виявляли в ядрі великі ядерця. Цитоплазма вузька, містить короткі і вузькі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, дрібні округлі та дещо більші видовжені мітохондрії. Навколо зрілих фібробластоподібних клітин добре проявлялись колагенові фібрили (рис. 3.39).

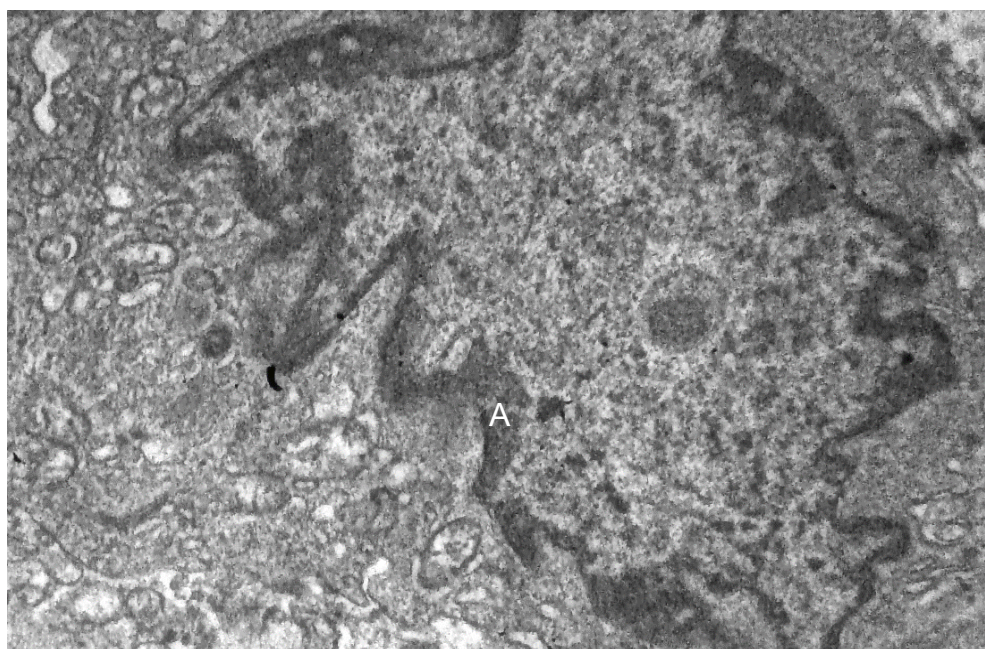


Рис. 3.38. Атиповий макрофаг. Конттури ядра з численними випинаннями і периферним розміщенням хроматину (А). Мітохондрії округло-овальні, з порушеними кристами і просвітленим матриксом. Зб. 6000

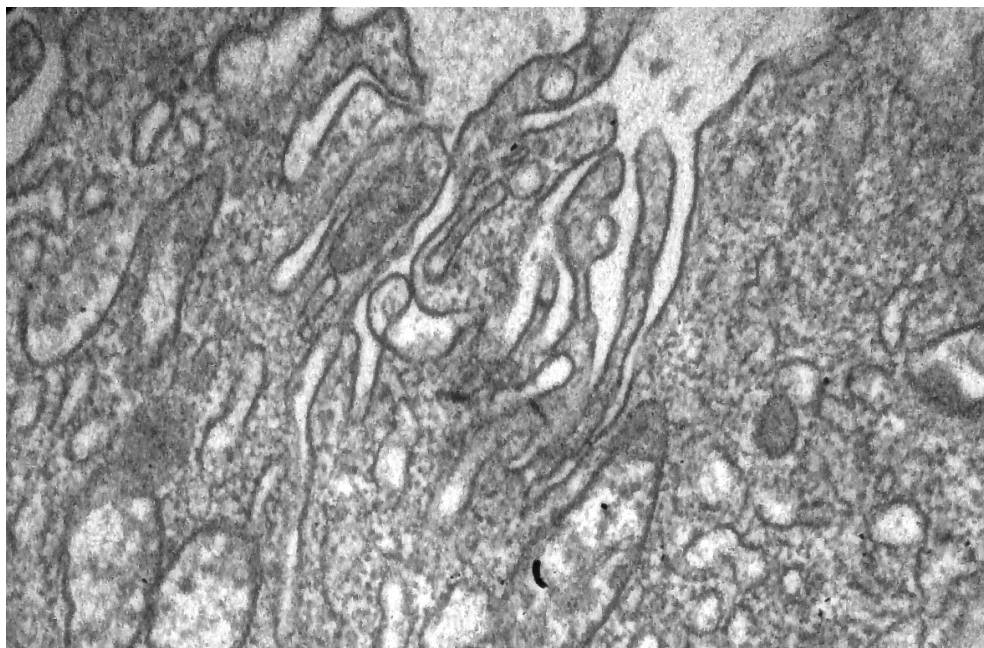


Рис. 3.39. Пальцеподібні вирости плазмолеми макрофагальної клітини. Зб. 8000

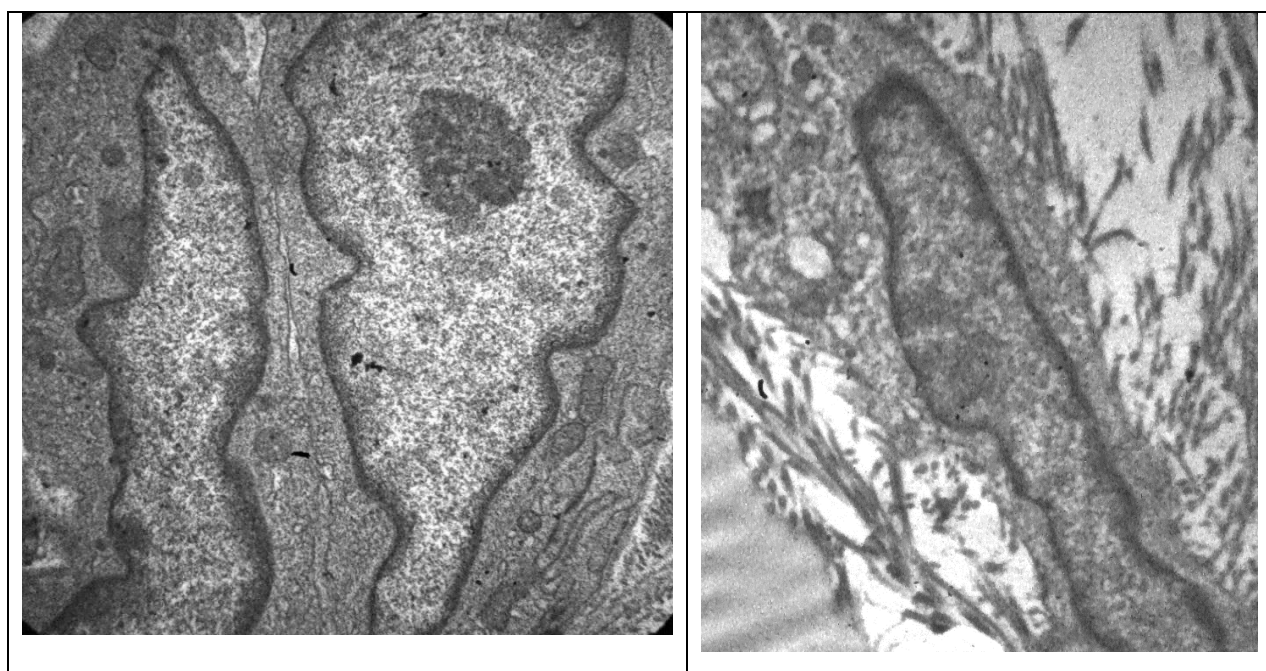


Рис. 3.40. Фібробластоподібні клітини подовгастої, веретеноподібної форми з різновеликими ядрами. Зб. 3б. 6000

У капілярах пухлини базальна мембрана місцями набухла, ендотеліальні клітини по люмінальному краю з нерівними контурами, більша їх частина випиналась у просвіт капіляра. Ядра ендотеліальних клітин великі, неправильної форми, займали більшу частину клітини. Хроматин в ядрі у вигляді смужки сконцентрований біля ядерної мембрани. У цитоплазмі наявні мітохондрії, рибосоми, полісоми і піноцитозні везикули. Базальна мембрана місцями набухла (рис. 3.41).

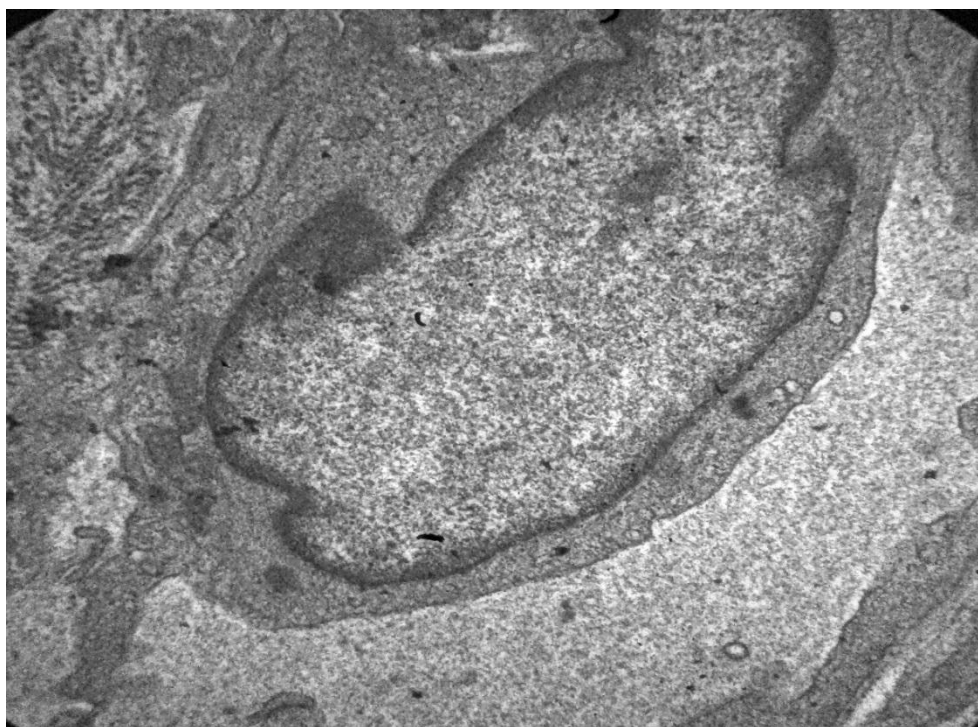


Рис. 3.41. Капіляр. Ендотеліальна клітина. Велике, неправильної форми ядро займає більшу частину клітини. Зб. 8000

Електронномікроскопічне дослідження показало, що онкомастоцитам за пухлин шкіри властиві специфічні ультраструктурні ознаки (осміофільні гранули), які наявні в гомологічних нормальних опасистих клітинах, тобто виражена цитоспецифічність. Однак, в атипових клітинах змінена форми ядра, каріолема з численними випинаннями, у багатьох із них присутні одна - дві нуклеоли в ядрі, наявні серед них двоядерні клітини з різними за величиною та

формою ядрами, у цитоплазмі переважають дрібні, зі зміненою формою мітохондрії. Виявлені ультраструктурні відмінності вказують на нетипову будову мастоцитів і дозволяють віднести їх до пухлино специфічних клітин, що становлять основну компоненту за MCTs у собак.

Результати комплексного морфологічного дослідження мастоцитоми шкіри собак показали, що застосування гістохімічного методу дозволило встановити мастоцитомне походження пухлин шкіри на основі виявлення азурофільних гранул в цитоплазмі опасистих клітин.

Гістологічними дослідженнями виявили виражений ангиогенез пухлин, інфільтративний ріст онкомастоцитів дерми та негативний вплив їх на сусідні тканини. Атипові мастоцити компактно розміщувались і заселяли всі можливі простори в епідермісі, дермі. Онкомастоцити дерми переважно полігональної форми, з великим округло-овальним, базофільним ядром, розміщеним по центрі і слабо забарвленою цитоплазмою. Виявлене нами морфометричне дослідження встановлено збільшення величини ядра та підвищення показника ядерного-цитоплазматичного відношення клітинного пулу опасистих клітин ($0,24 \pm 0,013$) за низькодиференційованої MCTs що вказує на ознаки клітинної атипії та їх малігнізацію.

Гістохімічними дослідженнями виявили альдегід-фуксинофільні гранули в цитоплазмі клітин, що підтвердило мастоцитомне походження пухлин, а інтенсивність забарвлення цитоплазми (світлі і темні опасисті клітини) вказує на різний їх функціональний стан.

Результати досліджень опубліковані у наукових працях [12, 150]

3.5. Гематологічні показники собак за мастоцитоми

У ветеринарії, як і в гуманній медицині, правильний діагноз є ключовим для вибору ефективного лікування тварин. Одним з головних джерел інформації про стан організму пацієнта у ветеринарії є морфологічні і біохімічні показники крові. На основі проведених досліджень (табл. 3.7) встановлено, що порівняно з показниками здорових тварин (контрольна група), на час поступлення в клініку у крові собак уражених низько злоякісною мастоцитомою (перша дослідна група) кількість еритроцитів була меншою на 9,2 %, а у собак із верифікованою високо злоякісною МСТs (друга дослідна група), відповідно – на 14,7 % ($p < 0,01$). При дослідженні рівня гемоглобіну встановлено, що найнижчим він був у крові собак другої дослідної групи де становив $112,7 \pm 4,49$ г/л, тоді як у першій дослідній групі даний показник був дещо вищим і відповідно становив $131,6 \pm 5,87$ г/л. При порівнянні з показниками контрольної групи рівень гемоглобіну був нижчим у крові тварин першої дослідної групи на 8,4%, у крові другої групи – на 21,5 % ($p < 0,001$).

При визначенні індексів червоної крові вірогідне зниження середнього вмісту гемоглобіну в одному еритроциті ($p < 0,05$) встановлено у хворих тварин із високо злоякісними пухлинами шкіри. Щодо середнього об'єму еритроцитів то вірогідних змін не встановлено, дані показники становили у собак контрольної групи $71,6 \pm 1,84$ мкм³, першої дослідної – $72,8 \pm 1,77$ мкм³ та другої дослідної $75,3 \pm 1,41$ мкм³.

Гематокритна величина була нижчою на 4,7 % ($p < 0,05$) у хворих тварин другої дослідної групи, порівняно з контролем. Дещо вищим даний показник був у собак першої дослідної групи, де відповідно він становив $41,7 \pm 1,84\%$.

Встановлено, що показник кількості тромбоцитів був найнижчим у крові собак із високозлоякісними пухлинами ($301,8 \pm 24,9$ Г/л), порівняно з клінічно здоровими тваринами ($p < 0,05$), та хворими на низько злоякісну ($p < 0,05$) МСТs.

Щодо визначення кількості лейкоцитів то встановлено, що найнижчою була їх кількість у крові собак контрольної групи. У собак першої дослідної

групи кількість лейкоцитів порівняно з контрольною групою була більшою на 5,3 %. Вірогідно збільшену кількості лейкоцитів встановлено у крові собак другої дослідної групи, де порівняно з контролем даний показник був більшим на 41,6% ($p < 0,001$) відповідно.

Таблиця 3.7

Морфологічні показники крові собак за низько злоякісної та високо злоякісної мастоцитоми шкіри, $M \pm m$

Показники	Групи тварин		
	контрольна, n=10	I дослідна, n=20	II дослідна, n=10
Еритроцити, Т/л	6,31 $\pm$ 0,22	5,73 $\pm$ 0,36	5,38 $\pm$ 0,20**
Гемоглобін, г/л	143,6 $\pm$ 5,34	131,6 $\pm$ 5,87	112,7 $\pm$ 4,49***•
ВГЕ, пг	22,8 $\pm$ 0,51	23,0 $\pm$ 0,61	20,9 $\pm$ 0,57*
Середній об'єм еритроцитів, мкм ³	71,6 $\pm$ 1,84	72,8 $\pm$ 1,77	75,3 $\pm$ 1,41
Величина гематокриту, %	45,2 $\pm$ 1,52	41,7 $\pm$ 1,84	40,5 $\pm$ 1,63*
Лейкоцити, Г/л	9,4 $\pm$ 0,41	9,9 $\pm$ 0,75	16,1 $\pm$ 0,42***
Тромбоцити, Г/л	404,6 $\pm$ 28,6	390,8 $\pm$ 29,5	301,8 $\pm$ 24,9*•

Примітка: значення p:

p: *,• – $< 0,05$; ** – $< 0,01$; ***••• – $< 0,001$; решта – $> 0,05$.

*p< – порівняно з клінічно здоровими;

• p1< – порівняно з тваринами першої дослідної групи

Більш поглиблену інформацію щодо лейкоцитопоезу в хворих тварин отримано з аналізу лейкограми (табл. 3.8). Зокрема, встановлено вірогідне зростання в тварин обох дослідних груп відсотка еозинофілів. Так, у крові собак першої дослідної групи частка еозинофілів була більшою на 4,3 %, а у другої – на 5,7 % порівняно з контрольною групою.

Також варто зауважити, що порівняно із контролем у тварин першої дослідної групи лейкограма характеризувалася лише незначним зростанням паличкоядерних нейтрофілів та моноцитів, де вони становили, відповідно, 5,5 $\pm$ 0,38% і 5,6 $\pm$ 0,42 %, тоді як у контрольної групи тварин вони коливалися у

межах $4,2 \pm 0,31$ і $4,9 \pm 0,37$ %. У тварин другої дослідної групи отримані показники лейкограми вказували про значні зміни в морфологічному складі крові. Зокрема встановлено вірогідне зростання, майже у 4 рази ($p < 0,001$), паличкоядерних та незначне зниження сегментоядерних нейтрофілів.

Таблиця 3.8

Кількість лейкоцитів та лейкограма собак за низько злоякісної та високо злоякісної мастоцитоми шкіри, $M \pm m$

Показники		Групи тварин		
		контрольна, n=10	I дослідна, n=20	II дослідна, n=10
Лейкоцити, Г/л		$9,4 \pm 0,41$	$9,9 \pm 0,75$	$16,1 \pm 0,42^{***\bullet\bullet}$
Базофіли, %		0	0	0
Еозинофіли, %		$1,6 \pm 0,07$	$5,9 \pm 0,10^{***}$	$7,3 \pm 0,18^{***}$
Нейтрофіли %	юні	0	0	0
	паличкоядерні	$4,2 \pm 0,31$	$5,5 \pm 0,38^*$	$16,1 \pm 0,42^{***}$
	сегментоядерні	$56,6 \pm 1,41$	$54,5 \pm 2,34$	$54,3 \pm 1,53$
Моноцити, %		$4,9 \pm 0,37$	$5,6 \pm 0,42$	$6,3 \pm 0,55^*$
Лімфоцити, %		$32,7 \pm 1,57$	$28,5 \pm 1,62$	$16,0 \pm 1,40^{***\bullet\bullet}$

Примітка: значення p:

p: *,• – $< 0,05$; **•• – $< 0,01$; ***••• – $< 0,001$; решта – $> 0,05$.

*p< – порівняно з клінічно здоровими;

• p1< – порівняно з тваринами першої дослідної групи

У тварин контрольної групи відсоток моноцитів становив $4,9 \pm 0,37$ %, тоді як у першій дослідній групі даний показник був дещо вищим і відповідно становив $5,6 \pm 0,42$ %. Вищим на 1,4 % ($p < 0,01$), порівняно з контрольною групою, встановлено показник моноцитів у крові собак другої дослідної групи. Щодо визначення лімфоцитів, то їх частка в гемограмі тварин першої дослідної і контрольної груп суттєво не відрізнялася і становила, відповідно $28,5 \pm 1,62$ та

32,7±1,57 %, водночас у собак другої дослідної групи відсоток лімфоцитів був вірогідно меншим, відповідно у 1,7 та 2 рази, і становив 16,0±1,40 %.

Вивчаючи патогенез неоплазій шкіри, ми зосереджували увагу на дослідженні функціонального стану найбільш важливих систем організму собак, а також на встановленні глибини їх ураження за даної патології. На основі проведеного дослідження (табл. 3.9) встановлено, що рівень загального протеїну в крові тварин першої дослідної групи був нижчим на 3,9 %, а в другій групі – на 15,3 % відносно контролю. Дані зміни відбувалися за рахунок зниження вмісту альбумінів, рівень яких був вірогідно нижчим - на 14,2 % ($p<0,01$) в собак у першій та на 32,1 % ($p<0,001$) у другій дослідній групі, відповідно.

Таблиця 3.9

Біохімічні показники сироватки крові собак за низько злоякісної та високо злоякісної мастоцитоми шкіри, $M \pm m$

Показник	Групи тварин		
	контрольна, n=10	I дослідна, n=20	II дослідна, n=10
Загальний протеїн, г/л	71,7±2,05	68,9±2,27	60,7±1,95*
Альбуміни, г/л	35,2±1,10	30,2±1,51*	23,9±1,13***
Загальний білірубін, мкмоль/л	2,7±0,26	3,6±0,45*	4,9±0,38***
АсАТ, ммоль/(л•год)	0,76±0,04	1,39±0,06***	1,62±0,08***
АлАТ, ммоль/(л•год)	0,61±0,03	1,63±0,08***	1,90±0,10***
Сечовина, ммоль/л	5,4±0,45	5,7±0,40	7,2±0,54*
Креатинін, мкмоль/л	90,5±6,74	95,4±7,52	140,3±10,5***
Загальний кальцій, ммоль/л	2,5±0,04	2,6±0,05	2,9±0,03**
Неорганічний фосфор, ммоль/л	1,4±0,02	1,5±0,03*	1,5±0,02*

Примітка: значення p:

p: * – $<0,05$; ** – $<0,01$; *** – $<0,001$; решта – $>0,05$.

*p< – порівняно з клінічно здоровими тваринами

Загальновідомо, що досить важливими за діагностики патології печінки є результати визначення активності ензимів, таких як АлАТ та АсАТ. Дані ензими є індикаторами структурних змін у гепатоцитах як за гострого паренхіматозного гепатиту, так і за хронічного гепатиту та гепатодистрофії. Встановлено, що в сироватці крові собак контрольної групи рівень активності АлАТ та АсАТ становив в середньому $0,61 \pm 0,03$ і $0,76 \pm 0,04$ ммоль/(л•год). У сироватці крові тварин уражених низько злоякісною МСТs встановлено вірогідне підвищення активності АлАТ у 2,67 рази, та активності АсАТ – у 1,8 рази ($p < 0,001$), порівняно з показниками контрольної групи. Вірогідно вищі рівні активності ензимів, АлАТ у 3,1 рази і АсАТ – у 2,1 рази ($p < 0,001$) встановлено в собак за ураження високо злоякісною мастоцитомою.

Вміст загального білірубіну у клінічно здорових тварин знаходився в межах $2,7 \pm 0,2$ мкмоль/л. У тварин першої дослідної групи встановлено зростання вмісту загального білірубіну до $3,6 \pm 0,45$ мкмоль/л ($p < 0,05$), у другій дослідної групи – до $4,9 \pm 0,38$ мкмоль/л ($p < 0,001$), де порівняно з контрольною групою даний показник зріс в 1,3 та 1,8 рази відповідно. Таким чином відмічено, що за розвитку неоплазій шкіри у собак прослідковуються порушення функціонального стану печінки.

За результатами досліджень встановлено, що показник вмісту сечовини у крові контрольної та першої дослідної групи тево не відрізнявся і становив $5,4 \pm 0,45$ та $5,7 \pm 0,40$ ммоль/л. У крові тварин другої дослідної групи вміст сечовини був вищим в 1,3 рази, порівняно з показником контрольної групи, проте не виходив за межі референтних значень, властивих для даного виду тварин. Об'єктивну інформацію щодо функціонального стану нирок (зокрема фільтраційної функції) ми отримали за вмістом креатиніну в сироватці крові хворих тварин. Встановлено, що у крові тварин контрольної групи даний показник становив $90,5 \pm 6,74$ мкмоль/л, дещо вищим він був в тварин першої дослідної групи – $95,4 \pm 7,52$ мкмоль/л. Вірогідне зростання вмісту креатиніну встановлено у крові собак другої дослідної групи, де порівняно з контролем він зріс у 1,5 рази і сягав в середньому $140,3 \pm 10,5$ мкмоль/л.

Результати дослідження загального кальцію та неорганічного фосфору показали незначне зростання їх вмісту в сироватці крові тварин першої та другої дослідних груп порівняно з контролем, проте їх величини були в межах допустимих фізіологічних коливань.

Підсумовуючи результати гематологічних досліджень можна зробити висновок, що найбільш суттєві зміни встановлено у собак уражених високо злоякісною МСТs, зокрема у 62,5 % таких тварин встановлено анемію (зменшення кількості еритроцити на 14,7 %, рівня гемоглобіну на 21,5 %; $p < 0,001$), зниження вмісту загального білка на 15,3 % та альбуміну на 32,1 %, підвищений рівень активності АсАТ у 3,1 рази та АлАТ у 2,1 рази ($p < 0,001$). Лейкоцитоз із значним підвищенням кількості паличкоядерних нейтрофілів ($16,1 \pm 0,42$; $p < 0,001$) діагностовано у 62,5 % собак, у 37,5 % випадків еозинофілія ($7,8 \pm 0,18$; $p < 0,001$), в 43,7 % тварин відмічена тромбоцитопенія ($301,8 \pm 24,9$; $p < 0,001$) та моноцитоз. Водночас, у 69,7 % собак з низько злоякісними МСТs гематологічні показники знаходилися в межах фізіологічної норми і лише в окремих тварин було встановлено анемію, підвищену активність АлАТ у 2,7 рази й АсАТ – у 1,8 рази ($p < 0,001$), а також зміни морфологічних показників крові (зростання частки еозинофілів у 3,7 рази ($p < 0,001$), та паличкоядерних нейтрофілів у 1,3 рази ($p < 0,05$), що свідчило про наявність алергічно-запального процесу в організмі тварин.

Зауважено також, що у кожному конкретному випадку захворювання тварин на мастоцитозу шкіри варто застосовувати індивідуальний підхід щодо аналізу гематологічних показників.

Результати досліджень висвітлені в наукових працях [11, 202, 203].

РОЗДІЛ 4

КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ СОБАК ЗА МАТОЦИТОМИ ШКІРИ

4.1 Застосування хірургічного методу за лікування мастоцтоми

Сукупний аналіз представлених у попередніх розділах результатів досліджень показав, що вибір стратегії та тактики за лікування тварин із пухлинами опасистих клітин має ґрунтуватися не лише на даних щодо клінічної стадії та ступеня злоякісності пухлини, як це прийнято для більшості спонтанних неоплазій шкіри, а й враховувати надмірну проліферацію атипових опасистих клітин та зміни їх функціональної активності, які при цьому відбуваються. Адже з'ясовано, що патологічна активація та дегрануляція ОК, періодично провокує місцеві алергічно-запальні процеси в пухлині і шкірі суміжної ділянки (рис.4.1), що призводить до росту і збільшення об'єму пухлинної маси і, відповідно, зростання ступеня злоякісності мастоцитоми. Зрозуміло, що це і має бути враховано першочергово при складанні алгоритму лікувальних заходів, адже від величини пухлини залежить також можливість дотримання чистих хірургічних меж та недопущення в подальшому рецидиву.



Рис.4.1.Сука, метис, вік 7 років, 8 місяців. Маніфестація симптому Дар'є (почервоніння, набряк, свербіж пухлини та шкіри навколишньої ділянки) спровокованого пальпацією підчас місцевого дослідження мастоцитомою

Отже, з метою контролю дегрануляції опасистих клітин та, відповідно, попередження виникнення алергічно-запальної реакції та набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, в тому числі, попередження активації мастоцитів підчас проведення операції та в післяопераційний період, а також з метою зменшення об'єму пухлин, в першу чергу нерезектабельних, великих за розмірами, або таких, що локалізуються в ділянці голови, на кінцівках, в ділянці паха, промежини, було проведено неoad'ювантну глюкокортикоїдну терапію. А саме, за 10 днів до операції та в день її проведення, внутрішньом'язво або під основу пухлини застосовували дексаметазон. В цілому така неoad'ювантна терапія полягала у проведенні трьох ін'єкцій дексаметазону з інтервалом дві доби, в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини. Оцінювання терапевтичної ефективності неoad'ювантної терапії проводили за результатами фізикального обстеження та за зміною об'єму пухлини (до та після застосування препарату).

Таблиця 4.1

Зміни об'єму MCTs за неoad'ювантного застосування дексаметазону

Клінічна стадія	Кількість тварин	Об'єм пухлини, см ³		%	p
		до застосування	після застосування		
1	10	3,92±0,53	3,17±0,75	19,2	>0,05
2	13	43,4 ± 4,24	32,2 ± 2,9	25,8	<0,05
3	26	68,9 ±4,53	51,3±5,28	25,5	<0,05

Встановлено, що до лікування у собак з I стадію пухлинного процесу об'єм пухлин становив, в середньому, 3,92 см³ (Lim. 0,5-9,05 см³), в тварин з II клінічною стадією – 43,4 (Lim. 28,3-58,5 см³) і III – 68,9 см³ (Lim. 54,9-105,5 см³), в однієї собаки пухлина мала гігантські розміри і об'єм 277 см³. Після курсу неoad'ювантної терапії поміж тварин з I стадією об'єм пухлин зменшився в середньому на 19,2 % і становив 3,17 см³, у собак з II і III стадіями такі зменшення становили, відповідно, 25,8 % (32,2 см³) та 25,5 % (51,3 см³) (<0,05). В цілому загальна відповідь на неoad'ювантну терапію проявилася у 38 або

77,5 % собак зменшенням величини пухлин, у 2 (4,1 %) їх збільшенням і у 9 (18,4 %) тварин розмір пухлин не змінився. Позитивним результатом передопераційного застосування дексаметазону можна вважати покращення резектабельності новоутворень, що дозволило в 77,5 % собак провести екстирпацію пухлин в межах широкого хірургічного поля. Зокрема, у більшості собак видалення пухлин виконано в зоні здорових тканин із відступом 2-3 см навколо видимих меж неоплазії та захопленням у глибину однієї фасціальної площини нижче ураження (рис. 3.43 - 3.45). У 6 (12,2 %) тварин, в чотирьох з яких мастоцитоми локалізувалися в ділянці кінцівок, було проведено крайове висічення пухлин (відступ менше 2 см) із досягненням чистих країв екстирпації, що підтверджено цитологічним дослідженням. Водночас у 5 (10,2 %) собак чистих країв за виконання краєвої екстирпації мастоцитом не досягнуто з причини анатомічно незручної локалізації пухлини й обмеженого об'єму навколишніх тканин в зоні операційного поля та, відповідно, неможливого дотримання у даній ділянці принципів абластики.

Особливо важливу роль відіграла неоад'ювантна терапія для покращення резектабельності новоутворень у 6 (12,2 %) собак, в яких одночасно із екстирпацією мастоцитоми була проведена лімфаденектомія збільшених регіонарних лімфатичних вузлів. Незважаючи на те, що дана операція є досить травматичною, призводить до значної втрати тканин і великого дефекту рани та нерідко потребує проведення вмілої реконструкції та пластики рани, проведення її оправдано прогностичним значенням (рис. 4.2, 4.6), а саме зниженням ймовірності виникнення локального рецидиву та розвитку в подальшому віддалених метастазів. За повідомленням низки дослідників [47, 72, 173] регіонарні лімфатичні вузли є місцем нагромадження опасистих клітин, однак не завжди вдається диференціювати чи є вони реактивними чи неопластичними. Тому проведення лімфаденектомії у випадках виявлення збільшених регіонарних лімфатичних вузлів за MCTs шкіри є обов'язковою умовою комплексного лікування.



Рис. 4.2. Пес породи французький бульдог, вік 8,5 р. Низько злоякісна мастоцитома в дистальній ділянці стегна із ураженням підколінного РЛВ. (Т3б,в N1б M0)



Рис.4.3 Екстирпація пухлини в межах широкого хірургічного поля (з крайовим відступом більше 2 см).



Рис. 4.4. Видалення пухлин в зоні здорових тканин із відступом 2-3 см навколо видимих меж неоплазії та захопленням у глибину однієї фасціальної площини нижче пухлинного ураження



Рис. 4.5. Лімфаденектомія підколінного лімфатичного вузла



Рис. 4.6. Реконструкція та пластики післяопераційної рани



Рис. 4,7. Стан післяопераційної рани на 3добу

Аналіз проведення хірургічного етапу лікування собак з мастоцитомою шкіри показав, що позитивний терапевтичний ефект отриманий від застосування неоад'ювантної терапії дозволив у понад 77 % дослідних тварин зменшити зону хірургічних меж і, відповідно, травматичність операції та виконати екстирпацію новоутворень з мінімальною можливою втратою тканин.

За результатами клінічного спостереження впродовж післяопераційного періоду загальний стан прооперованих собак був задовільний. Очікуваного загострення запального процесу в післяопераційний період, спровокованого дегрануляцією ОК підчас операції, не встановлено.

У собак першої ($n=16$) та другої ($n=17$) груп площа післяопераційних ран після екстирпації пухлин була в межах від 6,25 см² до 56,0 см². Процес загоєння ран в даних тварин відбувся, в основному, за первинним натягом, за винятком 4 собак, у яких відмічено часткове розходження (прорізання лігатурою) країв рани в ділянці кінцівок. Шви були зняті на 8–12 добу.

У тварин третьої ($n=8$) та четвертої ($n=8$) груп екстирпацію мастоцитом проведено із значним висіченням навколишніх тканин, при цьому площа ран після операції становила 27,5-132 см². Можна відмітити, що операції проведені у тварин третьої та четвертої груп мали циторедуктивний характер.

В цілому, післяопераційний період відповідав характеру радикальності операцій і проходив без важких ускладнень. Хоча, в шести собак, у трьох в третій та трьох в четвертій групі, встановлено утворення сером, які було ліквідовано шляхом прицільної аспірації під контролем УЗД. У цих же тварин відбулося також часткове розходження країв рани, що виникло в ділянках надмірного натягу тканин по лінії шва. Зважаючи на характер загоєння ран в 37,5 % собак шви були зняті на 17-19 добу, в решти тварин на 10-12 добу.

Отже, підсумовуючи результати клінічного дослідження прооперованих собак можна відмітити, що загальний стан останніх був задовільним, а перебіг післяопераційного періоду відповідав характеру радикальності операцій і, загалом, проходив адекватно для втручань такого рівня складності. На даний час клінічний стан тварин дозволяв проводити подальші протипухлинні заходи.

4.2. Клініко-гематологічний статус собак за ад'ювантної хіміо- та біотерапії

Відповідно до дизайну дослідження та протоколу комплексного лікування у собак другої групи курс ад'ювантного застосування анфлурону було проведено відразу ж після оперативного видалення пухлин. Водночас у тварин третьої та четвертої груп після операції, починаючи з 12-14 доби, виконували ад'ювантну хіміотерапію за схемою вінбластин-циклофосфамід-дексаметазон (VCD), а після її завершення застосовували анфлурон. Під час застосування цитостатичних препаратів та імунотерапії регулярно здійснювали фізикальне обстеження собак та дослідження морфологічних показників крові. За результатами досліджень встановлено, що часові інтервали між застосуванням цитостатиків були достатніми для відновлення показників крові до фізіологічної норми і лише на завершальному етапі виконання хіміотерапії гематологічні показники зазнали певних супресивних змін. Проте це не створювало перешкод для виконання імунотерапії, оскільки загальний клінічний стан тварин, встановлений на підставі даних фізикального обстеження, можна було вважати як задовільний.

Морфологічні та біохімічні показники крові собак за проведення хіміотерапії

Критерієм для застосування хіміотерапії після хірургічного видалення мастоцитом у собак були: їх задовільний загальний стан, усунення післяопераційних ускладнень та відсутність у гематологічних показниках змін, які б могли обмежити застосування цитостатичних препаратів.

Отже, за результатами гематологічних досліджень (табл. 4.2, 4,3) та їх аналізу з'ясовано, що у дослідних собак перед проведенням хіміотерапії морфологічні показники знаходилися, в основному, в межах фізіологічної норми і від здорових тварин відрізнялися лише дещо нижчими величинами за кількістю еритроцитів на 10,8 % та рівнем гемоглобіну 9,9 % ($p > 0,05$). Окремі зрушення у величинах показав аналіз лейкограми.

Таблиця 4.2.

**Динаміка гематологічних показників собак за проведення хіміотерапії,
M±m, (n=16)**

показник	клінічно здорові,	до хіміотерапії,	після курсу хіміотерапії,
Гемоглобін, г/л	143,6±5,34	129,4±3,67*	97,1±3,15***
Еритроцити, Т/л	6,31±0,22	5,63±0,19*	4,32±0,15*** ●●
ВГЕ, пг	22,8±0,51	23,1±0,45	22,6±0,34
Величина гематокриту, %	45,2±1,52	41,3±1,75	30,7±1,82*** ●●
Середній об'єм еритроцитів, мкм ³	71,6±1,84	73,4±1,62	71,1±0,99
Тромбоцити, Г/л	418,5±25,4	388,8±29,5	274,8±45,8*•

Таблиця 4.3

**Кількість лейкоцитів та лейкограма собак за проведення
хіміотерапії, M±m, (n=16)**

показники		клінічно здорові,	до хіміотерапії,	після курсу хіміотерапії,
Лейкоцити, Г/л		9,4±0,41	9,9±0,37	6,3±0,22*** ●●
Базофіли, %		0	0	0
Еозинофіли, %		1,6±0,07	3,3±0,46**	3,5±0,31***
Нейтрофіли %	юні	0	0	0
	паличкоядерні	4,2±0,31	10,7±0,52***	10,3±0,66***
	сегментоядерні	57,6±1,41	58,0±0,76	64,9±0,91***
Моноцити, %		3,9±0,37	3,4±0,21*	3,6±0,30
Лімфоцити, %		32,7±1,57	24,6±0,98***	17,7±0,72*** ●●
в т.ч. ВГЛ		7,5±0,41	2,1±0,21	0,7±0,36*** ●●

Примітка: значення p: *,• – <0,05; ●● – <0,01; *** ●● – <0,001; решта – >0,05

•p₁< – порівняно з показниками тварин дослідної групи

*p< – порівняно з клінічно здоровими тваринами

Лейкограма характеризувалася підвищенням відсотком паличкоядерних ($p<0,001$), що свідчило про зрушення ядра вліво, еозинофілів ($p<0,01$). Порівняно із клінічно здоровими тваринами, меншою була кількість тромбоцитів знижений відсоток лімфоцитів ($p<0,001$), при цьому кількість великих гранульованих лімфоцитів була меншою у 3,6 раза.

За проведення біохімічного аналізу крові (табл. 4.4) встановлено, що в сироватці крові дослідних тварин, перед застосуванням цитостатичних препаратів, вміст протеїну, загального кальцію неорганічного фосфору були в межах референтних показників і не відрізнялися від величин у здорових тварин. Водночас вміст альбумінів був нижчим на 8,2 % ($p<0,05$), порівняно з клінічно здоровими, а активність АЛАТ і АсАТ на 54,8 % і 48,3 % ($p<0,05$) підвищеними.

Таблиця 4.4

**Біохімічні показники крові собак до та після виконання
хіміотерапії, $M \pm m$, $n=16$**

показник	клінічно здорові,	до хіміотерапії,	після хіміотерапії,
Загальний протеїн, г/л	71,7 $\pm$ 2,05	69,6 $\pm$ 1,43	64,3 $\pm$ 1,55**••
Альбуміни, г/л	35,2 $\pm$ 1,10	32,3 $\pm$ 0,90*	28,2 $\pm$ 0,95***
Загальний білірубін, мкмоль/л	2,7 $\pm$ 0,26	3,4 $\pm$ 0,37*	4,8 $\pm$ 0,30***••
АсАТ, ммоль/(л•год)	0,76 $\pm$ 0,04	1,35 $\pm$ 0,09***	1,85 $\pm$ 0,10***•••
АЛАТ, ммоль/(л•год)	0,61 $\pm$ 0,03	1,18 $\pm$ 0,07***	2,12 $\pm$ 0,12***•••
Сечовина, ммоль/л	5,4 $\pm$ 0,45	5,3 $\pm$ 0,38	6,0 $\pm$ 0,39
Креатинін, мкмоль/л	90,5 $\pm$ 6,74	95,0 $\pm$ 5,92	123,9 $\pm$ 6,47**••
Загальний кальцій, ммоль/л	2,5 $\pm$ 0,04	2,6 $\pm$ 0,08	2,5 $\pm$ 0,10
Неорганічний фосфор, ммоль/л	1,40 $\pm$ 0,02	1,44 $\pm$ 0,04	1,47 $\pm$ 0,06

Примітка: значення p : *, • – $<0,05$; •• – $<0,01$; ***, ••• – $<0,001$; решта – $>0,05$

• p_1 < – порівняно з показниками тварин дослідної групи

* p < – порівняно з клінічно здоровими тваринами

За результатами гематологічних досліджень (табл. 4.2, 4.3) встановлено, що після проведення хіміотерапії у дослідних тварин відбулося зменшення кількості еритроцитів – на 23,3 ($p < 0,001$), гемоглобіну – на 25,0 % ($p < 0,001$), величини гематокриту – на 10,6 % ($p < 0,001$), кількості тромбоцитів на 29,3 ($p < 0,05$) і лейкоцитів на 25,0 % ($p < 0,001$). При цьому частка лімфоцитів зменшилась на 6,9 % ($p < 0,001$), в тому числі великих грануловмісних лімфоцитів (ВГЛ) в 3 рази ($0,7 \pm 0,36$ %; $p < 0,01$). Вміст ацидофільних гранул у цитоплазмі ВГЛ сягав 1–5, при нормі не менше п'яти. Встановлені результати досліджень вказують на розвиток у дослідних тварин анемії, цитостатичної гемосупресії та пригнічення природної резистентності а, зокрема, низьку активність природних кілерів, НК-клітин, які відіграють важливу в протипухлинному захисті.

На порушення функціонального стану печінки вказували біохімічні показники, зокрема зменшення вмісту в сироватці крові загального протеїну на 7,6 % ($p < 0,01$), альбумінів – на 12,7 % ($p < 0,01$), збільшення активності печінкових ензимів АсАТ та АлАТ, відповідно у 1,4 та 3 рази ($p < 0,001$), рівня загального білірубіну – на 29,2 % ($p < 0,01$) і креатиніну - 23,6 % ($p < 0,01$).

Отже, підсумовуючи результати гематологічних досліджень встановлено, що виконання двох курсів ад'ювантної хіміотерапії (з інтервалом 21 день) за схемою циклофосфан-вінбластин-дексаметазон (CVD) проявляється цитостатичною гемосупресією, гепато-анемічним синдромом, зниженням імунного захисту, що пов'язано із застосуванням хіміотерапії.

Морфологічні та біохімічні показники крові собак за проведення імунотерапії

На завершальному етапі комплексного лікування собак з неоплазіями ОК увагу акцентовано на проведення клініко-експериментальних досліджень щодо заходів імунотерапії. Метою такого лікування була корекція післяопераційної і цитостатичної гемосупресії та природної резистентності, а також покращення якості життя тварин. Згідно дизайну досліджень собакам другої групи ($n=17$) після екстирпації пухлини і, четвертої ($n=8$), після операції та хіміотерапії, застосовували анфлурон – водний розчин рекомбінантного α - γ -

інтерферону. Препарат вводили внутрішньом'язово, перші три дні у дозі 1 млн. (малим) і 2 млн. МО/гол. (великим собакам) один раз на добу, в подальшому підтримуючі дози ($\frac{1}{2}$ ударної дози) упродовж трьох тижнів.

За результатами клінічного дослідження встановлено, що упродовж періоду застосування анфлурону загальний стан тварин був задовільний, жодної негативної реакції організму на застосування препарату не відмічено. Реабілітаційний період у дослідних собак другої і четвертої груп відбувався адекватно до попередньо застосованого лікування та, відповідно, загального стану на момент застосування імунотерапії. Слід зауважити, що випробування препарату проводилося у собак як за низько злоякісної (друга група), так і високо злоякісної мастоцитоми (четверта група).

Про позитивний перебіг відновального періоду у дослідних тварин більш детально свідчили результати дослідження крові. Так, за результатами гематологічних досліджень після завершення курсу імунотерапії, встановлено (табл. 4.5), що після проведення імунотерапії у дослідних тварин другої групи відбулося збільшення кількості еритроцитів – на 6,5 % гемоглобіну – на 5,7 %, величини гематокриту – на 5,2 % ($p < 0,001$), кількості тромбоцитів на 17,8 % ($p < 0,05$). Водночас відмічено незначне зменшення кількості лейкоцитів. При цьому частка лімфоцитів зросла на 6,2 % ($p < 0,001$) в тому числі великих грануловмісних лімфоцитів (ВГЛ) в 4,3 рази (з $1,3 \pm 0,26$ до $5,6 \pm 0,60$ %; $p < 0,01$). Вміст ацидофільних гранул в цитоплазмі ВГЛ становив 8-10. Встановлено також невірогідне зростання частки еозинофілів, паличкоядерних нейтрофілів і моноцитів та зниження відсотка сегментоядерних нейтрофілів ($p < 0,001$). У тварин четвертої групи, яким проводили хіміотерапію зміни були більш вагомими, кількість еритроцитів збільшилася – на 17,2 %, тромбоцитів - на 13,8 % ($p < 0,05$), вміст гемоглобіну – на 13,3 % ($p < 0,05$), величини гематокриту зросла на 4,5 % ($p < 0,05$). Аналогічно як і в другій групі зросла частка еозинофілів, паличкоядерних нейтрофілів і моноцитів за рахунок зменшення на 7 % ($p < 0,001$) сегментоядерних нейтрофілів. На 4,5 % ($p < 0,001$) зросла частка лімфоцитів, в тому числі ВГЛ у 6,3 рази ($p < 0,01$).

Таблиця 4,5

**Динаміка гематологічних показників в собак за застосування
анфлуруну, $M \pm m$, ($n=25$)**

показник		2 група, ($n=17$)		4 група, ($n=8$)	
		до застосування	після	до застосування	після
Гемоглобін, г/л		128,7 $\pm$ 3,52	136,5 $\pm$ 3,23	97,1 $\pm$ 3,15	112,5 $\pm$ 6,15*
Еритроцити, Т/л		5,8 $\pm$ 0,38	6,2 $\pm$ 0,29	4,32 $\pm$ 0,4	5,29 $\pm$ 0,20 *
ВГЕ, пг		22,5 $\pm$ 0,32	21,9 $\pm$ 0,20	22,6 $\pm$ 0,34	22,1 $\pm$ 0,33
Величина гематокриту, %		38,3 $\pm$ 1,6	43,5 $\pm$ 1,31*	30,7 $\pm$ 1,82	35,4 $\pm$ 1,23 *
Середній об'єм еритроцитів, мкм ³		71,8 $\pm$ 1,0	72,1 $\pm$ 0,85	71,1 $\pm$ 0,99	72,7 $\pm$ 1,11
Тромбоцити, Г/л		326 $\pm$ 17,8	396,5 $\pm$ 25,4 ***	274,2 $\pm$ 15,8	318,2 $\pm$ 17,8 ***
Лейкоцити, Г/л		8,3 $\pm$ 0,67	7,8 $\pm$ 0,42	6,2 $\pm$ 0,29	6,0 $\pm$ 0,22
Еозинофіли, %		3,6 $\pm$ 0,23	4,1 $\pm$ 0,38	3,5 $\pm$ 0,31	4,3 $\pm$ 0,46
Нейтрофіли	ю	0	0	0	0
	п	10,8 $\pm$ 0,29	11,6 $\pm$ 0,61	10,3 $\pm$ 0,66	11,5 $\pm$ 0,52
	с	61,8 $\pm$ 1,18	53,8 $\pm$ 0,81 ***	64,9 $\pm$ 0,76	57,9 $\pm$ 0,85 ***
Моноцити, %		3,7 $\pm$ 0,33	4,2 $\pm$ 0,41	3,6 $\pm$ 0,30	4,4 $\pm$ 0,30
Лімфоцити %		20,1 $\pm$ 1,07	26,3 $\pm$ 0,30 ***	17,7 $\pm$ 0,72	22,3 $\pm$ 1,00 ***
в т.ч. ВГЛ		1,3 $\pm$ 0,26	5,6 $\pm$ 0,60 **	0,7 $\pm$ 0,36	4,4 $\pm$ 0,45 **

Примітка: значення p : * – $<0,05$; ** – $<0,01$; *** – $<0,001$; решта – $>0,05$

порівняно до показників до застосування препарату

Таблиця 4,6

**Динаміка біохімічних показників крові собак за застосування
анфлуруну, $M \pm m$, ($n=25$)**

показник	2 група, ($n=17$)		4 група, ($n=8$)	
	до застосування	після	до застосування	після
Загальний протеїн, г/л	69,6±1,43	71,6±1,25	64,3±1,55	71,1±1,45**
Альбуміни, г/л	32,3±0,90	35,2±0,65*	28,2±0,95	31,9±0,80*
Загальний білірубін, мкмоль/л	3,4±0,37	2,2±0,25*	4,8±0,30	4,0±0,26*
АсАТ, ммоль/(л•год)	1,35±0,09***	0,6±0,04***	1,85±0,10	1,21±0,15**
АлАТ, ммоль/(л•год)	1,18±0,07***	0,61±0,03***	2,12±0,12	1,12±0,09 ***
Сечовина, ммоль/л	5,3±0,38	5,4±0,45	6,0±0,39	5,2±0,36
Креатинін, мкмоль/л	95,0±5,92	90,5±6,74	123,9±6,47	95,6±6,95***
Загальний кальцій, ммоль/л	2,6±0,08	2,5±0,04	2,5±0,10	2,45±0,11
Неорганічний фосфор, ммоль/л	1,44±0,04	1,46±0,05	1,47±0,06	1,50±0,05

Примітка: значення p : *— <0,05; ** — <0,01; ***— <0,001; решта —>0,05

порівняно до показників до застосування препарату

Аналіз біохімічних показників (табл 4,6) показав позитивну терапевтичну ефективність застосування анфлурону в тварин як другої, так і більш виражену, у четвертій групі. Зокрема, у сироватці крові собак другої групи встановлено збільшення вмісту загального протеїну на 2,8 % і альбумінів у на 8,2 % ($<0,05$), у четвертій групі, відповідно, на 9,6 ($<0,05$) та 11,6 % ($<0,01$). Вміст загального білірубіну знизився на 35,3 % ($<0,05$) у другій та 16,7 ($<0,05$) у четвертій групі. Суттєвого зниження зазнали показники активності печінкових ферментів У собак другої групи активність АсАТ та АлАТ знизилася у 2,2 ($<0,001$) та 1,9 ($<0,001$) рази, в четвертій – 1,5 ($<0,01$) та 1,9 ($<0,001$) рази, що можна вважати ознакою відновлення функціонального стану та структури печінки. Значного зниження зазнали, особливо у тварин четвертої групи, величини вмісту креатиніну - на 22,8 % ($<0,001$) та сечовини на 13,3 %. Встановлені величини інших біохімічних показників не зазнали суттєвих змін.

Отже, можна зробити висновок, що застосування рекомбінантних α - γ -інтерферонів і, зокрема анфлурону має позитивний вплив на лікування онкологічно хворих собак за прояву гемосупресії, імунологічної недостатності, гепато-анемічного синдрому та інших побічних ефектів, що виникають як підчас операції (застосування наркозу), так і під впливом цитостатичних препаратів. Застосовання таких реабілітаційних заходів корегує відновлення кровотворної функції кісткового мозку та білоксинтезувальної функції печінки.

4.3. Порівняльна ефективність різних методів лікування собак

Аналізуючи результати клініко-експериментальних досліджень різних способів лікування собак із МСТs, які були застосовані адекватно характеру пухлин, можна стверджувати про позитивну терапевтичну ефективність кожного із них. Однак, найбільш показовим критерієм, що використовується за оцінювання ефективності лікування онкологічно хворих собак, є показник загальної виживаності, медіана загальної виживаності, а також безрецидивна виживаність тварин та якість життя.

Таблиця.4,7

**Порівняльна характеристика терапевтичної ефективності
різних методів лікування собак за мастоцитоми шкіри**

Результати спостережень	Група тварин							
	I (n = 16)		II (n = 17)		III (n = 8)		IV (n = 8)	
	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%
Загинули протягом першого року після операції	-	-	-	-	4	50.0	3	37.5
– в т. ч. впродовж 1-6 міс	-	-	-	-	3	37.5	1	12.5
7-12 міс	-	-	-	-	1	12.5	2	25.0
виявлено метастази/ рецидиви *								
1 – 6 міс	-	-	-	-	2	25,0	1	12.5
7 –12 міс	-	-	-	-	1	12.5	1	12.5
Залишилися під контролем на кінець першого року	16	100	17	100	4	50.0	5	62,5
Загинули протягом другого року після операції	4	25.0	3	17,64	2	25.0	2	25.0
в т. ч. впродовж 13 –18 міс	2	12.5	1	5,88	2	25.0	-	-
19–24 міс	2	12.5	2	11,76	-	-	2	25.0
Виявлено метастази / рецидиви *								
13–18 міс	1	6,25	-	-	1	12.5	-	-
19–24 міс	1	6,25	1	5,88	-	-	-	-
– вибули з під контролю	2	12.5	2	11,76	1	12.5	1	12.5
Загинуло всього тварин за два роки спостережень	4	25,0	3	17,64	6	75	5	62,5
Залишилися під контролем після двох років спостереження	10	62.5	12	70,56	1	12.5	2	25
виявлено метастази/рецидиви *	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: * – відсоток від кількості тварин, що знаходилися під контролем

За результатами клінічних досліджень та спостережень, які були проведені нами впродовж двох років, встановлено (табл. 4,8), що загальна виживаність тварин упродовж першого року становила в першій та другій групах 100 %, у третій – 50,0 % та у четвертій – 62,5 % і за два роки, відповідно, в першій - 62,5, другій - 70,6 %, третій - 12,5 і четвертій – 25 %.

Передусім потрібно зауважити, що поряд із 100 % виживаністю впродовж першого року спостережень поміж собак першої та другої груп нами не зареєстровано жодного випадку прояву хвороби (післяопераційного рецидиву чи метастазів). Такі результати досліджень узгоджуються з повідомленнями низки дослідників [74, 158, 179], які стверджують, що у випадках гістологічного підтвердження низької злоякісності за мастоцитом I та II клінічної стадії достатньо провести екстирпацію неоплазії з дотриманням широких хірургічних меж і немає необхідності в подальшому лікуванні тварин. Однак, враховуючи, що більшість пухлин опасистих клітин можуть мати мінливу і непередбачувану біологічну поведінку, собакам другої дослідної групи, після хірургічного видалення неоплазій нами було застосовано імунотерапію. Як засвідчили результати досліджень у даній групі виникнення рецидиву захворювання встановлено в однієї тварини (5,88 %), загинуло за два роки спостережень три тварини (17,64 %) і виживаність становила 70,6 %. Водночас серед собак першої групи впродовж другого року спостережень метастази у регіонарні лімфатичні вузли виявлено у 2 (12,5 %) тварин, загинуло 4 (25 %), виживаність становила 62,5 %.

Як показав аналіз результатів наших спостережень найбільш агресивний розвиток пухлин опасистих клітин можна було спостерігати поміж собак третьої та четвертої групи. Адже встановлено, що безрецидивний період перебігу хвороби в тварин з високозлоякісними мастоцитомами тривав в середньому два місяці. Перші летальні випадки спричинені швидким ростом мастоцитом було констатовано через два місяці після операції в четвертій групі та через три місяці у третій групі. У першому випадку загинула собака з четвертою стадією, а в другому з третьою стадією МСТs. В цілому, впродовж

двохрічного спостереження, в третій групі встановлено місцевий рецидив в однієї собаки (12,5 %) і метастази в лімфатичні вузли у трьох тварин (37,5 %), у цей же час в двох (25 %) тварин четвертої групи мав місце лише місцевий рецидив пухлини. За повідомленнями літератури маніфестація метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах вважається одним з основних несприятливих чинників для багатьох злоякісних пухлин, у тому числі й мастоцитом шкіри.

Як показали результати наших спостережень за два роки загинуло в третій групі 6 тварин (75 %) і виживаність становила 12,5 %, водночас серед собак четвертої групи загинуло 5 (25 %) тварин, виживаність становила 25 % (табл. 4.8).

Слід відмітити, що впродовж другого року спостережень вибули з під контролю дві собаки з I групи, що становить (12,5 %), дві тварини з II групи (11,76 %) та по одній з III та IV груп (12,5 %). Однак наявну інформацію про дані тварини було цензуровано, а їхні показники долучені до статистичних обчислень. З метою встановлення медіани виживаності дослідних тварин проводили також побудову графіків Каплана-Майєра (рис.4.8).

Як показав аналіз кривих Каплана-Майєра подовжений період загальної виживаності серед собак першої та другої груп медіана виживаності становила більше 24 місяці, оскільки впродовж двохрічного спостереження більшість тварин залишалися живими, а показник летальності серед них не досягнув межі 50 %. При цьому тривалою була безрецидивна виживаність, адже впродовж першого року спостереження у жодної із тварин даних груп не встановлено прояву хвороби, випадків місцевого рецидиву чи метастазування у лімфатичні вузли. Важливо відмітити, що в 62,5 % собак із мастоцитомами низької злоякісності, яким проведено хірургічне видалення неоплазій (перша група), а також в 70,56 % тварин, яким після екстирпації пухлин було застосовано імунотерапію (друга група) після двохрічного спостереження не виявлено місцевого рецидиву та метастазування MCTs, що може свідчити про стійку ремісію та видужання.

Таблиця 4,8

Вживаність дослідних собак впродовж двох років спостережень, %

Результати спостережень		Група тварин			
		Низько злоякісні МСТs		Високо злоякісні МСТs	
		I (n = 16)	II (n = 17)	III (n = 8)	IV (n = 8)
Вживаність, %	12 міс	100	100	50,0	62
	24 міс	62,5	70,5	12,5	25,0
Медіана тривалості життя, місяці		> 24	> 24	7	19

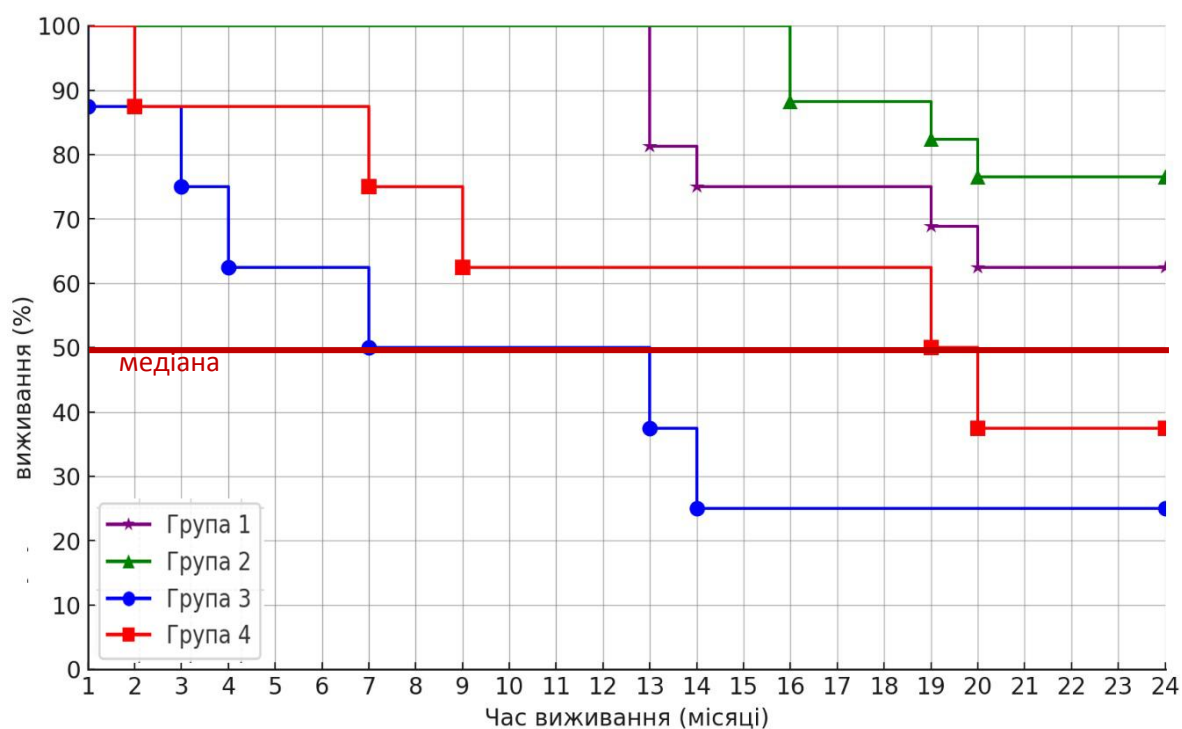


Рис. 4.8. Криві Каплана-Маєра, що відображають виживаність собак з мастоцитомою шкіри за різних методів лікування

Водночас встановлено, що медіана тривалості життя поміж собак із високоезлоякісними мастоцитами в третій групі становила 7 місяців і була вірогідно коротшою порівняно показником 19 місяців ($p < 0,05$), встановленим в тварин четвертої групи, яким було застосовано анфлурон (рекомбінантні α - і γ -інтерферони). Безрецидивна виживаність в обидвох групах була надзвичайно короткою і становила в середньому 2 місяці. По завершенні двохрічного спостереження стійку ремісію встановлено у 12,5 % собак третьої та 25 % тварин четвертої групи (табл. 4.8).

Таким чином можна відмітити, що мультимодальний підхід до лікування собак з МСТs, який включає комбінацію хірургічного втручання, хіміотерапії та імунотерапії, адаптованої до профілю кожного пацієнта, може підвищити показники виживання та якості життя тварин. Результати досліджу засвідчили також, що анфлурон, як імуномодулятор загальної дії є цінним під час лікування багатьох патологій, де необхідна дієва активація клітинного й гуморального імунітету, в тому числі за імунодефіцитних та імуносупресивних станів, спричинених онкологічними захворюваннями та негативним впливом хіміотерапії.

Результати досліджень висвітлені в наукових працях [13,201]

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Ретроспективний аналіз даних моніторингу епідеміологічної ситуації щодо онкологічних захворювань тварин у м. Львів та в приміській зоні обласного центру за 49-річний період (1975–2024 рр.) засвідчив зростання онкологічної патології у собак більше ніж у 5,8 раза. Так, відповідно до повідомлень [152, 153] за період 1975-1985 роки частка собак з неоплазіями становила 2,8 %, у 1986–1987 рр. - 4 %, впродовж 1990–1998 років - 5,5 %, за 2000–2010 рр. - 7,24 %, за 2011–2015 рр. відсоток тварин, хворих на пухлини, в структурі загальної кількості собак із хірургічною патологією становив 8,1 % (6,2–12,1 %). Суттєве зростання захворюваності на пухлини встановлено упродовж 2016–2024 рр. де частка собак з неоплазіями коливалася в межах 10,56–23,74 %, в середньому, 16,2 %. [14]. Зростання кількості тварин з онкологічними захворюваннями в м. Львові та ОТГ за 2022-2024 роки [202] можна пояснити кількома причинами. Зокрема, за рахунок тенденційного збільшення на сьогодні популяції собак в регіоні в цілому, а також з причини переміщення тварин із східних областей України в західні через війну та бойові дії на сході держави. Зрозуміло, що частина таких тварин були хворими на різні хвороби, в тому числі і на пухлини. Певну «лепту» у виникнення захворювання вносить сьогоднішній стан урбанізації та екології тварин. Парадоксальною повстала також нинішня ситуація із покращенням ветеринарного сервісу для дрібних домашніх тварин, адже оснащення ветеринарних клінік новітньою та сучасною апаратурою суттєво покращує діагностичні та терапевтичні можливості в забезпеченні здоров'я собак, що, відповідно, призводить до збільшення тривалості життя. Водночас зростання чисельності тварин похилого віку створює групу ризику онкологічних захворювань, адже відомо, що тварини старшої вікової категорії є найбільш схильними до неоплазій.

Як засвідчили результати наших досліджень за період виконання роботи 2016-2024 рр. серед 5277 собак із хірургічною патологією онкологічні

захворювання діагностовано у 848 (16,2 %) собак, в тому числі 285 (33,6 %) тварин із неоплазіями шкіри. Поміж останніх у 49 собак, що становить 17,2 %, було діагностовано мастоцитому шкіри. Дані тварини стали об'єктом наших досліджень і пройшли повний курс діагностично-лікувальних заходів. Встановлено, що у розрізі породної приналежності найбільшу частку займали собаки породи стаффордширський тер'єр, ротвейлер та спанієль по 10,2 %, а також французький бульдог, чау-чау та лабрадор, відповідно, 8,1 %, шарпей, англійський бульдог, боксер, німецька вівчарка та безпородні собаки – 6,1 %, кане-корсо, доберман та мопс - по 4 % і середньоазіатська вівчарка - 2 %. Тварини, 26 (53,06 %) псів і 23 (46,94 %) суки були віком від 4 до 16 років, некастровані. У віковому аспекті тварини розподілилися наступним чином: віком 4 роки – 2,0 %; відповідно, 5– 6 років – 8,16 %; 7–8 років – 18,4 %; 9–10 – 40,82 %; 11–12 – 18,37 %; 13–14 – 6,12 %; старші 15 років – 6,12 %. Медіана захворюваності становила 9,5 роки, а мода припадала на вік 9-10 років.

За повідомленнями зарубіжних дослідників [47, 48, 142, 148, 182, 183] захворювання собак на мастоцитому в країнах Європи, Північної та Південної Америки знаходиться в межах 7–21% (медіана 7–9 років; мода 9–10 років). Слід відмітити, що показники захворюваності собак на мастоцитому шкіри у наших дослідженнях становлять, відповідно, - 18,75 %, медіана 9,5 роки і мода 9 років і, в цілому, поєднуються із зарубіжними повідомленнями. Згідно даних [135, 183], найвищий ризик розвитку MCTs притаманний для собак таких порід як: боксер, американський стаффордширський тер'єр, лабрадор ретрівер, бостонський тер'єр, бігль, англійський та французький бульдоги, шарпей, мопс. Проте, як засвідчують наші дані, поряд із вищевказаними породами, високі показники захворюваності (12,5–17 %), можуть траплятися і серед собак інших порід, зокрема ротвейлер, доберман, чау-чау, кокер-спанієль, рідше у німецької вівчарки, алабая. Очевидно такі розбіжності із даними літератури можна пояснити прерогативою поширення тварин тих чи інших порід в різних географічних популяціях.

Другий етап - діагностичний. Результати фізикального обстеження собак на момент поступлення в клініку та за проспективного спостереження показали значну поліморфність клінічного прояву МСТ, найчастіше різних за величиною вузлуватих утворень, ріст яких у 87,7 % тварин супроводжувався місцево вираженою алергічно-запальною реакцією, набряком як у пухлині, так і в навколишніх тканинах, еритемою, свербіжем, алопецією над пухлиною, утворенням виразок. За сонографії пухлини ОК візуалізувалися у вигляді солідного гіперваскулярного вогнища з центральним типом васкуляризації, яка була переважно хаотичною, з великою кількістю анастомозуючих ділянок з турбулентним потоком. Утворення таких вогнищ вказувало на високоактивну фазу неопластичного процесу, тобто інтенсивний його ріст на тлі дифузної інфільтрації прилеглих тканин та вираженої запальної реакції.

Зважаючи на різноманітність клінічного прояву, за надходження тварин в клініку, діагноз на мастоцитому встановлювали комплексно на підставі даних фізикального, соно- та рентгенографічного дослідження тварин та цитологічної ідентифікації неоплазій після виконання тонкоголкової біопсії. Даний алгоритм дослідження регламентований Європейськими консенсусними рекомендаціями [47] і був використаний нами за проведення досліджень. Верифіковані пухлини оцінювали згідно критеріїв клінічної класифікації за системою TNM. При цьому встановлено у 20,5 % собак I стадію розвитку пухлинного процесу в 26,53 % тварин – II, у 51 % – III і в 2 % тварини – IV стадію. Згідно досліджень [99, 177] доведено, що у випадку застосування гістологічних критеріїв двоступеневої класифікації (зернистість, мітотичні показники, бінуклеація, багатоядерність, ядерний плеоморфізм та анізокаріоз) за проведення цитологічного дослідження біоптатів дозволяє класифікувати неоплазії на високо злоякісні та низько злоякісні. Таким чином, підчас первинного обстеження та встановлення клінічної стадії, за цитологічного дослідження біопсійного матеріалу в 38 (77,55 %) тварин нами встановлено низько злоякісні пухлини і у 11 (22,45 %) випадках високо злоякісні неоплазії. У той же час, за результатами гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу, відповідно

до критеріїв двоступеневої класифікації Kiupel, мастоцитому низького ступеня злоякісності, верифіковано у 36 (73,47 %) собак і, відповідно, у 13 (26,53 %) тварин МСТs високого ступеня злоякісності. При цьому, згідно морфометричних показників, встановлених за цитологічних та гістологічних досліджень, у 2 випадках нами отримано помилково негативний результат, а саме цитологічно (за первинного обстеження) було встановлено низький, а гістологічно верифіковано високий ступінь злоякісності неоплазії). Показник узгодженості цитологічного та гістологічного оцінювання становив 96,8 %.

За результатами морфометричного дослідження онкомастоцитів встановлено, що у випадках високо диференційованої МСТs, об'єм клітини в середньому становив $545,4 \pm 64,2 \text{ мкм}^3$, а об'єм ядра $77,5 \pm 8,80 \text{ мкм}^3$, ЯЦВ складало $0,20 \pm 0,011$, що свідчило про зсув ЯЦВ в сторону цитоплазми. За низько диференційованої МСТs показники об'єму клітини та об'єму ядра були збільшеними і становили в середньому $590,24 \pm 75,61 \text{ мкм}^3$ та, відповідно $102,31 \pm 8,79 \text{ мкм}^3$ ($p < 0,05$), ЯЦВ - $0,24 \pm 0,013$. Збільшення величини ядра та підвищення показника ЯЦВ клітинного пулу опасистих клітин за низько диференційованої МСТs вказує на ознаки клітинної атипії та їх малігнізацію.

Згідно даних літератури про схожі результати гістологічної верифікації мастоцитом (67,1 % – низько злоякісні і 32,9 % – високо злоякісні) повідомляють Horta et al., 2018 [92]. Водночас [59] у 56,67 % зразках мастоцитом встановили високо- і в 43,33 % – низько злоякісні МСТs. За даними [59] серед собак уражених мастоцитомою у м. Люблін (Польща) низько злоякісні неоплазії класифіковано у 75,8 % випадках і в 24,2 % високо злоякісні МСТs. Про подібні результати (74,46 % та, відповідно, 25,54 %) повідомляють [90].

За вивчення МСТs нами проведено цілісний аналіз виявлених змін на клітинному, тканинному та ультраструктурному рівнях. Виявлені ультраструктурні зміни підтверджують нетипову будову ОК як пухлино специфічних клітин, що становлять основну компоненту за МСТs у собак.

За порівняльного аналізу клінічних стадій та гістологічних ступенів шкірної масоцитомі встановлено, пряму кореляцію між величиною пухлини та ступенем її злоякісності, оскільки прослідковується тенденція, при якій, поряд із зростанням показника T, що за клінічної TNM класифікації неоплазії відображає її розмір, зростає і кількість випадків верифікації новоутворень, які мають злоякісний характер. Встановлено також, що стрімко прогресуючий і, відповідно, більш злоякісний перебіг захворювання характерний для мастоцитом, що локалізуються в собак в ділянках тіла вільно доступних для постійного травмування (кінцівки, пахвина, промежина, шия).

За клінічного обстеження собак з MCTs проведено гематологічні дослідження для встановлення функціонального стану органів та систем організму в цілому, а також для визначення важкості перебігу хвороби за високо злоякісних та низько злоякісних неоплазій. Аналіз показників крові показав суттєві зміни у собак уражених високо злоякісною MCTs, зокрема у 62,5 % таких тварин встановлено анемію (зменшення кількості еритроцити на 14,7 %, рівня гемоглобіну на 21,5 %; $p < 0,001$), зниження вмісту загального протеїну на 15,3 % та альбуміну на 32,1 %, підвищений рівень активності АсАТ у 3,1 рази та АлАТ у 2,1 рази ($p < 0,001$). Лейкоцитоз із значним підвищенням кількості паличкоядерних нейтрофілів ($16,1 \pm 0,42$; $p < 0,001$) діагностовано у 62,5 % собак, у 37,5 % випадків еозинофілія ($7,8 \pm 0,18$; $p < 0,001$), в 43,7 % тварин відмічена тромбоцитопенія ($301,8 \pm 24,9$; $p < 0,001$) та моноцитоз. Водночас, у 69,7 % собак з низько злоякісними MCTs гематологічні показники знаходилися в межах фізіологічної норми і лише в окремих тварин було встановлено анемію, підвищену активність АлАТ у 2,7 рази й АсАТ – у 1,8 рази ($p < 0,001$), а також зміни морфологічних показників крові (зростання частки еозинофілів у 3,7 рази ($p < 0,001$), та паличкоядерних нейтрофілів у 1,3 рази ($p < 0,05$), що свідчило про наявність алергічно-запального процесу в організмі тварин.

Третій етап досліджень був спрямований на проведення клініко експериментального удосконалення та розробку ефективних методів лікування собак за MCTs та їх патогенетичне обґрунтування. Для цього 49 хворих собак

було розділено на чотири групи за принципом тварин аналогів. При формуванні дослідних груп за основу був взятий ступінь злоякісності та клінічна стадія неоплазій, враховували також клінічний прояв хвороби, вік, стать, живу масу та породу собак, локалізацію пухлин тощо. Відповідно, 33 тварини з мастоцитомою низької злоякісності, рандомізовано розподілили на дві групи - першу (контрольну, $n=16$) та другу (дослідну, $n=17$). Водночас з 16 собак з МСТs високого ступеня злоякісності створено також дві групи – третю (яка була контрольною) і четверту (дослідну), по 8 тварин у кожній.

У собак першої групи застосовано лише хірургічний метод видалення пухлини та подальше спостереження за процесом видужання й життя тварин.

У тварин другої групи після екстирпації неоплазії було застосовано вітчизняний лікарський препарат імуностимулюючої дії – Анфлурон.

Собакам третьої групи, після екстирпації пухлини застосували загальноприйнятну схему хіміотерапії, що включала цитостатичні препарати вінбластин і циклофосфамід та глюкокортикоїд преднізолон. У нашому дослідженні преднізолон замінено на препарат активнішої дії - дексаметазон.

У собак четвертої групи, аналогічно як і у третій хірургічно видаляли пухлину і за такою ж схемою застосували цитостатичні препарати. Проте, після завершення курсу хіміотерапії тваринам даної групи застосовано анфлурон.

Як засвідчили результати наших досліджень, ріст та розвиток мастоцитом, на відміну від інших солідних пухлин шкіри, супроводжується, зазвичай, запальним процесом, дифузним набряком та алергічною реакцією. На сьогодні доведено, що ОК належать до високоактивних тканинних елементів здатних продукувати цілу низку біологічно активних речовин і медіаторів (гістамін, гепарин, серотонін, хондроїтинсульфати, гіауронова кислота, протеази, глікопротеїни, фактор некрозу пухлин- α (TNF- α), хемотаксичний фактор міграції еозинофілів, інтерлейкіни (IL) та ін.) та депонувати їх у гранулах цитоплазми. Окрім цього на своїй поверхні ОК містять специфічні IgE-антитіла, відповідальні за розвиток алергічних реакцій. Водночас, активація та дегрануляція мастоцитів супроводжується вивільненням біологічно активних

речовин, що відіграє одну із провідних ролей в ініціюванні та перебігу як фізіологічних, так і патологічних процесів [37, 38, 40, 93, 191], в тому числі росту і збільшення об'єму пухлинної маси і, відповідно, зростання ступеня злоякісності мастоцитом. Зрозуміло, що це враховано нами при складанні алгоритму лікувальних заходів, адже від величини пухлини залежить також можливість дотримання чистих хірургічних меж та недопущення в подальшому рецидиву. Отож, з метою контролю дегрануляції опасистих клітин та, відповідно, попередження виникнення алергічно-запальної реакції та набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, в тому числі, попередження активації мастоцитів підчас проведення операції та в післяопераційний період, а також з метою зменшення об'єму пухлин, в першу чергу нерезектабельних, великих за розмірами, або таких, що локалізуються в ділянці голови, на кінцівках, в ділянці паха, промежини, було проведено неoad'ювантну глюкокортикоїдну терапію. А саме, за 10 днів до операції та в день її проведення, внутрішньом'язово або під основу пухлини застосовували дексаметазон. В цілому така неoad'ювантна терапія полягала у проведенні трьох ін'єкцій дексаметазону з інтервалом дві доби, в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини. За результатами застосування дексаметазону шляхом неoad'ювантної терапії у 77,5 % собак встановлено зменшення величини пухлин на 19,2-25,8 %, у 18,4 % тварин розмір пухлин не змінився і у 4,1 % відмічено незначне збільшення неоплазії. Таким чином, завдяки неoad'ювантній терапії у 77,5 % собак проведено екстирпацію пухлин в межах широкого хірургічного поля (з крайовим відступом >2 см),

У сучасній ветеринарній практиці за лікування собак з мастоцитомою застосовують як класичні (хірургічний, хіміотерапію, променеву терапію), так і інноваційні методи (імунотерапію, таргетну терапію (інгібітори тирозинкінази). Кожен з перелічених методів, може застосовуватися окремо або в комплексі з іншими. Тим не менше, відповідно до результатів численних досліджень MCTs [47, 48, 62, 158, 195, 196], в алгоритмі першої лінії лікування пріоритет надається хірургічному методу. Так, за одиноких пухлин, при відсутності

ураження лімфатичних вузлів та доказів метастазування (MCTs низького ступеня злоякісності за класифікацією Kiupel), екстирпацію неоплазії проводять із відступом 2-3 см навколо її видимих меж та захопленням однієї фаціальної площини нижче ураження. У випадках інтраопераційного досягнення „чистих країв екстирпації”, що обов’язково має бути підтверджено гістологічним дослідженням, подальше лікування не проводиться [74, 176, 179].

Як свідчать численні дослідження у собак із високо злоякісними MCTs, а також у випадках пухлин великих за розмірами або неоплазій, що локалізуються в ділянці голови, на кінцівках, в ділянці паха, промежини і за оперування яких неможливо дотриматися абластики, застосовують хіміотерапію. Прикладом такої ситуації були собаки третьої та четвертої груп, яким після екстирпації неоплазій було застосовано 2 курси хіміотерапії - за протоколом CVD (циклофосфан-вінбластин-дексаметазон).

За результатами фізикального обстеження собак та дослідження морфологічних показників крові (еритроцити, тромбоцити, лейкоцити, виведення лейкограми) встановлено задовільну переносимість від застосування цитостатичних препаратів. Температура тіла, частота пульсу та дихання були у нормі. Незначне пригнічення тварин, млявість та зниження апетиту були короткотривалими (1-3 доби). Часові інтервали між застосуванням цитостатиків були достатніми для відновлення показників крові до фізіологічної норми. Проте, лише на завершальному етапі виконання хіміотерапії гематологічні показники зазнали певних супресивних змін.

За результатами гематологічних досліджень встановлено, що після проведення хіміотерапії у дослідних тварин відбулося зменшення кількості еритроцитів – на 23,3 ($p<0,001$), гемоглобіну – на 25,0 % ($p<0,001$), величини гематокриту – на 10,6 % ($p<0,001$), кількості тромбоцитів на 29,3 ($p<0,05$) і лейкоцитів на 25,0 % ($p<0,001$). При цьому частка лімфоцитів зменшилась на 6,9 % ($p<0,001$), в тому числі великих грануловмісних лімфоцитів (ВГЛ) в 3 рази ($0,7\pm0,36$ %; $p<0,01$). Вміст ацидофільних гранул у цитоплазмі ВГЛ сягав 1–5, при нормі не менше п’яти. Відмічено також порушення функціонального стану

печінки вказували біохімічні показники, зокрема зменшення вмісту в сироватці крові загального протеїну на 7,6 % ($p < 0,01$), альбумінів – на 12,7 % ($p < 0,01$), збільшення активності печінкових ензимів АсАТ та АлАТ, відповідно у 1,4 та 3 рази ($p < 0,001$), рівня загального білірубіну – на 29,2 % ($p < 0,01$).

Встановлені результати досліджень вказують, що виконання двох курсів ад'ювантної хіміотерапії (з інтервалом 21 день) за схемою CVD спричиняє цитостатичну гемосупресію, гепато-анемічний синдром та пригнічення природної резистентності а, зокрема, низьку активність природних кілерів, НК-клітин, які відіграють важливу в протипухлинному захисті.

На завершальному етапі комплексного лікування собак з неоплазіями ОК увагу акцентовано на корекції післяопераційної і цитостатичної гемосупресії та природної резистентності, а також покращення якості життя тварин. Згідно дизайну досліджень собакам другої групи ($n=17$) після екстирпації пухлини і, четвертої ($n=8$), після операції та хіміотерапії, застосовували анфлурон – водний розчин рекомбінантного α - γ -інтерферону.

За результатами клінічного дослідження встановлено, що упродовж періоду застосування анфлурону загальний стан тварин був задовільний, жодної негативної реакції організму на застосування препарату не відмічено. Оскільки випробування препарату проводилося у собак як за низько злоякісної (друга група), так і високо злоякісної мастоцитоми (четверта група) реабілітаційний період у дослідних тварин відбувався адекватно до попередньо застосованого лікування та, відповідно, загального стану собак на момент застосування імунотерапії.

Про позитивний перебіг відновального періоду у дослідних тварин більш детально свідчили результати дослідження крові. Зокрема у тварин другої групи відмічено зростання кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну, величини гематокриту ($p < 0,001$), кількості тромбоцитів ($p < 0,05$). При зменшенні кількості лейкоцитів, зросла частка лімфоцитів ($p < 0,001$), в тому числі ВГЛ в 4,3 рази ($p < 0,01$). Встановлено також невірогідне зростання частки еозинофілів, паличкоядерних нейтрофілів, моноцитів та зниження відсотка сегментоядерних

нейтрофілів ($p < 0,001$). Слід відмітити, що позитивні зміни встановлено також і у величинах гематологічних показників собак четвертої групи.

Таким чином, можна зробити висновок, що застосування анфлурону (рекомбінантного α - γ -інтерферону є доцільним, оскільки має позитивний вплив на лікування онкологічно хворих собак за прояву гемосупресії, імунологічної недостатності, гепато-анемічного синдрому та інших побічних ефектів, що виникають як під час операції (застосування наркозу), так і під впливом цитостатичних препаратів. Застосування таких реабілітаційних заходів корегує відновлення кровотворної функції кісткового мозку та білоксинтезувальної функції печінки. Про доцільність застосування імунотерапії в лікуванні онкологічних хвороб свідчать повідомлення [205,].

Отже, за застосування у собак з низько злоякісною мастоцитомою хірургічного видалення пухлин та біотерапії (друга група), порівняно із проведенням тільки оперативного видалення новоутворень, смертність тварин впродовж двох років спостережень була нижчою на 8 %, безрецидивний період тривав понад 24 місяці, виживаність становила 70,6 %, що може свідчити про стійку ремісію та видужання тварин. Водночас у собак першої групи після видалення пухлин без рецидивний період тривав 13 місяців, а виживаність становила 62,5 %.

У собак з високо злоякісною мастоцитомою після хірургічного видалення пухлин та ад'ювантної хіміотерапії за схемою циклофосфан-вінбластин-дексаметазон (третя група), медіана тривалості життя становила 7 місяців і була вірогідно коротшою порівняно показником 19 місяців ($p < 0,05$), встановленим в тварин четвертої групи, яким після хіміотерапії було застосовано анфлурон (рекомбінантний α - і γ -інтерферон). Безрецидивний період в обидвох групах становив 2 місяці. По завершенні двохрічного спостереження стійку ремісію встановлено у 12,5 % собак третьої та 25 % тварин четвертої групи.

ВИСНОВКИ

У дисертації теоретично і клініко-експериментально обґрунтовано мультимодальний підхід до лікування собак із мастоцитомою шкіри, яке полягає у застосуванні дексаметазону, шляхом неoad'ювантної терапії, оперативного видалення пухлини та ад'ювантної хіміотерапії за схемою VCD (вінбластин, циклофосфамід, дексаметазон), а також імунотерапії (препарату імуностимулюючої дії – анфлурону (рекомбінантного α - γ -інтерферону) у випадку мастоцитом високої злоякісності та оперативного видалення пухлин і біотерапії за неоплазій низького ступеня злоякісності, що дозволяє досягти більш якісної ремісії хвороби.

1. Серед 5277 собак, що надійшли в клініку з хірургічними захворюваннями частка неоплазій займає у середньому 16,21 % (у розрізі 2016–2024 років превалентність захворювання знаходилася в межах 10,56-23,74 %). Серед онкологічних захворювань найбільш часто реєстрували неоплазії молочної залози - 36,7 % та пухлини шкіри - 33,6 %, рідше - новоутворення органів репродуктивної системи, внутрішніх органів та пухлини в ділянці голови і шиї - 12,3, 8,5 та 5,8 %. Для неопластичних уражень кровотворної і лімфоїдної тканин та пухлин кісток і суглобів характерними були спорадичні випадки - 2,4 і 0,8 % відповідно. У 16,6 % собак встановлено симультантне ураження пухлинами різних нозологічних форм.

2. У структурі неоплазій шкіри доброякісні пухлини становили 54,4%, злоякісні – 45,6 %. Доброякісні пухлини представлені, здебільшого, папіломою – 22,45 %, рідше ліпомою – 13,0 %, дерматофібромою – 10,2 %, трихоепітеліомою – 5,26 %, поодинокі пухлинні ураження, такі як гемангіома, гістіоцитома, гепатоцелюлярна аденома, атерома, дермоїд становили, в цілому, 3,5 %. Злоякісні новоутворення розподілені наступним чином: мастоцитома – 17,2 %, плоскоклітинний рак – 9,47 %, меланома – 4,2 %, базаліома – 11 3,86 %, Т-клітинна лімфома шкіри – 3,86 %, аденокарцинома – 3,16 %, саркома (веретенноклітинна фібросаркома) – 2,8 %, інші пухлини (неоплазії параанальних та сальних залоз – 3 (1,05 %).

3. Діагноз на мастоцитому шкіри встановлено у 49 собак за результатами клінічного обстеження та цитологічної верифікації біопсійного матеріалу отриманого шляхом тонкоголкової біопсії (FNAB) пухлин і регіонарних лімфатичних вузлів під контролем сонографії. Поміж 26 псів і 23 сук частка собак віком 4 роки становить 2,0 %; 5– 6 років – 8,16 %; 7–8 - 18,37; 9–10 – 40,82 ; 11–12 – 18,37; 13–14 – 6,12; старші 15 років – 6,12 %, медіана захворюваності - 9,5 роки, а мода - 9-10 років. У породній структурі онкопатології найбільшу частку займали собаки породи стафордширський тер'єр, ротвейлер та спанієль по 10,2 %, а також французький бульдог, чау-чау та лабрадор, відповідно, 8,1 %, шарпей, англійський бульдог, боксер, німецька вівчарка та безпородні собаки – 6,1 %, кане-корсо, доберман та мопс - по 4 % і середньоазіатська вівчарка -2 %.

4. Відповідно до критеріїв TNM поміж 49 собак із мастоцитомою шкіри встановлено I клінічну стадію розвитку пухлинного процесу (T1aN0M0, T1aN1M0) у 20,5 % тварин, II (T2aN0M0, T2aN1aM0) – в 26,5 % випадках, III (T2aN1bM0, T2bN1bM0, T3aN0M0, T3aN1bM0, T3bN1aM0), відповідно, у 51,0 % собак і IV стадію (T3b,v N1bM1) в 2,0 % тварин.

5. На підставі результатів гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу, згідно критеріїв двоступеневої класифікації Kiupel, у 73,47 % собак верифіковано мастоцитому низького і у 26,53 % тварин високого ступеня злоякісності. Морфометричними дослідженнями встановлено, що за низько злоякісної (високодиференційованої) MCTs, об'єм клітини становив $545,4 \pm 64,2 \text{ мкм}^3$, об'єм ядра - $77,5 \pm 8,80 \text{ мкм}^3$, ЯЦВ складало $0,20 \pm 0,011$, що свідчило про зсув ЯЦВ в сторону цитоплазми. Збільшенні величини об'єму клітини - $590,24 \pm 75,61 \text{ мкм}^3$, ядра - $102,31 \pm 8,79 \text{ мкм}^3$ ($p < 0,05$) та підвищення показника ЯЦВ - $0,24 \pm 0,013$ за високо злоякісної (низькодиференційованої) MCTs вказує на ознаки клітинної атипії та малігнізацію..

6. Ультраструктурно визначено, що онкомастоцити характеризувались значним ядерним поліморфізмом. У атипових ОК встановлено, змінену форму ядра, каріолема з численними випинаннями, у багатьох із них присутні одна -

дві нуклеоли в ядрі, наявні серед них двоядерні клітини з різними за величиною та формою ядрами, у цитоплазмі переважають дрібні, зі зміненою формою мітохондрії. Виявлені ультраструктурні відмінності вказують на нетипову будову мастоцитів і дозволяють віднести їх до пухлино специфічних клітин.

7. Мастоцитома шкіри у собак супроводжуються порушенням функціонального стану печінки, нирок, системи крові. Про що свідчать зниження в сироватці крові вмісту загального протеїну на 15,3 % ($p < 0,05$), альбуміну на 32,1 % ($p < 0,001$), підвищений рівень активності АсАТ у 3,1 рази та АлАТ у 2,1 рази ($p < 0,001$). Підвищення вмісту креатиніну $140,3 \pm 10,5$ ($p < 0,001$). Зменшення кількості еритроцитів на 14,7 %, рівня гемоглобіну на 21,5 %; ($p < 0,001$), зниження МСН ($p < 0,05$). Лейкоцитоз із значним підвищенням кількості паличкоядерних нейтрофілів ($16,1 \pm 0,42$; $p < 0,001$), лімфопенія ($16,0 \pm 1,40$ %; $p < 0,001$), еозинофілія ($7,8 \pm 0,18$; $p < 0,001$), тромбоцитопенія ($301,8 \pm 24,9$; $p < 0,001$) та моноцитоз.

8. Неoad'ювантна терапія за застосування дексаметазону (за 10 днів до операції, три ін'єкції з інтервалом дві доби в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла) супроводжувалася зменшенням величини (об'єму) пухлин у собак із першою клінічною стадією на 19,2 %, другої - 25,8 % ($< 0,05$), третьої - 25,5 % ($< 0,05$), у 18,4 % тварин розмір пухлин не змінився і у 4,1 % відмічено незначне збільшення неоплазії. Зменшення об'єму покращило резектабельність пухлин у 77,5 % собак, що дозволило провести екстирпацію пухлин в межах широкого хірургічного поля (з крайовим відступом > 2 см).

9. Застосування ад'ювантної хіміотерапії за схемою VCD (циклофосфан-вінбластин-дексаметазон), супроводжується зменшенням вмісту в сироватці крові собак загального протеїну на 7,6 % ($p < 0,01$), альбумінів – на 12,7 % ($p < 0,01$), збільшення активності печінкових ензимів АсАТ та АлАТ, відповідно у 1,4 та 3 рази ($p < 0,001$), рівня загального білірубіну – на 29,2 % ($p < 0,01$) і креатиніну - 23,6 % ($p < 0,01$), а також зменшенням в крові кількості еритроцитів – на 23,3 % ($p < 0,001$), вмісту гемоглобіну – на 25,0 % ($p < 0,001$), величини гематокриту – на 10,6 % ($p < 0,001$), кількості тромбоцитів на 29,3 ($p < 0,05$)

і лейкоцитів на 25,0 % ($p < 0,001$). При цьому частка лімфоцитів зменшилась на 6,9 % ($p < 0,001$), в тому числі великих грануловмісних лімфоцитів (ВГЛ) в 3 рази ($0,7 \pm 0,36$ %; $p < 0,01$). Вміст ацидофільних гранул у цитоплазмі ВГЛ сягав 1–5, при нормі не менше п'яти. Встановлені результати досліджень вказують на розвиток у дослідних тварин гепато-анемічного синдрому, цитостатичної гемосупресії та пригнічення природної резистентності.

10. За застосування анфлурону (рекомбінантного α - γ -інтерферону) у тварин другої групи після оперативного видалення мастоцитом встановлено збільшення кількості еритроцитів – на 6,5 % гемоглобіну – на 5,7 % , величини гематокриту – на 5,2 % ($p < 0,001$), кількості тромбоцитів на 17,8 ($p < 0,05$). При незначному зменшенні кількості лейкоцитів відмічено невірогідне зростання частки еозинофілів, паличкоядерних нейтрофілів і моноцитів та зниження відсотка сегментоядерних нейтрофілів ($p < 0,001$). При цьому частка лімфоцитів зросла на 6,2 % ($p < 0,001$) в тому числі ВГЛ в 4,3 рази (з $1,3 \pm 0,26$ до $5,6 \pm 0,60$ %; $p < 0,01$). Вміст ацидофільних гранул в цитоплазмі ВГЛ становив 8-10, що свідчить про підвищення природної резистентності. Збільшення вмісту в сироватці крові загального протеїну на 2,8 % і альбумінів у на 8,2 % ($< 0,05$), а також зниження вмісту загального білірубіну на 35,3 % ($< 0,05$) та активності печінкових ферментів активність АсАТ та АлАТ у 2,2 ($< 0,001$) та 1,9 ($< 0,001$) вказувало відновлення функціонального стану та структури печінки.

11. Застосування біотерапії тваринам четвертої групи, яким після операції проводили хіміотерапію, супроводжується збільшенням еритроцитів – на 17,2 %, тромбоцитів - на 13,8 % ($p < 0,05$), вмісту гемоглобіну – на 13,3 % ($p < 0,05$), величини гематокриту - на 4,5 % ($p < 0,05$). Аналогічно як і в другій групі зросла частка еозинофілів, паличкоядерних нейтрофілів і моноцитів за рахунок зменшення на 7 % ($p < 0,001$) сегментоядерних нейтрофілів. На 4,5 % ($p < 0,001$) зросла частка лімфоцитів, в тому числі ВГЛ у 6,3 рази ($p < 0,01$). У сироватці крові встановлено збільшення вмісту загального протеїну і альбумінів, відповідно, на 9,6 ($< 0,05$) та 11,6 % ($< 0,01$). Вміст загального білірубіну знизився на 16,7 % ($< 0,05$), показники активності печінкових ферментів АсАТ

та АлАТ знизилися у 1,5 ($<0,01$) та 1,9 ($<0,001$) рази, що свідчить про усунення токсичної дії хіміотерапії.

12. За застосування у собак з низько злоякісною мастоцитомою хірургічного видалення пухлин та біотерапії (друга група), порівняно із проведенням тільки оперативного видалення новоутворень, смертність тварин впродовж двох років спостережень була нижчою на 8 %, безрецидивний період тривав понад 24 місяці, виживаність становила 70,6 %, що може свідчити про стійку ремісію та видужання тварин. Водночас у собак першої групи після видалення пухлин без рецидивний період тривав 13 місяців, а виживаність становила 62,5 %. У собак із високо злоякісною мастоцитомою після хірургічного видалення пухлин та ад'ювантної хіміотерапії за схемою циклофосфан-вінкристин-дексаметазон (третя група), медіана тривалості життя становила 7 місяців і була вірогідно коротшою порівняно показником 19 місяців ($p<0,05$), встановленим в тварин четвертої групи, яким після хіміотерапії було застосовано анфлурон (рекомбінантний α - і γ -інтерферон). Безрецидивний період в обидвох групах був надзвичайно короткою і становив в середньому 2 місяці. По завершенні двохрічного спостереження стійку ремісію встановлено у 12,5 % собак третьої та 25 % тварин четвертої групи.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Результати клініко-експериментальних досліджень доцільно використовувати у навчальному процесі за програмою підготовки здобувачів другого (магістерського) і третього (освітньо-наукового) рівнів вищої освіти спеціальності 211 – Ветеринарна медицина, під час вивчення дисципліни “Ветеринарна онкологія”, “Хвороби дрібних тварин”, “Загальна і спеціальна ветеринарна хірургія” і викладанні за проведення підвищення кваліфікації, науково-практичних семінарів, майстер класів, тренінгів для практикуючих лікарів ветеринарної медицини, а також в науково-дослідній роботі за написання навчальних посібників, методичних рекомендацій, наукових статей, монографій тощо.

2. Алгоритм діаностично-лікувальних заходів за мастоцитози шкіри

За поступлення в клініку собак із спонтанними пухлинами чи пухлиноподібними ураженнями шкіри проводити повне клінічне дослідження тварин відповідно до критеріїв Міжнародної класифікації пухлин за системою TNM, яка ґрунтується на даних фізикального, соно- та рентгенографічного дослідження тварин та цитологічної ідентифікації неоплазій.

Найважливішим пунктом у встановленні діагнозу на мастоцитому та за диференційної діагностики MCTs від низки пухлин та пухлино подібних уражень шкіри постає процедура ідентифікації опасистих клітин.

Скринінгом для верифікації MCTs на етапі первинного чи доопераційного обстеження є проведення тонкоголкової біопсії пухлини та ідентифікація опасистих клітин за цитологічного дослідження біоптату.

Процедуру тонкоголкової біопсії виконують шляхом прицільної біопсії під контролем УЗД за використання тонкоголкової та трепан-біопсії напівавтоматичними голками гільйотинного типу Spring Cut 14G..

Із отриманих аспіратів виготовляють 2–3 мазки, підсушують їх на повітрі, фіксують 5 хвилин метиловим спиртом, фарбують за Романовським-Гімзою та досліджують при імерсійній мікроскопії. Критерієм для верифікації мастоцитоми є виявлення в цитологічних препаратах гомологічних круглих пухлинних клітин темно-фіолетового та світло-фіолетового забарвлення із азурофільними гранулами в цитоплазмі.

Застосування гістологічних критеріїв оцінки мастоцитом за Kiupel (наявність ядерного плеоморфізму, мітотичних фігур, дво- або багато ядерності та анізокаріозу), при проведенні цитологічного дослідження дозволяє верифікувати досліджувані МСТs на низько- та високозлоякісні пухлини.

За сукупністю результатів клінічних, рентгено- та сонографічних, гематологічних і цитологічних досліджень, відповідно до критеріїв TNM класифікації, встановлюють клінічну стадію неоплазій, що є основою для вибору лікування та оцінки його ефективності. Таким чином залежно від встановленої клінічної стадії, а також ступеня злоякісності згідно класифікації Kiupel, застосовують алгоритм лікувальних заходів

Водночас слід зауважити, для передбачення прогнозу перебігу захворювання та виживання тварин важливим є остаточний діагноз, який встановлюють за результатами гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу відібраного під час операції.

Застосування неоад'ювантної глюкокортикоїдної терапії

З метою профілактики активації та дегрануляції опасистих клітин та, відповідно, недопущення виникнення запалення й набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, а також з метою зменшення об'єму пухлин (в першу чергу нерезектабельних або таких, що локалізуються в ділянках із дефіцитом шкіри), доцільно застосовувати неоад'ювантну глюкокортикоїдну терапію. Клініко-експериментально доведено отримання позитивного результату від застосування дексаметазону за наступною схемою:

- за 10 днів до операції та в день її проведення застосовують внутрішньом'язово або під основу пухлини препарат Дексаметазон (для тварин), 2 мг/мл (Alfasan Diergeneesmiddelen BV, Нідерланди). В цілому неoad'ювантна терапія полягала у проведенні трьох ін'єкцій дексаметазону з інтервалом дві доби, в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини.

Протоколи лікування

В основу покладено **Мультимодальний підхід до лікування в онкології** - це стратегія лікування тварин із неоплазіями, яка використовує кілька методів терапії, зазвичай одночасно або послідовно, для досягнення кращих результатів.

Основна роль в комплексному лікуванні відводиться хірургічному методу. Ексцизію пухлин здійснюють в зоні здорових тканин із відступом 2-3 см навколо видимих меж неоплазії та захопленням у глибину однієї фасціальної площини нижче ураження.

Протокол лікування собак із низько злоякісною мастоцитомою

- хірургічна екстирпація пухлини із дотриманням хірургічних меж;
- біотерапія (анфлурон - рекомбінантний α - γ -інтерферон)

Протокол лікування собак із високо злоякісною мастоцитомою

- неoad'ювантна глюкокортикоїдна терапію.
- хірургічна екстирпація пухлини із дотриманням хірургічних меж;
- хіміотерапія неoad'ювантну глюкокортикоїдну терапію.
- біотерапія (анфлурон - рекомбінантний α - γ -інтерферон)

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аліфонова, К. В., Гаврилiна, О. Г. (2018). Клініко-морфологічні особливості базальноклітинного раку шкіри у собак. *Наукові горизонти*, 9–10(71), 90–95.
2. Бердова Т. Л., Гончар, В. В., & Глущенко, О. І. (2014). Випадок ефективного використання методу Г. С. Календо під час лікування метастазів меланоми шкіри. *Український радіологічний журнал*, 22(2), 109–110.
3. Білий Д. Д. (2015). Патогенетична регуляція оксидантного статусу у собак за неоплазій молочної залози. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія : Ветеринарна медицина*, 7, 181–184.
4. Білий, Д. Д. (2012). Поширення спонтанних новоутворень молочної залози у собак в умовах м. Дніпропетровськ. *Вісник Житомир. нац. агроєкол. ун-ту*, 1(32), 12–18.
5. Бойко Т. Г., Смаглюк, І. В., Онiцева, Т. В., Макарук, І. М., & Яриніч, К. В. (2013). Аналіз випадків виникнення рецидивів раку шкіри в місцях видалених (вилікуваних) пухлин. *Український радіологічний журнал*, 21(2), 161–163.
6. Влізло В. В., Федорук, Р. С. Ратич, І. Б. Віщур, О. І. (2012). *Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині* : Довідник. Львів: СПОЛОМ. 764 с.
7. Гаврилюк, О. В. (2008). Дерматоскопія (контактна, комп'ютерна, епілюмінесцентна): діагностика невусів та пігментних порушень шкіри. *Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология*, 3-4(11).
8. Гердєва, А. О. (2015). Структура хірургічної патології собак у Малиновському районі м. Одеси. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*, 77, 7–9.
9. Горальський, Л. П., Хомич, В. Т., Кононський, О. І. (2015). *Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології* : навч. посіб. Вид. 3-є, випр. і допов. Житомир: Полісся.

10. Єсіна, Е. В., Білий, Д. Д. (2012). Патоморфологічна картина новоутворень молочної залози у собак. *Вісник Дніпр. держ. аграр. ун-ту.*, 2, 140–143

11. Івашків Б.Б. (2021). Показники еритроцитопоезу в собак за неоплазій шкіри. *Тези доповідей I Міжнародної науково-практичної конференції НПП та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти».* Одеса 13-14 квітня 2021, 34-36.

12. Івашків, Б. Б., Мисак, А. Р. (2021). Особливості патоморфологічної діагностики мастоцитом у собак. *Тези доповідей II Конференції ;Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині; присвяченої 140-річчю відкриття навчального закладу; Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові; Львів, 18–19 листопада 2021 р. Львів: СПОЛОМ*, 62–64.

13. Івашків, Б. Б., Мисак, А. Р. (2023). Ефективність використання дексаметазону в лікуванні пухлин шкіри та підшкірної клітковини у собак. *Матеріали науково-практичної онлайн конференції «Безпечність та якість харчових продуктів у концепції «Єдине здоров'я» (м. Львів, 1–2 червня 2023 р.)*, 98-99.

14. Івашків, Б. Б., Мисак, А. Р., Хомин, Н. М., Пріцак, В. В. (2019). Моніторинг поширення спонтанних неоплазій у собак в умовах м. Львів та в приміській зоні обласного центру. *Науковий вісник ветеринарної медицини*, 2, 97–104.

15. Калюжна, Л. Д. Мацідонська, І. В., Шармазан, С. І., & Костюкевич, О. М. (2012). Сучасна комплексна діагностика злоякісних лімфом шкіри. *Дерматологія та венерологія*, 4, 40–44.

16. Калюжна, Л. Д., Ошивалова, О. О., Остапенко, С. П., & Турик, Н. В. (2013). Застосування цифрового USB мікроскопа в діагностиці новоутворень шкіри. *Дерматологія та венерологія*, 3, 61–66.

17. Касянчик, О. М. (2011). Поширення та структура онкологічних захворювань у собак залежно від породи, статті та віку. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*, 13(2(1), 112–116.

18. Кваша, М. С., & Морозов, Т. А. (2019). Новий спосіб пластичного заміщення дефектів шкіри при хірургічному лікуванні злоякісних позамозкових пухлин, розташованих поблизу середньої лінії голови. *Ukrainian neurosurgical journal*, 25(4), 72–76.

19. Ковальчук О. Л. (2007). Диференційна діагностика холестатичної форми вірусних гепатитів і жовчнокам'яної хвороби, ускладненої обтураційною жовтяницею. *Place of publication : Вісник наукових досліджень*, 1, 95–98.

20. Коренєва, Ж., Телятніков, А., Хіміч, М., Найдіч, О., & Столяренко, М. (2021). Морфологічна характеристика деяких пухлин шкіри та її похідних у дрібних домашніх тварин. *Agrarian bulletin of the Black sea littoral*, 98, 46–53.

21. Кукушкіна, С. М., Фільчаков, Ф. В., Коровін, С. І., Грабовий, О. М., Кукушкіна, М. М., & Весельська, В. М. (2017). Імунореактивність у хворих на меланому шкіри: зв'язок з морфологічними ознаками виразкування первинної пухлини та віддаленими результатами комбінованого лікування. *Клиническая онкология*, 1, 73–78.

22. Лемішевський, В. М. (2016). Патоморфологічна характеристика і особливості трихоепітеліом у собак. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: : Ветеринарні науки*, 18(1(2), 91–96.

23. Мамчук, Н. А. (2008). Моніторинг пухлинних захворювань дрібних тварин. *Наук.-техн. бюлетень Інституту біології тварин УААН та ДНДКІ ветпреп. та корм. добавок МАПУ*, 9(3), 184–188.

24. Мисак А. Р. (2012). Проблема неоплазій у продуктивних і дрібних домашніх тварин. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*, 14(2(1), 250–255

25. Мисак, А. Р. (2015). *Паліативно-хірургічні методи та біотерапія за папіломатозу у великої рогатої худоби і пухлин молочної залози у собак*: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра вет. наук: спец. 16.00.05 “Ветеринарна хірургія”. Біла Церква. 34 с.

26. Мірзаєва, М. С. (2014). Розповсюдження стоматологічних патологій у собак в умовах ветеринарних клінік міста Полтава. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, 1, 138–141.

27. Ошивалова О. О. (2017). Рациональний підхід в лікуванні епітеліальних пухлин шкіри. *Дерматологія та венерологія*, 3, 110–111.

28. Пустовіт, Р. В. Данилейко, Ю. М., Рубленко, М. В. (2006). Моніторинг хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин ДЛВМ у Київському районі м. Одеси за 2003-2005 рр. *Вісник Білоцерків. Держ. Аграр. Ун-ту*, 36, 132–138.

29. Ремінник, О. І., Мечев, Д. С., Івчук, В. П., Романенко, Л. В., Романенко, С. С., & Васькевич, О. П. (2016). Досвід проведення брахітерапії в лікуванні пухлин шкіри і м'яких тканин голови та шиї (клінічні приклади). *Радіологічний вісник*, 3-4, 30–34.

30. Рубленко, М. В., Білий, Д. Д. (2012). Функціональні порушення та системні розлади гемостазу за новоутворень у собак. *Наук.-техн. бюлетень*, 3–4(13), 142–14.

31. Рубленко, М. В., Білий, Д. Д. (2014). Обґрунтування комплексної терапії в післяопераційний період за пухлин молочної залози. *Пробл. зооінженерії та вет. медицини: зб. наук. праць Харків. держ. зоовет. акад.*, 28(2), 447–450.

32. Семикоз, Н. Г., Горовенко, Р. Є., Камінський, І. О., Селівра, Ю. М., & Грабовський, О. О. (2014). Методологія планування лікування пухлин шкіри з використанням контактних аплікаторів у брахітерапії. *Український радіологічний журнал*, 22(2), 57–58.

33. Соколовська, М. В., Івчук, В. П., Говоруха, Т. М., Валевахіна, Т. М., Вінцевич, Л. В., Чурікова, О. С., & Овсієнко, О. В. (2018). Досвід застосування

HDR-брахітерапії в лікуванні злоякісних пухлин шкіри, слизової оболонки ротової порожнини, прямої кишки, анального каналу. *Український радіологічний та онкологічний журнал*, 26(2), 70–73.

34. Чехун, В. Ф. (2010). Сучасний стан та перспективи фундаментальних досліджень в експериментальній та клінічній онкології. *Онкологія*, 12(3), 219–223.

35. Щепотін, І. Б. (2011). *Сучасні методи променевої діагностики в онкології*: короткий посібник для студентів та інтернів. Київ.

36. Adams, V. J., Evans, K. M., Sampson, J., & Wood, J. L. N. (2010). Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, 51(10), 512–524.

37. Akin, C. (2020). *Mastocytosis: A Comprehensive Guide*. Springer Nature, Switzerland AG. 307 p. doi: 10.1007/978-3-030-27820-5.

38. Alvarez-Twose, I., Jara-Acevedo, M., Morgado, J. M., Garcia-Montero, A., Sanchez- Munoz, L., Teodosio, C., et al. (2016). Clinical, immunophenotypic, and molecular characteristics of well-differentiated systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol*, 137(1), 168–178. doi: 10.1016/j.jaci.2015.05.008.

39. Baran, J., Sobiepanek, A., Mazurkiewicz-Pisarek, A., Rogalska, M., Gryciuk, A., Kuryk, L., Abraham, S. N., & Staniszewska, M. (2023). Mast Cells as a Target-A Comprehensive Review of Recent Therapeutic Approaches. *Cells*, 12(8), 1187. DOI: 10.3390/cells12081187.

40. Bautista-Quach, M. A., Booth, C. L., Kheradpour, A., Zuppan, C. W., Rowsell, E. H., Weiss, L., & Wang, J. (2013). Mast cell sarcoma in an infant: a case report and review of the literature. *J Pediatr Hematol Oncol*, 35(4), 315–320. doi: 10.1097/MPH.0b013e318279e392.

41. Bavcar, S., de Vos, J., Kessler, M., de Fornel, P., Buracco, P., Murphy, S., Hirschberger, J., Argyle, D. J. (2017). Combination toceranib and lomustine shows frequent high grade toxicities when used for treatment of non-resectable or recurrent mast cell tumours in dogs: A European multicentre study. *Vet J.*, 224, 1–6. doi: 10.1016/j.tvjl.2017.04.010

42. Bellamy, E., & Berlato, D. (2022). Canine cutaneous and subcutaneous mast cell tumours: a narrative review. *The Journal of small animal practice*, 63(7), 497–511. doi: 10.1111/jsap.13444
43. Ben Ali, L. M. (2013). Incidence, occurrence, classification and outcome of small animal fractures: a retrospective study (2005-2010). *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 75, 628–633.
44. Bennour, E. M. A., Abushhiwa, M. A., & Ben Ali, L. (2014). Retrospective Study on Appendicular Fractures in Dogs and Cats in Tripoli – Libya. *J. Vet. Adv.*, 4(3), 425–431.
45. Berlato, D., Stewart, J., Newton, R., Maglennon, G. A., Monti, P., Flindall, A., Murphy, S. (2012). Evaluation of minichromosome maintenance protein 7 as a prognostic marker in canine cutaneous mast cell tumours. *Vet. Comp. Oncol.*, 10(2), 135–142.
46. Berrington de González, A., Mahesh, M., Kim, K. P. (2009). Projected cancer risks from computed tomographic scans performed in the United States. *Arch Intern Med.*, 169(22), 2071–2077.
47. Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P., De Vos, J. P., De Fornel-Thibaud, P., Hirschberger, J., Kessler, M., Pastor, J., Ponce, F., Savary-Bataille, K., & Argyle, D. J. (2012). European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and comparative oncology*, 10(3), e1–e29. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x.
48. Blackwood, L., Tanis, J.B., Harper, A., Amores-Fuster, I., Killick, D. R., Finotello R. (2018). Acute radiotherapy toxicity in 57 dogs with gross and microscopic mast cell tumours. *Vet Comp Oncol*, 16(4), 431–440. doi: 10.1111/vco.12398
49. Bonnett, B.N., Egenvall, A., Olson, P., Hedhammar, A. (1997). Mortality in insured Swedish dogs: rates and causes of death in various breeds. *Veterinary Record*, 141(2), S40–S44.
50. Bourne, P. (2012). BLINCK–A diagnostic algorithm for skin cancer diagnosis combining clinical features with dermatoscopy findings. *Dermatol. Pract. Concept.*, 2(2), 12.

51. Brick, J. O., Roenigk, W. J., Wilson, G. P. (1968). Chemotherapy of malignant lymphoma in dogs and cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 153(1), 47–52.
52. Brodey, R. S. (1960). A clinical and pathologic study of 130 neoplasms of the mouth and pharynx in the dog. *American Journal of Veterinary Research*, 21, 787–812.
53. Burge, R., Woolard, K. D., Willcox, J. L., Rebhun, R. B., Burton, J. H., Al-Nadaf, S., Skorupski, K. A. (2023). High-Grade, Stage 2 Mast Cell Tumors: Outcome in Dogs With Local and Systemic Therapy. *J Am Anim Hosp Assoc*, 59(4), 167–176. doi: 10.5326/JAAHA-MS-7319
54. Camus, M. S., Priest, H. L., Koehler, J. W., Driskell, E. A., Rakich, P. M., Ilha, M. R., & Krimer, P. M. (2016). Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Veterinary pathology*, 53(6), 1117–1123. doi: 10.1177/0300985816638721
55. Cartagena-Albertus, J. C., Moise, A., Moya-García, S., Cámara-Fernández, N., Montoya-Alonso, J. A. (2019). Presumptive primary intrathoracic mast cell tumours in two dogs. *BMC Vet Res*, 15(1), 204. doi: 10.1186/s12917-019-1950-5
56. Case, A., & Burgess, K. (2018). Safety and efficacy of intralesional triamcinolone administration for treatment of mast cell tumors in dogs: 23 cases (2005-2011). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 252(1), 84–91. doi: 10.2460/javma.252.1.84
57. Cockburn, E., Janovec, J., Solano, M. A., L'Eplattenier, H. (2022). Marginal excision of cutaneous mast cell tumors in dogs was not associated with a higher rate of complications or prolonged wound healing than marginal excision of soft tissue sarcomas. *J Am Vet Med Assoc*, 260(7), 741–746. doi: 10.2460/javma.21.05.0235
58. Costa, V. R., Soileau, A. M., Liu, C. C., Moeller, C. E., Carossino, M., Langohr, I. M., Withers, S. S. (2022). Exploring the association of intratumoral immune cell infiltrates with histopathologic grade in canine mast cell tumors. *Res Vet Sci*, 147, 83–91. doi: 10.1016/j.rvsc.2022.04.005
59. Cruz, V. S., Borges, J. C. A., Nepomuceno, L. L., Gonçalves, P. A. M., Prado, Y. C. L., Bianchi, C., Fioravanti, M. C. S., & Araújo, E. G. (2020).

Histological classification and expression of markers of canine mast cell tumors. *Vet World.*, 13(8), 1627–1634. doi: 10.14202/vetworld.2020.1627-1634.

60. Cugmas, B., Plavec, T., Bregar, M., Naglič, P., Pernuš, F., Likar, B., & Bürmen, M. (2015). Detection of canine skin and subcutaneous tumors by visible and near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 20(3), 037003. doi: 10.1117/1.JBO.20.3.037003

61. de Magalhaes, J. P. (2013). How ageing processes influence cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 13, 357–365.

62. de Nardi, A. B., Dos Santos Horta, R., Fonseca-Alves, C. E., de Paiva, F. N., Linhares, L. C. M., Firmo, B. F., Ruiz Sueiro, F. A., de Oliveira, K. D., Lourenço, S. V., De Francisco Strefezzi, R., Brunner, C. H. M., Rangel, M. M. M., Jark, P. C., Castro, J. L. C., Ubukata, R., Batschinski, K., Sobral, R. A., da Cruz, N. O., Nishiya, A. T., Fernandes, S. C., ... Dagli, M. L. Z. (2022). Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. *Cells*, 11(4), 618. doi: 10.3390/cells11040618

63. Dom Barfield. RVC Clinical Podcast 132 Canine Cutaneous Mast Cell Tumour with Andy Yale. Published on May 6 2022. URL: <https://www.rvc.ac.uk/veterinary-services/podcasts/132-canine-cutaneous-mast-cell-tumour>.

64. Donehower, L. A., Creighton, C. J., Schultz, N., Shinbrot, E., Chang, K., Gunaratne, P. H., Muzny, D., Sander, C., Hamilton, S. R., Gibbs, R. A., Wheeler, D. (2013). MLH1-silenced and non-silenced subgroups of hypermutated colorectal carcinomas have distinct mutational landscapes. *J. Pathol*, 229, 99–110. doi: 10.1002/path.4087.

65. Efimov, A., Roytman, M., & Rystsova, E. (2016). Diagnostic criteria of mast cell sarcoma. *Bulletin of science and practice*, 12, 114–120.

66. Elfstrum, A. K., Rumahorbo, A. H., Reese, L. E., Nelson, E. V., McCluskey, B. M., Schwertfeger, K. L. (2024). LYVE-1-expressing Macrophages Modulate the Hyaluronan-containing Extracellular Matrix in the Mammary Stroma and Contribute

to Mammary Tumor Growth. *Cancer Res Commun*, 4(5), 1380–1397. doi: 10.1158/2767-9764.CRC-24-0205

67. Elliott, J. W., Cripps, P., Blackwood, L., Berlato, D., Murphy, S., & Grant, I. A. (2016). Canine oral mucosal mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 14(1), 101–111. doi: 10.1111/vco.12071

68. Farmer, R. J. M., Poirier, V. J., Nykamp, S., Jensen, M., Foster, R. A., Oblak, M., & Appleby, R. (2023). CT features of subcutaneous, intermuscular, and intramuscular mast cell tumors in dogs. *Veterinary radiology & ultrasound : the official journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*, 64(1), 53–60. doi: 10.1111/vru.13150

69. Fazel, R., Krumholz, H. M., Wang, Y., Ross, J. S., Chen, J., Ting, H. H., Shah, N. D., Nasir, K., Einstein, A.J., Nallamothu, B. K. (2009). Exposure to low-dose ionizing radiation from medical imaging procedures. *N Engl J Med*, 361(9), 849–857. doi: 10.1056/NEJMoa0901249

70. Fedets, O., Zayats, O., Zaitsev, O., Zakrevska, M., Kurlyak, I., & Midyanyy, S. (2020). Nuclear morphometry of mammary tumors of dogs and histopathological diagnosis. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(100), 123–128. doi: 10.32718/nvlvet10021

71. Ferguson, H. R. (1985). Canine mammary gland tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 15(3), 501–511. doi: 10.1016/s0195-5616(85)50053-4

72. Ferrari, R., Marconato, L., Buracco, P., et al. (2018). The impact of extirpation of non-palpable/normal-sized regional lymph nodes on staging of canine cutaneous mast cell tumours: A multicentric retrospective study. *Vet Comp Oncol.*, 16, 505–510. DOI: 10.1111/vco.12408.

73. Freytag, J. O., Queiroz, M. R., Govoni, V. M., Pereira, I. V. A., Pulz, L. H., de Francisco Strefezzi, R., Queiroga, F. L., & Cogliati, B. (2021). Prognostic value of immunohistochemical markers in canine cutaneous mast cell tumours: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary and comparative oncology*, 19(3), 529–540. DOI: 10.1111/vco.12692.

74. Fulcher, R. P., Ludwig, L. L., Bergman, P. J., Newman, S. J., Simpson, A. M., & Patnaik, A. K. (2006). Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(2), 210–215. DOI: 10.2460/javma.228.2.210.
75. Galietta, V., Parisi, F., Cocumelli, C., Pierini, A., Poli, A., Scaramozzino, P., Spallucci, V., Millanta, F. (2023). Preliminary Assessment of Tumor-Associated Tissue Eosinophilia (TATE) in Canine Mast Cell Tumors: Prevalence and Prognostic Relevance and Its Association with Neoangiogenesis. *Animals* (Basel), 13(2), 283. doi: 10.3390/ani13020283
76. Gargiulo, G. (2018). Next-Generation *in vivo* Modeling of Human Cancers. *Front. Oncol.*, 8, 429. doi: 10.3389/fonc.2018.00429.
77. Garrett, L. D. (2014). Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. *Veterinary medicine (Auckland, N.Z.)*, 5, 49–58. DOI: 10.2147/VMRR.S41005.
78. Gasser, K. (2022). Erfolgreiche lokale Behandlung eines digitalen kaninen Mastzelltumors mit Tigilanoltiglat [Successful local treatment of a digital canine mast cell tumour with Tigilanol Tiglate]. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*, 50(3), 225–231. doi: 10.1055/a-1844-8554
79. Gentilini, F., Turba, M. E., Dally, C., Takanosu, M., Kurita, S., Bonkobara, M. (2020). The secondary KIT mutation p.Ala510Val in a cutaneous mast cell tumour carrying the activating mutation p.Asn508Ile confers resistance to masitinib in dogs. *BMC Vet Res*, 16(1), 64. doi: 10.1186/s12917-020-02284-9
80. Goad, K. E., Gralnick, H. R. (1996). Coagulation disorders in cancer. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 10(2), 457–484.
81. Goldschmidt, M. H., Shofer, F. S. (1992). *Skin Tumours of the Cat and Dog*. New York, NY, USA: Pergamon Press.
82. Graf, R., Pospischil, A., Guscetti, F., Meier, D., Welle, M., & Dettwiler, M. (2018). Cutaneous Tumors in Swiss Dogs: Retrospective Data From the Swiss

Canine Cancer Registry, 2008-2013. *Veterinary pathology*, 55(6), 809–820. doi: 10.1177/0300985818789466

83. Grüntzig, K., Graf, R., Hässig, M., Welle, M., Meier, D., Lott, G., Erni, D., Schenker, N. S., Guscetti, F., Boo, G., Axhausen, K., Fabrikant, S., Folkers, G., & Pospischil, A. (2015). The Swiss Canine Cancer Registry: a retrospective study on the occurrence of tumours in dogs in Switzerland from 1955 to 2008. *Journal of comparative pathology*, 152(2-3), 161–171. doi: 10.1016/j.jcpa.2015.02.005

84. Guerra, D., Faroni, E., Sabattini, S., Agnoli, C., Chalfon, C., Stefanello, D., Del Magno, S., Cola, V., Grieco, V., Marconato, L. (2022). Histologic grade has a higher-weighted value than nodal status as predictor of outcome in dogs with cutaneous mast cell tumours and overtly metastatic sentinel lymph nodes. *Vet Comp Oncol*, 20(3), 551–558. doi: 10.1111/vco.12806

85. Gülen, T., Hägglund, H., Dahlén, B., & Nilsson, G. (2016). Mastocytosis: the puzzling clinical spectrum and challenging diagnostic aspects of an enigmatic disease. *Journal of International Medicine*, 379(3), 211–228. doi: 10.1111/joim.12410.

86. Gupta, N., Kumar, H., Gupta, S., S, M. B., Saini, K. A. (2023). Concise Review on Natural Products and Their Derivatives for Breast Cancer Treatment. *Chem Biodivers*, 20(8), e202300688. doi: 10.1002/cbdv.202300688

87. Hajirahimkhan, A., Howell, C., Bartom, E. T., Dong, H., Lantvit, D. D., Xuei, X., Chen, S. N., Pauli, G. F., Bolton, J. L., Clare, S. E., Khan, S. A., Dietz, B. M. (2023). Breast cancer prevention with liquiritigenin from licorice through the inhibition of aromatase and protein biosynthesis in high-risk women's breast tissue. *Sci Rep*, 13(1), 8734. doi: 10.1038/s41598-023-34762-z

88. Hammerton, R., Goodfellow, M., Das, S. (2024). Primary preputial reconstruction following surgical excision of cutaneous mast cell tumours without penile amputation in eight dogs. *N Z Vet J.*, 72(3), 148–154. doi: 10.1080/00480169.2024.2308807

89. Hartmann, K. et al. (2016). Cutaneous manifestations in patients with mastocytosis: Consensus report of the European Competence Network on Mastocytosis;

the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology; and the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *J Allergy Clin Immunol*, 137(1), 35–45. doi: 10.1016/j.jaci.2015.08.034.

90. Hergt, F., von Bomhard, W., Kent, M. S., & Hirschberger, J. (2016). Use of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors on cytology specimens. *Vet Clin Pathol.*, 45(3), 477–483. doi: 10.1111/vcp.12387.

91. Hillman, L. A., Garrett, L. D., de Lorimier, L. P., Charney, S. C., Borst, L. B., Fan, T. M. (2010). Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases (1996-2006). *J Am Vet Med Assoc*, 237(8), 936–942. doi: 10.2460/javma.237.8.936

92. Horta, R. S., Lavalle, G. E., Monteiro, L. N., Souza, M. C. C., Cassali, G. D., & Araújo, R. B. (2018). Assessment of Canine Mast Cell Tumor Mortality Risk Based on Clinical, Histologic, Immunohistochemical, and Molecular Features. *Veterinary pathology*, 55(2), 212–223. DOI: 10.1177/0300985817747325.

93. Hsu, F. I., & Boyce, J. A. (2009). Biology of mast cells and their mediators. In: Adkinson Jr N. F., Busse W. W., Bochner B. S., Holgate S. T., Simons F. E. R., Lemanske Jr R. F., editors. *Middleton's allergy: principles & practice*. 7th ed. Philadelphia: Mosby/Elsevier, 311–328.

94. Ignatenko, N., Gonzales, A. J., Messamore, J. E., Hirschberger, J., Udraite-Vovk, L., Boehm, T. M. S. A., Troedson, K., Fejos, C., Mueller, R. S. (2020). Serum concentrations of IL-31 in dogs with nonpruritic mast cell tumours or lymphoma. *Vet Dermatol*, 31(6), 466–e124. doi: 10.1111/vde.12887

95. Innes, J. R. M., Parry, H. B., Berger, J. (1946). Record of lymphadenosis (lymphatic leukaemia) in a dog treated with urethane. *Br. Vet. J*, 102(12), 389–393.

96. Iodence, A. E., Wallace, M. L., Grimes, J. A., & Schmiedt, C. W. (2021). Dogs undergoing surgical excision of mast cell tumors are not at increased risk of incisional complications. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 260(S1), S88–S95. doi: 10.2460/javma.20.09.0488

97. Itoh, T., Kojimoto, A., Uchida, K., Chambers, J., Shii, H. (2021). Long-term postsurgical outcomes of mast cell tumors resected with a margin proportional to the tumor diameter in 23 dogs. *J Vet Med Sci*, 83(2), 230–233. doi: 10.1292/jvms.20-0281
98. Ivashkiv, B., Mysak, A., & Pritsak, V. (2020). Clinical characteristics of mastocytoma in dogs. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 144–153. doi: 10.32718/nvlvet9825
99. Kiupel, M., & Camus, M. (2019). Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 49(5), 819–836. DOI: 10.1016/j.cvsm.2019.04.002.
100. Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., Fitzgerald, S. D., Gamble, D., Ginn, P. E., Goldschmidt, M. H., Hendrick, M. J., Howerth, E. W., Janovitz, E. B., Langohr, I., Lenz, S. D., Lipscomb, T. P., Miller, M. A., Misdorp, W., Moroff, S., Mullaney, T. P., ... Miller, R. (2011). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Veterinary pathology*, 48(1), 147–155. DOI: 10.1177/0300985810386469.
101. Kiupel, M., Webster, J. D., Miller, R. A., & Kaneene, J. B. (2005). Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, 52(6), 280–286. DOI: 10.1111/ j.1439-0442.2005.00726.x.
102. Klutstein, M., Moss, J., Kaplan, T., Cedar, H. (2017). Contribution of epigenetic mechanisms to variation in cancer risk among tissues. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 114, 2230–2234. doi: 10.1073/pnas.1616556114
103. Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cor, A., Tozon, N. (2009). Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In Vivo*, 23(1), 55–62.
104. Kok, M. K., Chambers, J. K., Tsuboi, M., Nishimura, R., Tsujimoto, H., Uchida, K., & Nakayama, H. (2019). Retrospective study of canine cutaneous tumors

in Japan, 2008-2017. *The Journal of veterinary medical science*, 81(8), 1133–1143. doi: 10.1292/jvms.19-0248

105. Koreyba, L., Masyuk, D., Skliarov, P., & Leshchova, M. (2024). Organopathology of the mammary gland in female carnivores: current state of research issues. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 26(113), 132–139. doi: 10.32718/nvlvet11320

106. Kry, K. L., Boston, S.E. (2014). Additional local therapy with primary re-excision or radiation therapy improves survival and local control after incomplete or close surgical excision of mast cell tumors in dogs. *Vet Surg*, 43(2), 182–189. doi: 10.1111/j.1532-950X.2014.12099.x

107. Küpeli Akkol, E., Bardakci, H., Barak, T. H., Aschner, M., Şeker Karatoprak, G., Khan, H., Hussain, Y. (2022). Herbal Ingredients in the Prevention of Breast Cancer: Comprehensive Review of Potential Molecular Targets and Role of Natural Products. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 6044640. doi: 10.1155/2022/6044640

108. Kupfer, J. (2010). Cutaneous mast cell tumours in dogs. *Vet Rec*, 166(13), 407–408. doi: 10.1136/vr.c1657

109. Lamprecht Tratar, U., Milevoj, N., Cemazar, M., Znidar, K., Ursic Valentinuzzi, K., Brozic, A., Tomsic, K., Sersa, G., Tozon, N. (2023). Treatment of spontaneous canine mast cell tumors by electrochemotherapy combined with IL-12 gene electrotransfer: Comparison of intratumoral and peritumoral application of IL-12. *Int Immunopharmacol*, 120, 110274. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110274

110. Lapsley, J., Hayes, G. M., Janvier, V., Newman, A. W., Peters-Kennedy, J., Balkman, C., Sumner, J. P., Johnson, P. (2021). Influence of locoregional lymph node aspiration cytology vs sentinel lymph node mapping and biopsy on disease stage assignment in dogs with integumentary mast cell tumors. *Vet Surg*, 50(1), 133–141. doi: 10.1111/vsu.13537

111. Larsen, E., Watson, A. M., & Muñoz Gutiérrez, J. F. (2022). Intranasal mast cell tumors: Clinical, immunohistochemical, and molecular features in 20 dogs. *Veterinary pathology*, 59(6), 915–921. doi: 10.1177/03009858221109100

112. Leguit, R., Hebeda, K., Kremer, M., van der Walt, J., Gianelli, U., Tzankov, A., & Orazi, A. (2020). The Spectrum of Aggressive Mastocytosis: A Workshop Report and Literature Review. *Pathobiology*, 87, 2–19. doi: 10.1159/000504099.
113. Letard, S., Yang, Y., Hanssens, K., Palmérini, F., Leventhal, P. S., Guéry, S., Moussy, A., Kinet, J. P., Hermine, O., & Dubreuil, P. (2008). Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. *Molecular cancer research: MCR*, 6(7), 1137–1145. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-08-0067
114. Lin, J., Cook, N. R., Albert, C., et al. (2009). Vitamins C and E and beta carotene supplementation and cancer risk: a randomized controlled trial. *J Natl Cancer Inst.*, 101(1), 14–23.
115. Linde, K. J., Stockdale, S. L., Mison, M. B., Perry, J. A. (2021). The effect of prednisone on histologic and gross characteristics in canine mast cell tumors. *Can Vet J.*, 62(1), 45–50.
116. London, C. A., & Seguin, B. (2003). Mast cell tumors in the dog. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 33(3), 473–v. doi: 10.1016/s0195-5616(03)00003-2
117. London, C. A., & Thamm, D. H. (2013). Mast cell tumors. In Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology (pp. 335–355). WB Saunders.
118. London, C. A., Galli, S. J., Yuuki, T., Hu, Z. Q., Helfand, S. C., & Geissler, E. N. (1999). Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Experimental hematology*, 27(4), 689–697. doi: 10.1016/s0301-472x(98)00075-7
119. London, C. A., Malpas, P. B., Wood-Follis, S. L., Boucher, J. F., Rusk, A. W., Rosenberg, M. P., Henry, C. J., Mitchener, K. L., Klein, M. K., Hintermeister, J. G., Bergman, P. J., Couto, G. C., Mauldin, G. N., Michels, G. M. (2009). Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs

with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clin Cancer Res*, 15(11), 3856–3865. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1860

120. London, C. A., Seguin, B. (2003). Mast cell tumors in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 33(3), 473–489, v. doi: 10.1016/s0195-5616(03)00003-2

121. Lopez-Otin, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. *Cell*, 153, 1194–1217. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039

122. Lowe, R., Gavazza, A., Impellizeri, J. A., Soden, D. M., Lubas, G. (2017). The treatment of canine mast cell tumours with electrochemotherapy with or without surgical excision. *Vet Comp Oncol*, 15(3), 775–784. doi: 10.1111/vco.12217

123. Ma, Y., Cunningham, M. E., Wang, X., Ghosh, I., Regan, L., & Longley, B. J. (1999). Inhibition of spontaneous receptor phosphorylation by residues in a putative alpha-helix in the KIT intracellular juxtamembrane region. *The Journal of biological chemistry*, 274(19), 13399–13402. doi: 10.1074/jbc.274.19.13399

124. Macedo, T. R., de Queiroz, G. F., Casagrande, T. A. C., Alexandre, P. A., Brandão, P. E., Fukumasu, H., Melo, S. R., Dagli, M. L. Z., Pinto, A. C. B. C. F., Matera, J. M. (2022). Imatinib Mesylate for the Treatment of Canine Mast Cell Tumors: Assessment of the Response and Adverse Events in Comparison with the Conventional Therapy with Vinblastine and Prednisone. *Cells*, 11(3), 571. doi: 10.3390/cells11030571

125. Machado, G. A., Fontes, T. N., Larangeira, D. F., Estrela-Lima, A., Moreira, E. L., Ribeiro, L. S., & Peixoto, T. C. (2018). Incidence of skin tumors in dogs in Salvador, Bahia state, Brazil (2007-2016). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(11), 2139–2145. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5686.

126. Macy, D. W. (1985). Canine mast cell tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 15(4), 783–803. doi: 10.1016/s0195-5616(85)50036-4

127. Maeda, S. (2023). Second era of molecular-targeted cancer therapies in dogs. *J Vet Med Sci*, 85(8), 790–798. doi: 10.1292/jvms.23-0204

128. Makii, R., Cook, H., Louke, D., Breitbach, J., Jennings, R., Premanandan, C., Green, E. M., Fenger, J. M. (2020). Characterization of WWOX

expression and function in canine mast cell tumors and malignant mast cell lines. *BMC Vet Res*, 16(1), 415. doi: 10.1186/s12917-020-02638-3

129. Maksymovych, V., & Mysak, A. (2024). Expansion of the process of the mammary glands of cats in the conditions of the city of Lviv and the suburban zone of the regional center. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 26(114), 184–189. doi: 10.32718/nvlvet11427

130. Marconato, L., Stefanello, D., Kiupel, M., Finotello, R., Polton, G., Massari, F., Ferrari, R., Agnoli, C., Capitani, O., Giudice, C., Aresu, L., Vasconi, M. E., Rigillo, A., Sabattini, S. (2020). Adjuvant medical therapy provides no therapeutic benefit in the treatment of dogs with low-grade mast cell tumours and early nodal metastasis undergoing surgery. *Vet Comp Oncol*, 18(3), 409–415. doi: 10.1111/vco.12566

131. Marconato, L., Stefanello, D., Solari Basano, F., Faroni, E., Dacasto, M., Giantin, M., Bettini, G., Aresu, L., Bonfanti, U., Bertazzolo, W., Annoni, M., Lecchi, C., Sabattini, S. (2023). Subcutaneous mast cell tumours: A prospective multi-institutional clinicopathological and prognostic study of 43 dogs. *Vet Rec*, 193(1), e2991. doi: 10.1002/vetr.2991

132. Marouda, C., Anagnostou, T., Brunetti, B., Savvas, I., Papazoglou, L. G., Psalla, D. (2024). Cutaneous Canine Mast Cell Tumor: The Use of Proliferative Markers (Ki-67 and Ki-67 $\times$ AgNOR) in Cytological Samples for Diagnosis and Prognosis. *Vet Sci*, 11(1), 23. doi: 10.3390/vetsci11010023

133. Martin, T. W., Prebble, A., Leary, D. (2023). Superficial kilovoltage x-ray radiotherapy for the treatment of cutaneous mast cell tumors on the head in three dogs and one cat: a limited retrospective case series. *J Am Vet Med Assoc*, 261(9), 1–6. doi: 10.2460/javma.23.02.0080

134. Martins, A. L., Carvalho, F. F., Mesquita, J. R., Gärtner, F., & Amorim, I. (2021). Analysis of risk factors for canine mast cell tumors based on the Kiupel and Patnaik grading system among dogs with skin tumors. *Open veterinary journal*, 11(4), 619–634. doi: 10.5455/OVJ.2021.v11.i4.12

135. Mason, S. L., Pittaway, C., Gil, B. P., Russak, O. M., Westlake, K., Berlato, D., Benoit, J., Morris, J., Dobson, J. M. (2021). Outcomes of adjunctive radiation therapy for the treatment of mast cell tumors in dogs and assessment of toxicity: A multicenter observational study of 300 dogs. *J Vet Intern Med*, 35(6), 2853–2864. doi: 10.1111/jvim.16264
136. Mathew, R., Sajitha, I. S., Balakrishnan-Nair, D. K., Nair, S. S., Kariyil, B. J., & Abraham, M. J. (2021). Histological and Immunohistochemical Evaluation of Phosphorylated Mechanistic Target of Rapamycin in Canine Skin Tumours. *Journal of comparative pathology*, 184, 60–64. doi: 10.1016/j.jcpa.2021.02.001
137. Matsuda, A. (2021). Long-term *in-vitro* glucocorticoid treatment induces glucocorticoid resistance in canine mast cell tumors. *Can J Vet Res*, 85(4), 302–308.
138. Mazaki-Tovi, M., Reich, M., Karnieli, A., Kuzi, S., Aroch, I. (2016). Marked subcutaneous mast cell and eosinophilic infiltration associated with the presence of multiple *Dirofilaria repens* microfilariae in 4 dogs. *Vet Clin Pathol*, 45(4), 703–709. doi: 10.1111/vcp.12410
139. Meichner, K., Kiupel, M., Kasantikul, T., Rakich, P., Banovic, F. (2019). Lokivetmab therapy for pruritus in a dog with cutaneous mastocytosis. *Vet Dermatol*. 30(1), 73-e22. doi: 10.1111/vde.12702
140. Mickelson, M. A. (2022). Updated Concepts in Oncologic Surgery: Apocrine Gland Anal Sac Adenocarcinoma and Mast Cell Tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 52(2), 549–580. doi: 10.1016/j.cvsm.2021.12.008
141. Miller, R. L., Van Lelyveld, S., Warland, J., Dobson, J. M., Foale, R. D. (2016). A retrospective review of treatment and response of high-risk mast cell tumours in dogs. *Vet Comp Oncol*, 14(4), 361–370. doi: 10.1111/vco.12116
142. Misdorp, W. (2004). Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *The veterinary quarterly*, 26(4), 156–169. DOI: 10.1080/01652176.2004.9695178.
143. Misdorp, W., Meuten, D. (2002). Tumors of the mammary gland. *Tumors of domestic animals*, 575–606.

144. Moolgavkar, S. H., Knudson, A. G. (1981). Mutation and cancer - a model for human carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst*, 66, 1037–1052. doi: 10.1093/jnci/66.6.1037
145. Moore, P. S., Chang, Y. (2013). The Conundrum of Causality in Tumor Virology: The Cases of KSHV and MCV. *Semin Cancer Biol.*, 26, 4–12. doi: 10.1016/j.semcancer.2013.11.001
146. Muhammadnejad, A., Keyhani, E., Mortazavi, P., Behjati, F., Haghdooost, I. S. (2012). Overexpression of her-2/neu in malignant mammary tumors; translation of clinicopathological features from dog to human. *Asian Pac J Cancer Prev*, 13(12), 6415–6421. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.12.6415
147. Mullins, M. N., Dernell, W. S., Withrow, S. J., Ehrhart, E. J., Thamm, D. H., & Lana, S. E. (2006). Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 cases (1998-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(1), 91–95. DOI: 10.2460/javma.228.1.91.
148. Murphy, S., Sparkes, A. H., Blunden, A. S., Brearley, M. J., & Smith, K. C. (2006). Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *The Veterinary Record*, 158(9), 287–291. doi: 10.1136/vr.158.9.287.
149. Mysak, A. R., & Ivashkiv, B. B. (2021). Features of the clinical manifestation of the cutaneous form of mastocytoma in dogs. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 4(3), 62–67. doi: 10.32718/ujvas4-3.11
150. Mysak, A., & Ivashkiv, B. (2021). Clinical and pathomorphological characteristics of cutaneous mastocytoma of dogs. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(104), 156–166. doi: 10.32718/nvlvet10425
151. Mysak, A., Khomyn, N., Pritsak, V., Tsisinska, S., Lenyo, Y., Nazaruk, N., Ivashkiv, B., Gutyj, B. (2021). Clinical and pathomorphological characteristics of spontaneous neoplasia of the dairy gland in dogs. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(3), 130-134. doi: 10.15421/2021 153

152. Mysak, A., Kielbowicz, Z., Khomyn, N., Pritsak, V., Gutyj, B. (2018). Graphically x-ray and ultrasound diagnostics for monitoring neoplasia of the mammary gland in bitches. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 386–393
153. Mysak, A., Pritsak, V., Ivashkiv, B. (2021). Mammary gland neoplasias in bitches (spreading, diagnosis, treatment methods). *Topical issues of the development of veterinary medicine and breeding technologies*, 73–131. doi: 10.30525/978-9934-26-258-6-4
154. Něčová, S., Mason, S. L., North, S. M. (2021). Outcome of dogs with intermediate grade low mitotic index high Ki67 mast cell tumours treated with surgery and single agent lomustine. *Aust Vet J.*, 99(5), 146–151. doi: 10.1111/avj.13059
155. Northrup, N. C., Howerth, E. W., Harmon, B. G., Brown, C. A., Carmicheal, K. P., Garcia, A. P., Latimer, K. S., Munday, J. S., Rakich, P. M., Richey, L. J., Stedman, N. L., & Gieger, T. L. (2005). Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *J Vet Diagn Invest.*, 17(6), 561–564. doi: 10.1177/104063870501700606.
156. Nowak, M.A., Waclaw, B. (2017). CANCER Genes, environment, and “bad luck”. *Science*, 355, 1266–1267. doi: 10.1126/science.aam9746
157. Oliner, J. D., Kinzler, K. W., Meltzer, P. S., George, D. L., Vogelstein, B. (1994). Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. *Nature*, 358, 80–83.
158. Oliveira, M. T., Campos, M., Lamego, L., Magalhães, D., Menezes, R., Oliveira, R., Patanita, F., & Ferreira, D. A. (2020). Canine and Feline Cutaneous Mast Cell Tumor: A Comprehensive Review of Treatments and Outcomes. *Topics in companion animal medicine*, 41, 100472.
159. O'Neill, M., Wustefeld-Janssens, B. G., Tremolada, G., Griffin, M. (2023). Narrative operative reports inconsistently record surgical information relating to resection of soft tissue sarcomas and mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 261(10), 1–5. doi: 10.2460/javma.23.03.0152

160. Owen, L. N. (1980). TNM Classification of Tumors in Domestic Animals. Geneva: World Health Organization. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68618>.
161. Ozaki, K, Yamagami, T, Nomura, K, Narama, I. (2007). Prognostic significance of surgical margin, ki-67 and cyclin d1 protein expression in grade ii canine cutaneous mast cell tumor. *J. Vet. Med. Sci*, 69(11), 1117–1121.
162. Pardanani, A. (2016). Systemic mastocytosis in adults: 2017 update on diagnosis, risk stratification and management. *American Journal of Hematology*, 91(11), 1146–1159. doi: 10.1002/ajh.24553.
163. Parsa, N. (2012). Environmental Factors Inducing Human Cancers. *Iran J Public Health*, 41(11), 1–9.
164. Patnaik, A. K., Ehler, W., & MacEwen, E. (1984). Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Veterinary pathology*, 21, 469–474. doi: 10.1177/030098588402100503.
165. Perchick, J. P., Beswick, J. A. (2023). Anal sac mast cell tumor in a dog. *Can Vet J*, 64(9), 849–853.
166. Phan, M., Kim, C., Mutsaers, A., Poirier, V., Coomber, B. (2022). Modulation of mTOR signaling by radiation and rapamycin treatment in canine mast cell cancer cells. *Can J Vet Res*, 86(1), 3–12.
167. Pierini, A., Lubas, G., Gori, E., Binanti, D., Millanta, F., & Marchetti, V. (2019). Epidemiology of Breed-Related Mast Cell Tumour Occurrence and Prognostic Significance of Clinical Features in a Defined Population of Dogs in West-Central Italy. *Veterinary sciences*, 6(2), 53. DOI: 10.3390/vetsci6020053.
168. Proschowsky, H. F., Rugbjerg, H., Ersbøll, A. K. (2003). Morbidity of purebred dogs in Denmark. *Preventive Veterinary Medicine*, 58(1-2), 53–62.
169. Ramos, S. C., Macfarlane, M. J., & Polton, G. (2022). Isotretinoin treatment of 12 dogs with epitheliotropic lymphoma. *Veterinary dermatology*, 33(4), 345–e80. doi: 10.1111/vde.13079
170. Rassnick, K. M., Al-Sarraf, R., Bailey, D. B., Chretin, J. D., Phillips, B., Zwhalen, C. H. (2010). Phase II open-label study of single-agent hydroxyurea for

treatment of mast cell tumours in dogs. *Vet Comp Oncol*, 8(2), 103–111. doi: 10.1111/j.1476-5829.2010.00211.x

171. Rauner, G. (2024). Using Organoids to Tap Mammary Gland Diversity for Novel Insight. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 29(1), 7. doi: 10.1007/s10911-024-09559-z

172. Rosenberger, J. A., Pablo, N. V., Crawford, P. C. (2007). Prevalence of and intrinsic risk factors for appendicular osteosarcoma in dogs: 179 cases (1996–2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231(7), 1076–1080.

173. Sabattini, S., Faroni, E., Renzi, A., Ghisoni, G., Rigillo, A., Bettini, G., Pasquini, A., Zanardi, S., Guerra, D., Marconato, L. (2022). Longitudinal lymph node step-sectioning for the identification of metastatic disease in canine mast cell tumor. *Vet Pathol*, 59(5), 768–772. doi: 10.1177/03009858221088780

174. Sabattini, S., Scarpa, F., Berlato, D., & Bettini, G. (2015). Histologic grading of canine mast cell tumor: is 2 better than 3?. *Veterinary pathology*, 52(1), 70–73. DOI: 10.1177/0300985814521638.

175. Sapiernyński, R. (2018). Badanie histopatologiczne w onkologii weterynaryjnej. *Część III. Guzy z komórek tucznych u psów Życie Weterynaryjne*, 93(3), 169–174.

176. Saunders, H., Thomson, M. J., O'Connell, K., Bridges, J. P., & Chau, L. (2021). Evaluation of a modified proportional margin approach for complete surgical excision of canine cutaneous mast cell tumours and its association with clinical outcome. *Veterinary and comparative oncology*, 19(4), 604–615. DOI: 10.1111/vco.12630.

177. Scarpa, F., Sabattini, S., & Bettini, G. (2016). Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol.*, 14(3), 245–251. DOI: 10.1111/vco.12090.

178. Scarpa, F., Sabattini, S., Marconato, L., Capitani, O., Morini, M., & Bettini, G. (2012). Use of histologic margin evaluation to predict recurrence of cutaneous malignant tumors in dogs and cats after surgical excision. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(10), 1181–1187. DOI: 10.2460/javma.240.10.1181.

179. Schultheiss, P. C., Gardiner, D. W., Rao, S., Olea-Popelka, F., & Tuohy, J. L. (2011). Association of histologic tumor characteristics and size of surgical margins with clinical outcome after surgical removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(11), 1464–1469. DOI: 10.2460/javma.238.11.1464.
180. Seto, M., Honma, K., Nakagawa, M. (2010). Diversity of genome profiles in malignant lymphoma. *Cancer Science*, 101, 573–578.
181. Shaw, T., Kudnig, S. T., & Firestone, S. M. (2018). Diagnostic accuracy of pre-treatment biopsy for grading cutaneous mast cell tumours in dogs. *Vet Comp Oncol*, 16(2), 214–219. doi: 10.1111/vco.12346.
182. Sledge, D. G., Webster, J., & Kiupel, M. (2016). Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. *Vet J.*, 215, 43–54. doi: 10.1016/j.tvjl.2016.06.003.
183. Smiech, A., Slaska, B., Lopuszynski, W., Jasik, A., Bochyńska, D., & Dąbrowski, R. (2018). Epidemiological assessment of the risk of canine mast cell tumours based on the Kiupel two-grade malignancy classification. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60, 70. doi: 10.1186/s13028-018-0424-2.
184. Smith, J., Kiupel, M., Farrelly, J., Cohen, R., Olmsted, G., Kirpensteijn, J., Brocks, B., & Post, G. (2017). Recurrence rates and clinical outcome for dogs with grade II mast cell tumours with a low AgNOR count and Ki67 index treated with surgery alone. *Veterinary and comparative oncology*, 15(1), 36–45. DOI: 10.1111/vco.12140.
185. Smith, S. H., Goldschmidt, M. H., McManus, P. M. (2002). A comparative review of melanocytic neoplasms. *Veterinary Pathology*, 39(6), 651–678.
186. Stanclift, R. M., Gilson, S. D. (2008). Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 232(1), 53–62. doi: 10.2460/javma.232.1.53
187. Stefanello, D., Buracco, P., Sabattini, S., Finotello, R., Giudice, C., Grieco, V., Iussich, S., Tursi, M., Scase, T., Di Palma, S., Bettini, G., Ferrari, R., Martano, M., Gattino, F., Marrington, M., Mazzola, M., Elisabetta Vasconi, M.,

Annoni, M., & Marconato, L. (2015). Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009-2014). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246(7), 765–769. DOI: 10.2460/javma.246.7.765.

188. Tamlin, V. S., Bottema, C. D. K., & Peaston, A. E. (2020). Comparative aspects of mast cell neoplasia in animals and the role of KIT in prognosis and treatment. *Vet Med Sci*, 6, 3–18. doi: 10.1002/vms3.201.

189. Thompson, J. J., Pearl, D. L., Yager, J. A., Best, S. J., Coomber, B. L., & Foster, R. A. (2011). Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. *Veterinary pathology*, 48(1), 156–168. doi: 10.1177/0300985810387446

190. Upchurch, D. A., Klocke, E. E., & Henningson, J. N. (2018). Amount of skin shrinkage affecting tumor versus grossly normal marginal skin of dogs for cutaneous mast cell tumors excised with curative intent. *American journal of veterinary research*, 79(7), 779–786. doi: 10.2460/ajvr.79.7.779

191. Valent, P., Sotlar, K., Sperr, W. R., Reiter, A., Arock, M., & Horny, H. P. (2015). Chronic mast cell leukemia: a novel leukemia-variant with distinct morphological and clinical features. *Leuk Res*, 39(1), 1–5. doi: 10.1016/j.leukres.2014.09.010.

192. Visvader, J. E. (2011). Cells of origin in cancer. *Nature*, 469, 314–322. doi: 10.1038/nature09781

193. Welle, M. M., Bley, C. R., Howard, J., & Rüfenacht, S. (2008). Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary dermatology*, 19(6), 321–339. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2008.00694.x.

194. William, W. N. Jr, Heymach, J. V., Kim, E. S., Lippman, S. M. (2009). Molecular targets for cancer chemoprevention. *Nat Rev Drug Discov*, 8(3), 213-225. doi: 10.1038/nrd2663

195. Willmann, M., Hadzijusufovic, E., Hermine, O. et al. (2018). Comparative Oncology: the Paradigmatic Example of Canine and Human Mast Cell Neoplasms. *Veterinary and Comparative Oncology*, 17(1), 1–10. doi: 10.1111/vco.12440.
196. Willmann, M., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Marconato, L., Dacasto, M., Hadzijusufovic, E., Hermine, O., Sadovnik, I., Gamperl, S., Schneeweiss-Gleixner, M., Gleixner, K. V., Böhm, T., Peter, B., Eisenwort, G., Moriggl, R., Li, Z., Jawhar, M., Sotlar, K., Jensen-Jarolim, E., Sexl, V., Horny, H. P., ... Valent, P. (2021). Proposed Diagnostic Criteria and Classification of Canine Mast Cell Neoplasms: A Consensus Proposal. *Frontiers in veterinary science*, 8, 755258. DOI: 10.3389/fvets.2021.755258.
197. Witschen, P. M., Elfstrum, A. K., Nelson, A. C., Schwertfeger, K. L. (2023). Characterization of Hyaluronan Localization in the Developing Mammary Gland and Mammary Tumors. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 28(1), 1. doi: 10.1007/s10911-023-09528-y
198. Wu, S., Powers, S., Zhu, W., Hannun, Y. A. (2016). Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. *Nature*, 529, 43–47. doi: 10.1038/nature16166
199. Wu, S., Zhu, W., Thompson, P., Hannun, Y. A. (2018). Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors. *Nat Commun*, 9(1), 3490. doi: 10.1038/s41467-018-05467-z
200. Yang, C., Bradley, C. W., Preziosi, D., & Mauldin, E. A. (2023). Cutaneous mastocytosis in 8 young dogs and review of literature. *Veterinary pathology*, 60(6), 849–856. doi: 10.1177/03009858231174452
201. Івашків Б.Б., Мисак А.Р. (Ivashkiv, B., & Mysak, A.) (2024). Мастоцитоз шкіри у собак, комплексне лікування та виживаємість тварин. НВ ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки, 26 (115), 159-174. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11523>
202. Івашків Б.Б., Прицак В.В., Мисак А.Р. Клініко-гематологічний статус собак за пухлин опасистих клітин. Сучасний розвиток ветеринарної

медицини: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. 3 жовтня 2024 р. Білоцерківський НАУ. Біла Церква, 2024. С.58-60.

203. Івашків Б., Мисак А. Морфологічні та біохімічні показники крові собак за мастоцитом високого- та низького ступеня злоякісності. Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині (до 240-річчя започаткування викладання ветеринарної медицини у Львові). Львів, 17–18 жовтня 2024 р. : тези доп. III конференції. Львів: [ЛНУВМБ імені С. З. Ґжицького], 2024. с.114-115.

204. Holubova, H. (2021). Kaplan-Meyer Survival Curves: Simulation Technique. Scientific Bulletin of the National Academy of Statistics, Accounting and Audit, (3–4), 15–22. DOI: 10.31767/nasoa.3-4-2021.02. Horta, R. D. S., Giuliano, A., Lavalle, G. E., Costa, M. P.,

205. Bjerrum, O. W. (2011). Interferon- α treatment in systemic mastocytosis. Current drug targets, 12(3), 433–436. DOI: 10.2174/138945011794815293.

206. Parker, B. S., Rautela, J., & Hertzog, P. J. (2016). Antitumour actions of interferons: implications for cancer therapy. Nature reviews. Cancer, 16(3), 131– 144. DOI: 10.1038/nrc.2016.14.

207. Ziekman, P. G., Otter, W. D., Tan, J. F., Teske, E., Kirpensteijn, J., Koten, J. W., & Jacobs, J. J. (2013). Intratumoural interleukin-2 therapy can induce regression of non-resectable mastocytoma in dogs. Anticancer research, 33(1), 161–165. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23267141>.

208. Mulisch, M., Welsch, U. (2010). Romeis Mikroskopische Technik. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.

.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

НАУКОВІ ПРАЦІ, У ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Івашків Б.Б. (65%), Мисак А.Р. (15%), Хомин Н.М. (10%), Пріцак В.В. (10%). Моніторинг поширення спонтанних неоплазій у собак в умовах м. Львів та в приміській зоні обласного центру. Науковий вісник ветеринарної медицини» 36. наукових праць. Випуск 2 (149). Біла Церква, 2019. С. 97-104.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-97-104 (здобувач організував проведення моніторингових досліджень та провів аналіз одержаних результатів).

2. Івашків Б. (80%), Мисак А. (10%), Пріцак В. (10%) (2020). Клінічна характеристика мастоцитом у собак. Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки, 22 (98), 144-153. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9825> (здобувач організував проведення дослідів, провів клінічні дослідження)

3. Мисак А. (50%), Івашків Б. (50%). (2021). Клініко-патоморфологічна характеристика мастоцитом шкіри собак. Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки, 23 (104), 156-166. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10425> (здобувач організував проведення дослідів, виконав цитологічні і гістологічні дослідження).

4. Mysak A. (20%), Ivashkiv B. (80%). Features of the clinical manifestation of the cutaneous form of mastocytoma in dogs Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences, 2021, 4 (3), 62-67. <https://doi.org/https://doi.org/10.32718/ujvas4-3.11> (здобувач організував проведення дослідів, виконав цитологічні і гістологічні дослідження).

5. Івашків Б.Б. (80%), Мисак А.Р. (20%) (Ivashkiv, B., & Mysak, A.) (2024). Мастоцитома шкіри у собак, комплексне лікування та виживаємість тварин. НВ ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки, 26 (115), 159-174. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11523>. (здобувачем

розроблено протокол лікування проведено його клінічну апробацію та оцінку ефективності, підготовлено рукопис до друку).

Матеріали науково-практичних конференцій:

1. Івашків, Б. (80%), Мисак, А. (20%) (2018). Поширення та нозологічна структура пухлин шкіри у собак залежно від породи, статі та віку. Матеріали конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині». тези доповідей м. Львів, (29-30 листопада 2018 р.): С. 66-67. Retrieved from <https://nvlvet.com.ua/index.php/conference/article/view/4416> (здобувач організував проведення моніторингових досліджень та провів їх аналіз).

2. Івашків Б.Б. (100%) Показники еритроцитопоезу в собак за неоплазій шкіри. Тези доповідей I Міжнародної науково-практичної конференції НПП та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти». Одеса 13-14 квітня 2021. С. 34-36.

3. Івашків Б.Б. (75%), Мисак А.Р. (25%) Особливості патоморфологічної діагностики мастоцитом у собак. II конференція. Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині присвячена 140-річчю відкриття навчального закладу "Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові: тези доповідей, м. Львів, (18–19 листопада 2021 р.) СПОЛОМ, 2021. С. 62-64. (здобувач організував проведення дослідів, виконав гістологічні дослідження).

4. Івашків Б.Б. (90%), Мисак А.Р. (10%) Ефективність використання дексаметазону в лікуванні пухлин шкіри та підшкірної клітковини у собак. Матеріали науково-практичної онлайн конференції «Безпечність та якість харчових продуктів у концепції «Єдине здоров'я» (м. Львів, 1–2 червня 2023 р.). Львів, 2023. С. 98–99. doi: <https://doi.org/10.32718/konf.1-2.06.2023> (здобувач організував проведення дослідів, провів клінічні дослідження).

5. Івашків Б.Б. (70%), Пріцак В.В. (15%), Мисак А.Р. (15%) Клініко-гематологічний статус собак за пухлин опасистих клітин. Сучасний розвиток ветеринарної медицини: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. 3 жовтня 2024 р. Білоцерківський НАУ. Біла Церква, 2024. С.58-60. *(здобувач організував проведення дослідів, виконав гематологічні дослідження).*

6. Івашків Б. (80%), Мисак А. (20%) Морфологічні та біохімічні показники крові собак за мастоцитом високого- та низького ступеня злоякісності. Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині (до 240-річчя започаткування викладання ветеринарної медицини у Львові). Львів, 17–18 жовтня 2024 р. : тези доп. III конференції. Львів: [ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького], 2024. с.114-115. *(здобувач організував проведення дослідів, виконав гематологічні дослідження, підготував рукопис до друку.)*

ДОДАТОК Б

АПРОБАЦІЯ В КЛІНІКАХ

Затверджую»
 ФОП, Пріцак В.В. ветеринарна клініка
 «СоноВет», м.Львів, вул. Шевченка 25
 Пріцак В.В.
 « 2025 р.



АКТ про впровадження/використання результатів кандидатської дисертаційної роботи у практику ветеринарної медицини

Цим актом засвідчується, що на базі ветеринарної клініки «СоноВет» впроваджено у практичну діяльність схему комплексного лікування мастоцитом шкіри у собак, розроблену в межах дисертаційного дослідження.

Результати дисертаційної роботи Івашківа Богдана Богдановича на тему: «Клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак при мастоцитомі шкіри», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – ветеринарна медицина, яка виконувалась на кафедрі хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, були апробовані та впроваджені у практику лікарів ветеринарної медицини клініки «СоноВет».

Вказана схема лікування використовується як ефективний та дієвий підхід до терапії собак з діагнозом мастоцитом шкіри, що підтверджується позитивними клінічними результатами.

ДОДАТОК В

АПРОБАЦІЯ В КЛІНІКАХ

«Затверджую»
 ФОП, Директор ветеринарної клініки
 «Ветеринарна клініка Доктора Маркевича»,
 м. Львів, вул. Лисенецька 2а
 Маркевич О.М.
 «_____» _____ 2025 р.



АКТ про впровадження/використання результатів кандидатської дисертаційної роботи у практику ветеринарної медицини

Цим актом засвідчується, що на базі ветеринарної клініки «Доктора Маркевича» впроваджено у практичну діяльність схему комплексного лікування мастоцитом шкіри у собак, розроблену в межах дисертаційного дослідження.

Результати дисертаційної роботи Івашківа Богдана Богдановича на тему: «Клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак при мастоцитомі шкіри», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – ветеринарна медицина, яка виконувалась на кафедрі хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, були апробовані та впроваджені у практику лікарів ветеринарної медицини клініки «Доктора Маркевича».

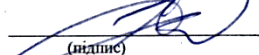
Вказана схема лікування використовується як ефективний та дієвий підхід до терапії собак з діагнозом мастоцитом шкіри, що підтверджується позитивними клінічними результатами.

ДОДАТОК Г

Впровадження результатів досліджень в навчальний процес

Погоджено

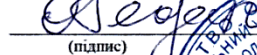
В.о. проректор з науково-педагогічної
роботи Львівського національного
університету ветеринарної медицини та
біотехнологій імені С.З.Гжицького

 Двильюк І.В.
(підпис) (Прізвище, ініціали)

« 18 » 12 2024 р.

Затверджую

Проректор з наукової роботи Львівського
національного університету ветеринарної
медицини та біотехнологій імені
С.З.Гжицького

 Федасиук О.М.
(підпис) (Прізвище, ініціали)

« 18 » 12 2024 р.



АКТ

про впровадження/використання результатів
докторської (кандидатської) дисертаційної роботи
у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи аспіранта кафедри хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького, Івашківа Богдана Богдановича на тему «Клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак за мастоцитоми шкіри», представленого на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 — «Ветеринарна медицина», впроваджено у навчальну програму при викладанні дисциплін «Ветеринарна онкологія» та «Хірургія».

Представлені дисертантом результати досліджень висвітлюють частоту поширення та структуру онкологічних захворювань, розкривають клінічні та морфологічні аспекти механізмів розвитку та особливості біологічної поведінки мастоцитом шкіри в собак, клініко-експериментально обґрунтовують мультимодальний підхід до діагностики та лікування неоплазій. На підставі результатів досліджень патогенетично обґрунтовано комплексне лікування собак із мастоцитомою шкіри, яке полягає у застосуванні дексаметазону, шляхом неоад'ювантної терапії, оперативного видалення пухлини та ад'ювантної хіміотерапії за схемою VCD (вінбластин, циклофосфамід, дексаметазон), а також імунотерапії (препарату імуностимулюючої дії – анфлурону (рекомбінантних α - γ -інтерферонів, аналогів людських α -2a і γ -інтерферонів) у випадку мастоцитом високої злоякісності та оперативного видалення пухлин і біотерапії за неоплазій низького ступеня злоякісності, що дозволяє досягти збільшення періоду ремісії хвороби, підвищення показників виживання та якості життя тварин. Результати роботи впроваджені у навчальний процес кафедри хірургії та використовуються під час читання лекцій, лабораторних занять і формування практичних навичок з діагностики, лікування та прогнозування неоплазій. Вони спрямовані на підготовку здобувачів вищої освіти освітнього рівня «Магістр» за напрямом 21 — «Ветеринарія» та спеціальністю 211 — «Ветеринарна медицина» у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького.

Декан факультету
ветеринарної медицини,
к. вет. н., доцент



Пундяк Т.О.

В.о. завідувача кафедри хірургії
к. вет. н., доцент

Пріцак В.В.

ДОДАТОК Д

Впровадження результатів досліджень в навчальний процес

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор –
проректор з навчальної роботи
Дніпровського державного
аграрно-економічного університету,
професор

 Дмитро ОНОПРИЄНКО
«__» _____ 2024



ПОГОДЖЕНО

Проректор з наукової та інноваційної
діяльності Дніпровського державного
аграрно-економічного університету,
професор

 Юрій ТКАЛІЧ
«__» _____ 2024

Акт

про впровадження результатів дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи аспіранта кафедри хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького Івашківа Богдана Богдановича «Клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак за мастоцитоми шкіри» розглянуто на засіданні кафедри ветеринарної хірургії і репродуктології Дніпровського державного аграрно-економічного університету (протокол № 1 від 29 серпня 2024 р.).

Результати дослідження використовуються в навчальному процесі при викладанні дисципліни «Клінічна онкологія», а також за проведення наукових досліджень на кафедрі ветеринарної хірургії і репродуктології Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Декан факультету ветеринарної медицини,
кандидат ветеринарних наук, доцент



Іван БІБЕН

Завідувач кафедри ветеринарної
хірургії і репродуктології,
доктор ветеринарних наук, професор

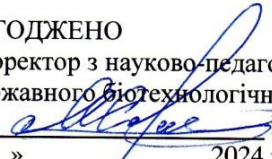


Дмитро БІЛИЙ

ДОДАТОК Е

Впровадження результатів досліджень в навчальний процес

УЗГОДЖЕНО

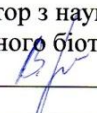
Проректор з науково-педагогічної роботи
Державного біотехнологічного університету

Максим СЕРІК
«__» _____ 2024 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. ректора
Державного біотехнологічного університету

Андрій КУДРЯШОВ
«__» _____ 2024 р.

УЗГОДЖЕНО

Проректор з наукової роботи
Державного біотехнологічного університету

Валерій МИХАЙЛОВ
«__» _____ 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи в освітній процес
закладів вищої освіти

Дійсним актом підтверджується, що результати дисертаційної роботи Івашківа Богдана Богдановича на тему: «Клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак за мастоцитомі шкіри», представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 – ветеринарна медицина, виконаної на кафедрі хірургії Львівського університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького, впроваджено в освітній процес кафедри: Ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету.

1. **Вид впроваджених результатів:** застосування комплексного лікування собак за мастоцитомі шкіри, яке полягає у використанні дексаметазону, шляхом неoad'ювантної терапії, проведенні оперативного видалення пухлини та ад'ювантної хіміотерапії за схемою VCD, а також імунотерапії у випадку мастоцитом високої злоякісності та оперативного видалення пухлин і біотерапії за неоплазій низького ступеня злоякісності.

2. **Форма впровадження:** методичні рекомендації, статті.

3. **Новизна результатів дисертаційної роботи:** полягає у тому, що теоретично і клініко-експериментально обґрунтовано застосування комплексного лікування собак за мастоцитомі шкіри (MCTs) з використанням неoad'ювантної терапії, хірургічної екстирпації неоплазій та ад'ювантної хіміотерапії і біотерапії. За результатами досліджень визначено особливості клінічного прояву та діагностичні критерії мастоцитомі шкіри у собак. Подано характеристику мастоцитом згідно з міжнародною клінічною системою TNM оцінювання пухлин та застосовано дворівневу гістологічну класифікацію пухлин за Kiupel. Патогенетично обґрунтовано комплексне лікування онкологічно хворих тварин у випадку мастоцитом високої злоякісності та оперативного видалення пухлин і біотерапії за неоплазій низького ступеня злоякісності.

4. **Перелік курсів і дисциплін, у рамках яких впроваджено результати дисертаційної роботи:** по кафедрі ветеринарної хірургії та репродуктології, за дисципліною Загальна та спеціальна хірургія; Хвороби дрібних тварин (спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).

5. **Соціальний і науково-економічний ефект:** підвищення якості освіти та ознайомлення майбутніх фахівців, а також практикуючих лікарів і науковців України з досягненнями у вивченні онкологічних захворювань тварин, в тому числі мастоцитомі шкіри в собак та запровадження у вітчизняну ветеринарно-медичну практику сучасних стандартів діагностично-лікувальних заходів за даної патології.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри: протокол № 3 від «12» листопада 2024 р.
Завідувач кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології, д-р вет. наук, професор

Відповідальний за впровадження, декан

Дмитро СЛЮСАРЕНКО

Олеся ЦИМЕРМАН

ДОДАТОК Є**Впровадження результатів досліджень в навчальний процес****«Затверджую»**

Проректор з освітньої, виховної
та міжнародної діяльності
Білоцерківського національного
аграрного університету,
д-р с.-г. наук, професор



Тетяна ДИМАНЬ

2024 р.

АКТ**про впровадження результатів у освітній процес**

Матеріали дисертаційної роботи аспіранта кафедри хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького Івашківа Богдана Богдановича «Клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак за мастоцитоми шкіри» використовуються в навчальному процесі при викладанні дисциплін «Хірургічні хвороби дрібних тварин з анестезіологією та реанімацією» та «Клінічна онкологія», а також за проведення наукових досліджень на кафедрі ветеринарної хірургії та анестезіології Білоцерківського національного аграрного університету.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри ветеринарної хірургії та анестезіології Білоцерківського національного аграрного університету (протокол № 4 від 4 вересня 2024 р.)

Завідувач кафедри ветеринарної
хірургії та анестезіології,
доктор ветеринарних наук, професор,
академік НААНУ

Михайло РУБЛЕНКО

ДОДАТОК Ж

Впровадження результатів досліджень в навчальний процес

Погоджено:

Заступник директора з наукової
роботи Державного науково-
дослідного інституту

ветеринарних препаратів та
кормових добавок, м. Львів
Доктор ветеринарних наук
Музика В.П.
« 4 » вересня 2017р.



Затверджую:

Проректор з наукової роботи
ЛНУВМБ ім. С.З. Гжицького
Доцент Олександр Федень О.Я.
« 4 » вересня 2017р.

АКТ

Від 4 вересня 2017 року

Ми, нижче підписані співробітники кафедри хірургії: завідувач кафедри, доктор ветеринарних наук, професор Мисак А.Р., аспірант Івашків Б.Б. з однієї сторони та завідувач лабораторії клініко-біологічних досліджень Державного науково-дослідного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок, доктор ветеринарних наук Жила М.І. з іншої, склали даний акт про те, що у Державному науково-дослідному інституті ветеринарних препаратів та кормових добавок у лабораторії клініко-біологічних досліджень були проведені гістологічні, цитологічні, гематологічні, біохімічні, імунологічні дослідження крові онкологічно хворих собак, яким було застосовано комплексне лікування, яке включало хірургічне видалення новоутворень, проведення хіміотерапії цитостатичними препаратами. Результати лабораторних досліджень використано для клініко-експериментального обґрунтування комплексного лікування собак із пухлинами шкіри.

Мисак А.Р.

Івашків Б.Б.

Жила М.І.