

Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10425

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 616-006: 636.7

## Clinical and pathomorphological characteristics of cutaneous mastocytoma of dogs

A. R. Mysak, B. B. Ivashkiv

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

### Article info

Received 23.11.2021

Received in revised form

22.12.2021

Accepted 23.12.2021

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-067-800-07-05  
E-mail: [mysak.andriy.sofia@gmail.com](mailto:mysak.andriy.sofia@gmail.com)

**Mysak, A. R., & Ivashkiv, B. B. (2021). Clinical and pathomorphological characteristics of cutaneous mastocytoma of dogs. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 23(104), 156-166. doi: 10.32718/nvlvet10425**

According to foreign researchers, mastocytoma is one of dogs' most common (7–12 %). The study aimed to study the features of clinical manifestations of cutaneous mast cells according to the criteria of clinical TNM classification and pathomorphological (cytological and histological) verification of neoplasia according to the two-stage Kiupel classification. We analyzed 24 cases of cutaneous mastocytoma in dogs. During 2016–2020 underwent an entire course of diagnostic and therapeutic measures in the Department of Surgery and Clinic of Small Pets of Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv. According to the criteria of the international clinical TNM classification at the time of admission to the clinic in 7 (29.2 %) dogs established stage I of the tumor, 10 (41.7 %) – II, 6 (25 %) – III, and 14.1 %) animals – stage IV. Based on cytological evaluation of biopsy material selected from tumors and regional lymph nodes, low-grade mastocyte was found in 17 (70.8 %) animals, and in 7 (29.2 %) cases, neoplasia was characterized as high-grade. Histological examination of excisive material selected during surgery in 16 (66.7 %) dogs verified mastitis of low malignancy and, accordingly, in 8 (33.3 %) animals MCTs of high malignancy. The sensitivity of the pathomorphological study was 87.5 % and the specificity of 95.8 %. It has been proven that cutaneous mastocytoma belongs to neoplasms with specific clinical manifestations. Therefore, targeted biopsy should be performed under ultrasound control, fine-needle biopsy (FNA), and material selection for the cytological examination. A comparative analysis of clinical TNM classification data and the results of two-stage histological classification (Kiupel) showed that the size of the tumor and the degree of its malignancy are interrelated, as there is a trend in which, along with increasing T, the clinical TNM classification of cancer, the number of cases of verification of malignant neoplasms is also growing. It was also found that the malignant course of the disease is characteristic of mast cells localized in dogs in areas of the body freely available for permanent injury (limbs, groin, perineum, neck). The obtained data will supplement the evidence of researchers from other countries on the histological structure of tumors and expand knowledge about the pathogenesis of mastocytoma in dogs.

**Key words:** dog, mast cell tumors, clinical signs, cytological and histological examination, mast cell classification.

## Клініко-патоморфологічна характеристика шкірної мастоцитомі собак

A. Р. Мисак, Б. Б. Івашків

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Згідно повідомлень зарубіжних дослідників мастоцитомі є однією з найбільш поширених (7–12 %) пухлин шкіри у собак. Метою роботи було вивчення особливостей клінічного прояву шкірних мастоцитом згідно критеріїв клінічної TNM класифікації та патоморфологічної (цитологічної та гістологічної) верифікації неоплазії за двоступеневою класифікацією Kiupel. Було проаналізовано 24 випадки шкірної мастоцитомі в собак, які впродовж 2016–2020 рр. проходили повний курс діагностично-лікувальних заходів в умовах кафедри хірургії та клініки дрібних домашніх тварин ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Згідно критеріїв міжнародної

Scientific Messenger LNUVMB. Series: Veterinary sciences, 2021, vol. 23, no 104

клінічної TNM класифікації на момент поступлення у клініку в 7 (29,2 %) собак встановлено I стадію розвитку пухлинного процесу, у 10 (41,7 %) – II, у 6 (25 %) – III і в 1 (4,1 %) тварини – IV стадію. На підставі даних цитологічної оцінки біопсійного матеріалу відібраного із пухлин і регіонарних лімфатичних вузлів мастоцитом низького ступеня злоякісності констатовано у 17 (70,8 %) тварин і у 7 (29,2 %) випадках неоплазії були охарактеризовані як високозлоякісні. За гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу відібраного під час хірургічної операції у 16 (66,7 %) собак верифіковано мастоцитому низького ступеня злоякісності і, відповідно, у 8 (33,3 %) тварин MCTs високого ступеня злоякісності. Чутливість патоморфологічного дослідження становила 87,5 % і специфічність 95,8 %. Доведено, що шкірна мастоцитом належить до неоплазій із специфічними клінічними проявами тому, проведення тонкоголкової біопсії (FNA) та відбір матеріалу для цитологічного дослідження повинен здійснюватися шляхом прицільної біопсії під контролем УЗД. Порівняльний аналіз даних клінічної TNM класифікації та результатів двоступеневої гістологічної класифікації (Kiupel) показав, що величина пухлини та ступінь її злоякісності є взаємопов'язаними, адже прослідковується тенденція, при якій, поряд із зростанням показника T, що за клінічної TNM класифікації пухлини відображає її розмір, зростає і кількість випадків верифікації новоутворень, які мають злоякісний характер. Встановлено також, що злоякісний перебіг захворювання характерний для мастоцитом, що локалізуються в собак в ділянках тіла вільно доступних для постійного травмування (кінцівки, ділянки пахвони, промежини, шиї). Отримані дані доповняють свідчення дослідників інших країн про гістологічну будову новоутворень та розширюють знання щодо патогенезу мастоцитом у собак.

**Ключові слова:** собака, пухлина опасистих клітин (Mast cell tumors), клінічні ознаки, цитологічне та гістологічне дослідження, класифікація мастоцитом.

## Вступ

Пухлини опасистих клітин (Mast cell tumors (MCTs)) трапляються у тварин різних видів, рідко в людини. Водночас, за повідомленнями численних дослідників (Murphy et al., 2006; Villamil et al., 2011; Blackwood et al., 2012; Dobson, 2013; Grüntzig et al., 2015; Sledge et al., 2016; Smiech et al., 2018; Ivashkiv et al., 2020) дане онкологічне захворювання є найбільш поширеним серед собак, в структурі неоплазій шкіри яких, частка мастоцитом може становити від 7 до 21 %. На сьогодні відомо (London, 2003; Misdorp, 2004; Tham, 2007; Welle et al., 2008), що генез MCTs характеризується не лише надмірною проліферацією атипичних мастоцитів, а й процесами їх активації та дегрануляції (синдромом активації мастоцитів) із вивільненням в навколишні тканини і кров надмірної кількості біологічно активних речовин, медіаторів та специфічних IgE-антитіл. За таких умов 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 та є причиною періодичної флуктуації величини пухлинного вузла. Відмічено також, що клінічний перебіг мастоцитом, як правило, супроводжується періодами загострення та ремісії, тому оцінити біологічну поведінку та передбачити прогноз захворювання досить складно. Відповідно до узагальнених результатів досліджень (Welle et al., 2008; Blackwood et al., 2012; London, 2013; Scarpa, 2016; Shaw et al., 2018) для ідентифікації MCTs у собак, достатнім є цитологічне дослідження біоптату, отриманого шляхом тонкоголкової аспіраційної біопсії пухлини (FNA). 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 (Thompson et al., 2010; Blackwood et al., 2012; Camus et al., 2016; Hergt et al., 2016; Sapierzyński, 2018).

Мета-аналіз сучасних наукових джерел засвідчує, що завдяки застосуванню передових технологій, за вивчення молекулярно-генетичних та імунобіологіч-

них властивостей клітин MCTs, численними дослідниками встановлено низку змін та атипичностей в субклітинних структурах, які можуть чітко вказувати на злоякісність неоплазії. Проте, як показує сьогодні, підходи щодо патоморфологічних критеріїв верифікації мастоцитом та системи їх оцінювання постійно зазнають уточнення та удосконалення і, нерідко, стають предметом дискусій. Так, упродовж тривалого часу у ветеринарній онкології найбільш вживаною була триступенева гістологічна класифікація MCTs за Patnaik et al. (1984). Згідно даної класифікації мастоцитом 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 мастоцитом 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 (Northrup et al., 2005; Romansik et al., 2007; Stefanello et al., 2015) 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 (Kiupel et al., 2011), згідно якої мастоцитом 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 коро-

тким терміном виживання (медіана до 4 місяців) тварин. Гістологічними критеріями за верифікації таких пухлин є мітотичний індекс - 7 або більше, наявність трьох або більше багатоядерних клітин, трьох або більше химерних ядер. Відповідно, усі інші мастоцити, які не відповідають цим критеріям, класифікуються як пухлини із низьким ступенем злоякісності.

Згідно повідомлень дослідників (Stefanello et al., 2015; Sabbatini et al., 2015; Camus et al., 2016; Smiech et al., 2018) 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 (Sledge et al., 2016; Sapierzyński, 2018), 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. За даними літератури прогностична інформація повинна враховувати клінічні ознаки та анатомічне розташування пухлини (Thompson et al., 2010; Garrett 2014), швидкість росту, розмір, загальний вигляд (Mullins et al., 2006; Pierini et al., 2019), клінічну стадію (Garrett, 2014; Stefanello et al., 2015; Warland et al., 2015), рецидиви, метастази (Ferrari et al., 2018; Horta et al., 2018; Cruz et al., 2020), імуногістохімічні та молекулярні маркери (Sabbatini et al., 2015; Sledge et al., 2016; Kiupel, 2019).

Вочевидь наявність неоднозначних оцінок та певних розбіжностей за діагностики й прогнозу біологічної поведінки MCTs 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 мастоцити в умовах географічних популяцій України має не тільки науковий та загальнобіологічний інтерес, але й важливе практичне значення для вітчизняної ветеринарної медицини.

Виходячи з цього метою наших досліджень було встановити особливості клінічного прояву шкірної форми мастоцити у собак, а також провести патоморфологічну верифікацію та класифікацію неоплазій за двоступеневою класифікацією Kiupel.

### Матеріал і методи досліджень

У дослідження включено 24 собаки з мастоцитомою шкіри, які впродовж 2016–2020 рр. проходили повний курс діагностично-лікувальних заходів в умовах кафедри хірургії та клініки дрібних домашніх тварин ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Тварини були різних порід і статі, віком від 4 до 16 років. При поступленні в клініку обстеження онкологічно хворих собак здійснювали згідно критеріїв клінічної (TNM) класифікації пухлин (Owen, 1980), використовуючи

клінічні, інструментальні та лабораторні методи досліджень.

Для верифікації неоплазій на етапі доопераційного обстеження проводили цитологічне дослідження. Відбір матеріалу з пухлиноподібних утворень шкіри та регіонарних лімфатичних вузлів здійснювали шляхом тонкоголкової біопсії (FNA) у двох варіантах - класично, коли пункцію виконували "сліпим" методом та шляхом прицільної біопсії під контролем УЗД (апарат "ESAOTE MyLab 40" за використанням мультичастотного конвексного та лінійного датчиків 5,0 – 7,5 та 15 МГц відповідно). Із отриманих аспіратів виготовляли 2–3 мазки, підсушували їх на повітрі, фіксували метиловим спиртом впродовж 5 хвилин, фарбували за Романовським-Гімзою та вивчали під мікроскопом, використовуючи імерсійну систему. Критерієм для верифікації мастоцити було виявлення в цитологічних препаратах гомологічних круглих пухлинних клітин із азурофільними гранулами в цитоплазмі.

Усім собакам, після цитологічного підтвердження MCTs, було застосовано хірургічне лікування. Видалення пухлин проводили під загальною анестезією з дотриманням правил аластики та антиластики.

Гістологічне дослідження ексцизійного матеріалу, зокрема 24 вилучених пухлин, виконували згідно з стандартною методикою (Goralskyj et al., 2015). З кожної пухлини відбирали 3–4 зразки. За виготовлення гістологічних препаратів матеріал фіксували в розчині 10 % нейтрального формаліну, проводили через спирти зростаючої концентрації і заливали у парафінові блоки. Виготовлені зрізи фарбували гематоксиліном і еозином та альдегід-фуксином за методом Габа-Дибана та 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 з гістологічною класифікацією Kiupel (Kiupel et al., 2010). За гістологічного оцінювання MCTs виокремлювали неоплазії із 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, наявність 3 або більше химерних ядер з найвищою мітотичною активністю або з найвищим ступенем анізокаріозу або виявлення каріомегалії (тобто ядерний діаметр принаймні 10 % неопластичних клітин був зміненим щонайменше вдвічі). Усі інші мастоцити, які не відповідали цим критеріям, класифікували як пухлини з низьким ступенем злоякісності. Патоморфологічні дослідження проводили на кафедрі нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького.

### Результати та їх обговорення

Упродовж 2016–2020 рр. проведено діагностичні дослідження та лікування 24 собак (13 псів і 11 сук, різних порід, віком від 4 до 16 років) з мастоцитомою

шкіри. У 22 (91,7 %) досліджуваних собак неоплазії були поодинокими і лише у 2 (8,3 %) випадках – множинні вузлуваті ураження. Найбільш частим місцем локалізації МСТs були: тулуб (45,8 %), кінцівки (37,5 %), рідше голова і шия, пахвова, пахвинна та промежинно-перианальна ділянки (16,7 %). За первинного обстеження, на момент поступлення у клініку, поміж даних тварин встановлено I стадію розвитку пухлинного процесу (T1aN0M0, T1aN1aM0) у 7 (29,2 %) собак, у 10 (41,7 %) тварин – II (T2aN0M0, T2aN1aM0, T2aN1bM0, T2aN1cM0, T2aN1dM0), у 6 (25 %) – III (T3aN0M0, T3aN1bM0, T3aN1cM0) і в 1 (4,1 %) тварини – IV стадію (T3b,vN1bM1). Детальний аналіз щодо епідеміологічної ситуації, результатів клінічного дослідження собак та динаміки розвитку в них МСТs представлено нами в попередньому дослідженні (Ivashkiv et al., 2020). Проте, зважаючи на важливість за встановлення патоморфологічного діагнозу клінічних даних: симптомів неоплазії, її місця локалізації, швидкості росту та подвоєння величини пухлинного вузла, проростання в підшкірну клітковину, ураження та поширення (метастазування) в регіонарні лімфатичні вузли, внутрішні органи тощо, нами у даній статті акцентовано увагу лише на дані клінічного дослідження. Зокрема, у досліджуваних собак неоплазії I стадії мали вигляд невеликого, щільного, добре відмежованого, рухомого пухлинного вузла, що розміщувався в товщі шкіри. Пухлини II стадії були величиною 3–5 см, а III-ї – 6-10 см та більше. У окремих собак траплялися екземоподібні ураження шкіри схожі на нодулярний панікуліт. Встановлено, що у 10 (41,7 %) досліджуваних тварин швидкість зросту неоплазії була надзвичайно стрімкою, оскільки за  $56,5 \pm 1,91$  діб пухлини подвоїли свою величину. У 7 (29,2 %) собак час подвоєння величини первинної пухлини сягав, в середньому, чотири місяці ( $122,1 \pm 10,6$  доби), а в 5 (20,8 %) собак такий період тривав впродовж двох років. Інформація щодо розвитку пухлин у 2 (8,3 %) собак була невідомою. Слід відмітити, що для більшості мастоцитом, на відміну від інших солідних пухлин, збільшення їх величини було спровоковане, зазвичай, епізодичним виникненням запалення та набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, що очевидно пов'язано із синдромом активації та дегрануляції мастоцитів і в меншій мірі зростанням пухлинної маси. Водночас зауважено, що стрімко прогресуючий перебіг захворювання був характерним для мастоцитом, що локалізувалися на тазових кінцівках, в ділянках пахвини, промежини, шиї, а саме ділянках вільно доступних для постійного травмування і, перш за все, самотравмування (розчісування, лизання, розгризання) неоплазії. Ряд дослідників повідомляють також про агресивний розвиток МСТs з швидким метастазуванням в регіонарні лімфатичні вузли за локалізації уражень в ділянці морди, зокрема губ (Gieger et al., 2003; Hillman et al., 2010), в ділянці промежини, препуція, мошонки (Garrett, 2014; Sfiligoi et al., 2005).

Результати дослідження місцевого процесу показали, що в понад 87 % випадках захворювання характерними ознаками мастоцитомі були: набряк та запалення як у самій пухлині, так і в навколишніх ткани-

нах, алопеція над пухлиною, еритема та наявність виразок шкіри, періодична флуктуація величини пухлинного вузла, болючість при пальпації, свербіж шкіри в ділянці пухлини. За обстеження регіонарних лімфатичних вузлів у 11 (45,8 %) онкологічно хворих собак жодних змін зі сторони останніх не виявлено. У 8 (33,3 %) тварин регіонарні лімфатичні вузли дещо збільшені, проте не болючі, рухливі, не ущільнені, із гладкою поверхнею. Водночас у 5 (20,8 %) собак із пухлинами великих розмірів (більше 10 см в діаметрі) лімфатичні вузли були величиною 2–3 см, малорухомі, щільної консистенції. У однієї із цих тварин пальпація регіонарного лімфатичного вузла була ускладненою через зростання та фіксацію його до навколишніх тканин.

Відповідно до загальноприйнятих рекомендацій (Blackwood et al., 2012; Sledge et al., 2016; Camus et al., 2016) для верифікації неоплазій на етапі доопераційного обстеження проведено тонкоголкову біопсію (FNA) пухлин і регіонарних лімфатичних та цитологічне дослідження аспіратів. При цьому відмічено, що результат такого дослідження у великій мірі залежить від якості біоптату. Загальновідомо, що на відміну від інших пухлин шкіри, клінічний прояв мастоцитомі нерідко супроводжується запальним процесом, дифузним набряком та іншими патологічними процесами, які як правило, обумовлюють структурні зміни не лише пухлинного вузла, а й навколишніх тканин і створюють труднощі у виконанні біопсії. За результатами порівняльних досліджень біопсійного матеріалу, отриманого “сліпим” методом тонкоголкової біопсії та цільової біопсії проведеної під контролем УЗД (рис. 1), нами обґрунтовано суттєві переваги останнього. Встановлено, що понад 37 % 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 повстає ризик дисимінації пухлинних клітин у випадках наскрізного проколу пухлинного вузла або потрапляння голки у судини. Водночас, використання сонографії дозволяло встановити межі, форму і розміри пухлини, її ехотекстуру, тканинну перфузію (доплерографія) що, відповідно, забезпечило візуальний контроль прицільного відбору матеріалу із 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 мастоцитомі. Безперечно, що такі дані є вкрай важливим доповненням для цитологічного оцінювання біоптату та інтерпретації діагнозу.

Таким чином можна відмітити, що незважаючи більш кропітку підготовки та затрати більшого часу на виконання тонкоголкової біопсії під контролем УЗД дана маніпуляція дозволила нам отримати якіс-

ний матеріал для проведення цитологічної верифікації мастоцитом.



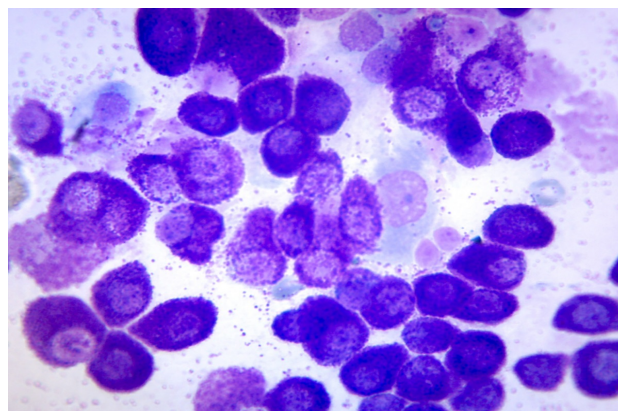
**Рис. 1.** Виконання пріцильної тонкоголкової біопсії під контролем УЗД

Згідно повідомлень численних літературних джерел скринінгом для верифікації мастоцитом є виявлення атипичних мастоцитів за цитологічного дослідження біоптатів пухлин. Отож, встановлення первинного діагнозу в нашому дослідженні ґрунтувалося на цитологічній ідентифікації мастоцитів – великих округлих клітин із гранулами пурпурового кольору в базофільній цитоплазмі. Потрібно зауважити, що під час проведення цитологічного дослідження було також акцентовано увагу на морфологічну структуру опасистих клітин, зокрема їх оцінювали на предмет наявності внутрішньоцитоплазматичних гранул, ядерного плеоморфізму, мітотичних фігур, дво- або багатоядерності та анізокаріозу. Тобто, критеріїв дворівневої класифікації за системою Кіурел, за якими розділяють МСТs на низько- та високозлоякісні пухлини. Гранульованість цитоплазми оцінювали як інтенсивно гранульовану та мало гранульовану, інколи змішану (за одночасної наявності перших та других). Ядерний плеоморфізм оцінювали як наявний, якщо були присутні не округлі ядерні форми, і відсутній, якщо були відзначені лише округлі чи яйцеподібні форми. Фібрили колагену, мітотичні фігури та двоядерні або багатоядерні клітини оцінювали як наявні або відсутні. Анізокаріоз визначали як >50 % коливання розміру ядер. Згідно результатів досліджень (Scarpa et al., 2016; Camus et al., 2016; Hergt et al., 2016; Shaw et al., 2018) вище вказані морфологічні показники легко ідентифікувати за цитологічного оцінювання аспіратів, вони мають високу специфічність (94–97,3 %) щодо гістологічної оцінки масоцитом і є важливими для розробки стратегії та тактики лікування.

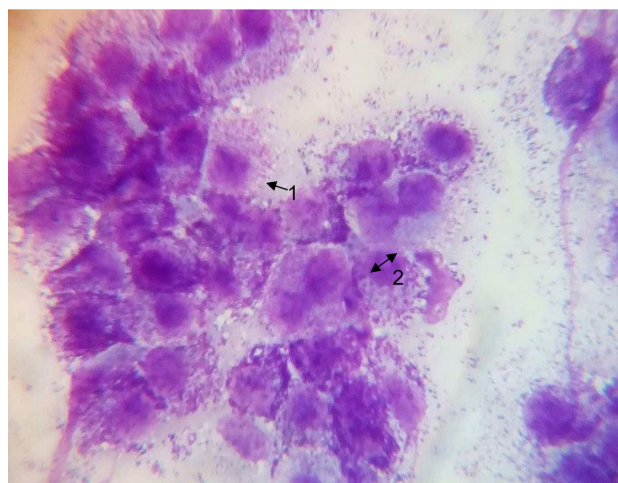
Слід відмітити, що за МСТs низького ступеня злоякісності найбільш типовою цитологічною ознакою було виявлення мастоцитів округлої або овальної форми, розміром в 1,5–3 рази більше нейтрофіла, які розташовувались групами з різною чисельністю клітин (рис. 2). Ядра таких мастоцитів круглої або овальної форми, чітко окреслені. Візуалізація ядра ускладнена, оскільки воно слабо профарбовується та вкрите гранулами, що абсорбують велику кількість барвника і затіняють його. Цитоплазма більшості клітин густо запов-

нена темно-фіолетовими гранулами, внаслідок чого такі клітини мали інтенсивне синьо-фіолетове забарвлення. Водночас клітини з меншим вмістом гранул в цитоплазмі набували світло-фіолетового відтінку. У мазках рідко траплялися поодинокі двоядерні та гігантські мастоцити, а також, при великому збільшенні (у 400 разів), в цитограмах окремих пухлин виявлено поодинокі клітини у стані мітозу.

Для цитограм МСТs високого ступеня злоякісності (рис. 2) характерною була візуалізація в досліджуваних мазках атипичних 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 внутрішньоцитоплазматичні гранули відсутні взагалі.



**Рис. 2.** Цитограма мастоцитом з низьким ступенем злоякісності. Скупчення клітин однорідної структури. Мастоцити змішаної зернистості (більшість клітин сильно гранульовані і менша кількість менш гранульованих) з мінімальним анізокаріозом; За Романовським-Гімза. Ок.10, об.100



**Рис. 3.** Цитограма мастоцитом високого ступеня злоякісності. Мастоцити з невеликою кількістю внутрішньоцитоплазматичних 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

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.

На сьогодні відомо, що важливим прогностичним показником за встановлення діагнозу та оцінювання біологічної поведінки МСТs є виявлення метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах та внутрішніх органах. На підставі результатів досліджень (Krick et al., 2009; Weishaar et al., 2014) розроблено цитологічні критерії для діагностики лімфогенних метастазів. Низкою дослідників (Blackwood et al., 2012; Baginski et al., 2014; Christopher, 2018; Pizzoni et al., 2018; Moore et al., 2020) встановлено що метастазування в регіонарні лімфатичні вузли у собак із шкірною МСТs корелює із скороченням часу виживання та високим ризиком поширення у віддалені ділянки. У повідомленнях (Camus et al., 2016; Ferrari et al., 2018; Lapsley et al., 2020) акцентовано увагу на важливості виявлення метастазів на етапі доопераційного обстеження для проведення неoad'ювантної терапії а також лімфаденектомії. Вище вказаними дослідниками доведено, що лімфогенні метастази можуть виявлятися у нормальних, незбільшених за розмірами лімфатичних вузлах, тому тонко голкову біопсію потрібно проводити усіх регіонарних лімфовузлів, незалежно від того, збільшені вони чи ні.

За результатами наших досліджень встановлено кореляцію між клінічним проявом МСТs та даними цитології. За цитологічного оцінювання аспіратів регіонарних лімфатичних вузлів від семи собак поряд з лімфоїдними клітинами та нейтрофілами було виявлено скупчення атипичних 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 24 досліджуваних собак та цитологічної оцінки біопсійного матеріалу відібраного із пухлин і регіонарних лімфатичних вузлів мастоцитому низького ступеня злоякісності констатовано у 17 (70,8 %) тварин і у 7 (29,2 %) випадках неоплазії були охарактеризовані як високозлоякісні.

Отримані дані використано нами як для визначення межі 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 доступної наукової літератури показав, що більшість дослідників за класифікації ступеня злоякісності мастоцитом акцентують увагу в основному на характері морфологічних змін опасистих клітин і рідко надають інформацію щодо мікроструктури самої пухлини. Тому, за вивчення МСТs нами проведено цілісний аналіз виявлених змін на клітинному і тканинному рівні.

За мікроскопічного дослідження взірців шкірної мастоцитоми реєстровано дископлексацію структурної організації епідермісу і дерми. 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 новоутвореній пухлині не виявляються. Так звані сосочковий і сітчастий шари інфільтровані клітинами та численними новоутвореними артеріолами (рис. 4, 5).

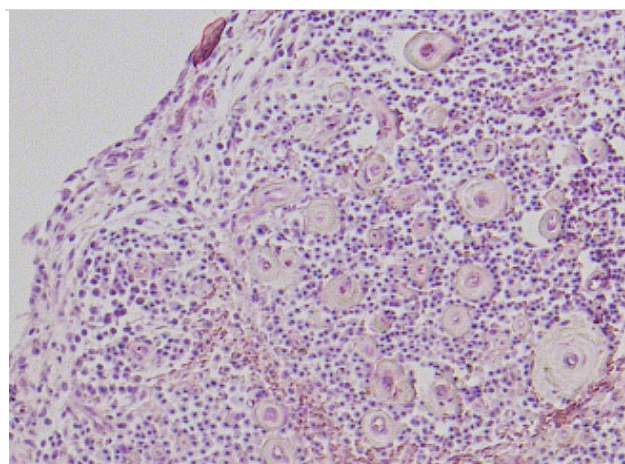


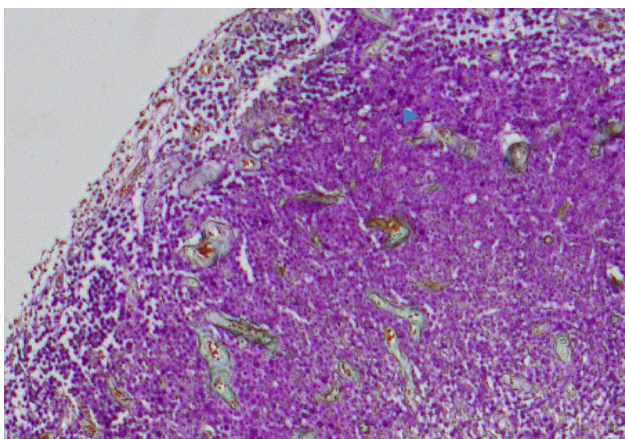
Рис. 4. Мастоцитома собаки. Порушення структурної організації епідермального шару та дерми. Клітинна інфільтрація дерми. Гематоксилін Ерліха та еозин. x 200

Трансформовані мастоцити заселяють всі можливі простори ураженої ними ділянки шкіри та проявляють виражений інфільтративний ріст. Темнофіолетові опасисті клітини більш інтенсивно проросли у сосочковий, а дещо менше – сітчастий шар дерми (рис. 5). Невеликі угруповання мастоцитів визначаються теж у зруйнованому епідермальному пласті, а також серед бузково забарвлених еластичних волокон.

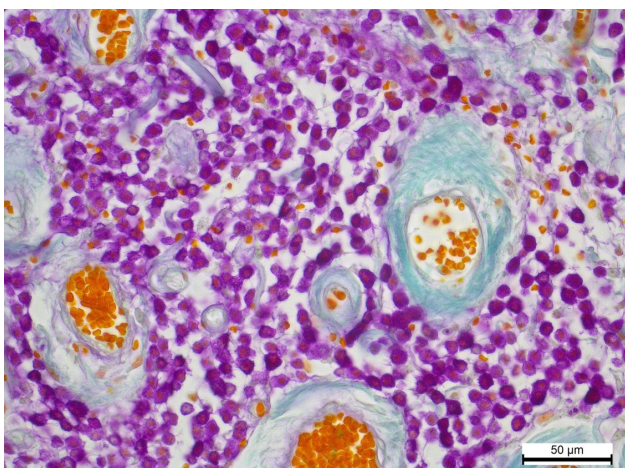
Результати морфологічних досліджень вказують, що пухлина утворена трансформованими мастоцитами характеризується вираженим інфільтративним ростом та активною васкуляризацією (рис. 6), за рахунок чисельних судин, різного калібру. Активне утворення значної кількості судин обумовлює очевидно інтенсивне живлення мастоцитів, їх зростаючу проліферативну здатність, що веде до збільшення новоутвору.

У стінці новоутворених судин візуалізувались чисельні колагенові волокна, що альдегід-фуксином за методом Габа-Дибана забарвлювались у зелений колір (рис. 5, 6). Стінка багатьох артеріол потовщена, про-

сочена плазмою крові. У більшості судин новоутворення структурна організація стінок частково порушена, з ознаками розвитку гіалінозу.



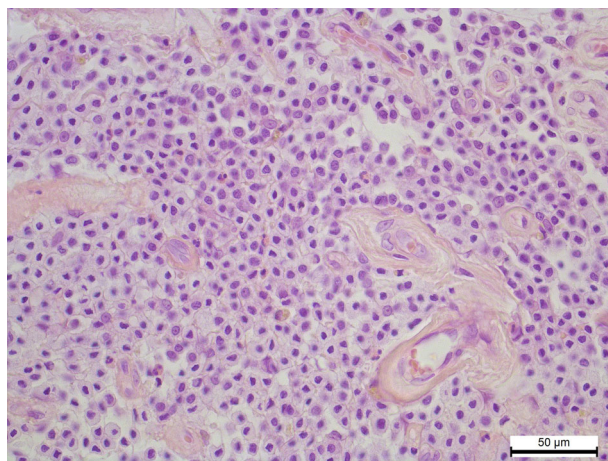
**Рис. 5.** Мастоцитома собаки. Чисельні мастоцити, що утворюють паренхіму новоутворення. Інфільтрація епідермісу і дерми мастоцитами. Альдегід-фуксин за методом Габа-Дибана. х 200



**Рис. 6.** Численні новоутворені судини переповнені еритроцитами. Стінка судин із вмістом кільцевидних та хаотично розташованих колагенових волокон. Колагенові волокна судин набухлі, місцями гомогенізовані. Альдегід-фуксин за методом Габа-Дибана. х 400

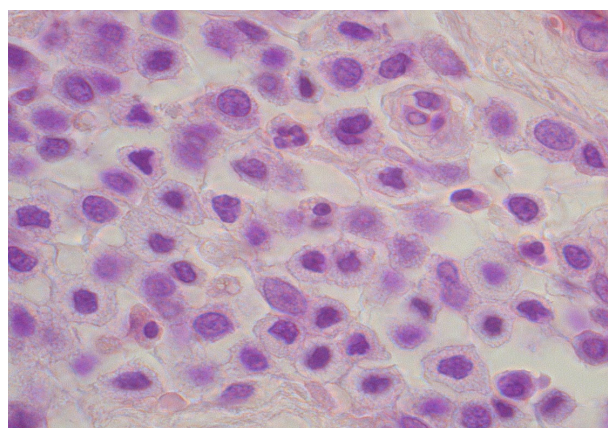
У перитуморальній зоні, а також у дермі, що оточує мастоцитому, судини розширені та переповнені еритроцитами, які розташовувались у декілька рядів, склеювались, формували фігури монетного стовпчика, що вказує на розвиток стазу. Окрім гіперемії, у перитуморальній зоні, також виявили помірний набряк, інфільтрацію 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. 7). Подекуди пласти мастоцитів були розділені тонкими сполучнотканинними прошарками.



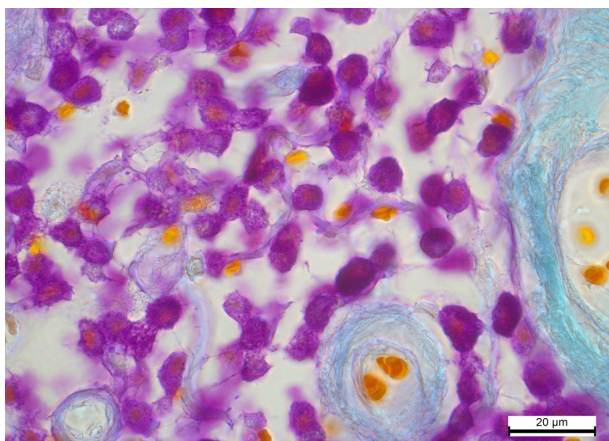
**Рис. 7.** Пласти мастоцитів, що утворюють паренхіму новоутворення. Плазматичне просякання стінок судин. Гематоксилін Ерліха та еозин. х 400

На препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином, клітини переважно полігональної форми (рис. 8). Межі між клітинами чіткі. Ядра пухлинних мастоцитів розташовувались в центрі клітини, 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 за методом Габа-Дибана базofilьна цитоплазма пухлинних мастоцитів заповнена округлими гранулами, які забарвлюються у фіолетово-синій колір (рис. 9). Трапляються поодинокі гігантські та двоядерні клітини. Число мітозів 0–2 в полі зору при великому збільшенні.



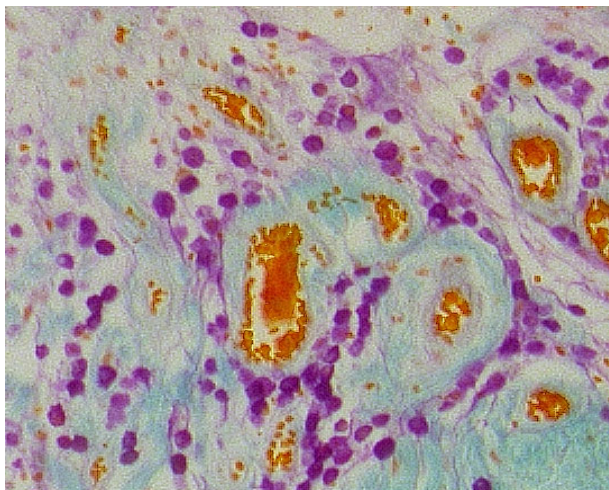
**Рис. 8.** Мастоцитома собаки. Мастоцити полігональної форми, з великим округлим, базofilьним ядром. Гематоксилін Ерліха та еозин. х 1000

В ході мікроскопічного дослідження ексцизійного матеріалу усі низькодиференційовані неоплазії було верифіковано, згідно класифікації Kiupel, як високозлоякісна мастоцитома. За гістологічного дослідження гістозрізів таких пухлин відмічена повна деструктуризація епідермісу і дерми.



**Рис. 9.** Мастоцитомма собаки. Дрібнофіолетові гранули в цитоплазмі трансформованих мастоцитів. Помірно виражений набряк стромы пухлини. Плазматичне просякання стінок новоутворених судин. Альдегід-фуксин за методом Габа-Дибана. x 1000

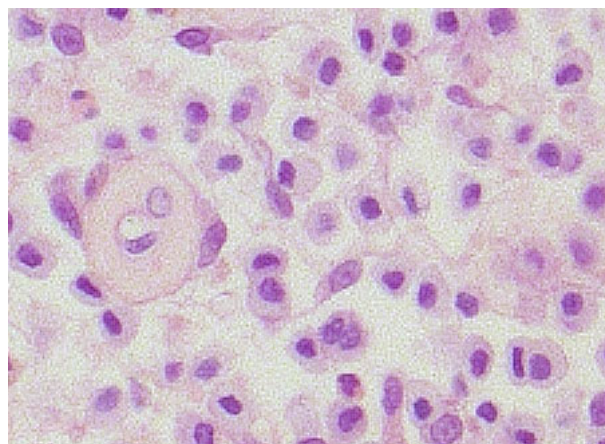
В епідермісі сосочковий та роговий шари не візуалізуються. Волосяні фолікули, потові та сальні залози в новоутвореній пухлині не виявляються. Строма колагенозна, з ділянками гіалінізації. Поліморфні мастоцити розташовані групами в фіброваскулярній стромі. Відзначалась значна васкуляризація пухлини із невпорядкованим розміщення чисельних судин (рис. 10). Кільцевидні утворення колагенових волокон стінок розшаровані, частіше гомогенізовані. При цьому просвіт в одних судинах помірно розширений і заповнений еритроцитами, в інших – різко звужений, трапляються облітеровані судини.



**Рис. 10.** Мастоцитомма собаки. Надмірна васкуляризація пухлини із сумбурним розміщенням судин. Розпушення колагенових волокон судини. Метод Габана-Дибана. x 200

Пухлинні клітини поліморфні, середнього розміру, розташовані щільними хаотичними скупченнями (рис. 11). Ядра округлі або неправильної форми із гіперхромним хроматином та одинокою нуклеолою. В одних мастоцитах ядра зменшені, деформовані, в інших клітинах – ядра соковиті, овальні. Цитоплазма

клітин з нечіткими контурами, цитоплазматичні гранули відсутні або виявляються в окремих клітинах. Віалізовано велику кількість двоядерних, багатоядерних і гігантських клітин. Число мітозів у полі зору більше 7 при великому збільшенні, встановлено у 5 собак.



**Рис. 11.** Мастоцитомма собак. Різні за розмірами хаотично розміщені мастоцити. Присутність двоядерних та багатоядерних клітин. Гематоксилін та еозин. x 1000

Отже, за результатами гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу відібраного під час хірургічної операції у 16 (66,7 %) собак верифіковано мастоцитому низького ступеня злоякісності і, відповідно, у 8 (33,3 %) тварин МСТs високого ступеня злоякісності (табл. 1). Згідно даних літератури про схожі результати гістологічної верифікації мастоцитом (67,1 % – низькозлоякісні і 32,9 % – високозлоякісні) повідомляють [Horta et al., 2018](#). Водночас [Cruz et al., 2020](#) у 56,67 % зразках мастоцитом встановили високо- і в 43,33 % – низькозлоякісні МСТs. За даними ([Śmiech et al., 2018](#)) серед собак уражених мастоцитомою у м. Люблін (Польща) низькозлоякісні неоплазії класифіковано у 75,8 % випадках і в 24,2 % високозлоякісні МСТs. Про подібні результати (74,46 % та, відповідно, 25,54 %) повідомляють [Hergt et al., 2016](#) і інші дослідники.

Як засвідчує порівняльний аналіз цитологічних та гістологічних досліджень в одному випадку нами отримано помилково негативний результат (а саме цитологічно встановлено низький ступінь, а гістологічно верифіковано високий ступінь неоплазії). При цьому відповідність між цитологічною і гістологічною оцінкою була досить високою – чутливість становила 87,5 % і специфічність 95,8 %. Про схожість отриманих даних повідомляють й інші дослідники. Зокрема результати досліджень ([Scarpa et al., 2016](#)) продемонстрували точність, 94 %; чутливість, 84,6 %; специфічність, 97,3 %, ([Camus et al., 2016](#)) – чутливість 88 %, специфічність 94 %, ([Hergt et al., 2016](#)) – чутливість 86,8 %, специфічність 97,1 %.



**Таблиця 1**

Клінічна та патоморфологічна класифікація досліджуваних МСТs (n = 24)

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

*Примітка:* H – мастоцитома низького ступеня злоякісності; B – мастоцитома високого ступеня злоякісності

Згідно повідомлення численних дослідників (Thompson et al., 2010; Garrett 2014; Stefanello et al., 2015; Hergt et al., 2017; Pierini et al., 2019) для визначення діагностичної точності за патоморфологічної оцінки мастоцитоми необхідно враховувати клінічну стадію неоплазії. Дане твердження підтверджується узагальненими результатами клінічної (TNM) та патоморфологічної класифікації (Kiupel) МСТs представленої у таблиці 1.

### Висновки

Згідно результатів порівняльного аналізу клінічних стадій та гістологічних ступенів шкірної мастоцитоми встановлено, пряму кореляцію між величиною пухлини та ступінню 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, ділянки пахвини, промежини, шиї).

*Перспективою подальших досліджень є вивчення прогностичних факторів щодо біологічної поведінки шкірної мастоцитоми, післяопераційної виживаємості собак та прогнозу.*

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

### References

Baginski, H., Davis, G., & Bastian, R. P. (2014). The prognostic value of lymph node metastasis with grade 2 MCTs in dogs: 55 cases (2001-2010). *J Am Anim Hosp Assoc.*, 50(2), 89–95. doi: 10.5326/JAAHA-MS-5997.

Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P. et al. (2012). European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet Comp Oncol*, 10(3), e1–e29. doi: 10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x.

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. *Vet Pathol.*, 53(6), 1117–1123. doi: 10.1177/0300985816638721.

Christopher, M. M., & Ku, C. K. (2018). Likelihood of Neoplasia for Diagnoses Modified by Probability Terms in Canine and Feline Lymph Node Cytology: How Probable Is Probable? *Front Vet Sci.*, 5, 246. doi: 10.3389/fvets.2018.00246.

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.

Dobson, J. M. (2013). Breed-predispositions to cancer in pedigree dogs. *ISRN Vet Sci.*, 2013, 941275. doi: 10.1155/2013/941275.

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.

Garrett, L. (2014). Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. *Vet Med (Auckl)*, 2014(5), 49–58. doi: 10.2147/VMRR.S41005.

Gieger, T. L., Theon, A. P., Werner, J. A., McEntee, M. C., Rassnick, K. M., & DeCock, H. E. V. (2003). Biologic behavior and prognostic factors for mast cell tumors of the canine muzzle: 24 Cases (1990-2001). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(5), 687–692. doi: 10.1892/0891-6640(2003)017<0687:BBAPFF>2.3.CO;2.

Goralskyj, L. P., Homych, V. T., & Kononskyj, O. I. (2005). The main base of histological techniques and morphological methods in normal and pathological conditions. Zhytomyr: “Polissja” (in Ukrainian).

- Grüntzig, K., Graf, R., Hässig, M., et al. (2015). The Swiss Canine Cancer Registry: a retrospective study on the occurrence of tumours in dogs in Switzerland from 1955 to 2008. *J Comp Pathol*, 152(2–3), 161–171. doi: 10.1016/j.jcpa.2015.02.005.
- 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.
- 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.
- Horta, R. S., Lavallo, 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. *Vet Pathol.*, 55(2), 212–223. doi: 10.1177/0300985817747325.
- Ivashkiv, B. B., Mysak, A. R., & Pritsak, V. V. (2020). Clinical characteristics of mastocytoma in dogs. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 22(98), 144–153. doi: 10.32718/nvlvet9825 (in Ukrainian).
- Kiupel, M., & Camus, M. (2019). Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, 49(5), 819–836. doi: 10.1016/j.cvsm.2019.04.002.
- 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., Neyens, I., O'Toole, D., Ramos-Vara, J., Scase, T. J., Schulman, F. Y., Sledge, D., Smedley, R. C., Smith, K., Snyder, P., Southorn, E., Stedman, N. L., Steficek, B. A., Stromberg, P. C., Valli, V. E., Weisbrode, S. E., Yager, J., Heller, J., & Miller, R. (2010). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Vet Pathol*, 48(1), 147–155. doi: 10.1177/0300985810386469.
- Krick, E. L., Billings, A. P., Shofer, F.S., Watanabe, S., & Sorenmo, K. U. (2009). Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. *Vet Comp Oncol.*, 7(2), 130–138. doi: 10.1111/j.1476-5829.2009.00185.x.
- Lapsley, J., Hayes, G., Janvier, V., Newman, A., Peters-Kennedy, J., Balkman, C., Sumner, J., & Johnson, P. (2020). 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. *Veterinary Surgery*, 50. doi: 10.1111/vsu.13537.
- London, C. A., & Seguin, B. (2003). Mast cell tumours in the dog. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, 33(3), 473–489. doi: 10.1016/S0195-5616(03)00003-2.
- London, C. A., & Thamm, D. H. (2013). Mast cell tumors. In *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology* (pp. 335–355). WB Saunders.
- Misdorp, W. (2004). Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *Veterinary Quarterly*, 26(4), 156–169. doi: 10.1080/01652176.2004.9695178.
- Moore, A. S., Frimberger, A. E., Taylor, D., & Sullivan, N. (2020). Retrospective outcome evaluation for dogs with surgically excised, solitary Kiupel high-grade, cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol.*, 18(3), 402–408. doi: 10.1111/vco.12565.
- Mullins, M. N., Dernel, 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). *J Am Vet Med Assoc*, 228(1), 91–95. doi: 10.2460/javma.228.1.91.
- 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.
- 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.
- Owen, L. N. (1980). *TNM Classification of Tumors in Domestic Animals*. Geneva: World Health Organization. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68618>.
- 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.
- 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. *Vet Sci.*, 6(2), 53. doi: 10.3390/vetsci6020053.
- Pizzoni, S., Sabattini, S., Stefanello, D., Dentini, A., Ferrari, R., Dacasto, M., Giantin, M., Laganga, P., Amati, M., Tortorella, G., & Marconato, L. (2017). Features and prognostic impact of distant metastases in 45 dogs with de novo stage IV cutaneous mast cell tumours: A prospective study. *Vet Comp Oncol.*, 16(1), 28–36. doi: 10.1111/vco.12306.
- Romansik, E.M., Reilly, C.M, Kass PH, Moore PF, London CA. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol.*, 44(3), 335–341. doi: 10.1354/vp.44-3-335.
- Sabattini, S., Scarpa, F., Berlato, D., & Bettini, G. (2015). Histologic grading of canine mast cell tumor: is 2 better than 3? *Vet Pathol*, 52(1), 70–73. doi: 10.1177/0300985814521638.

- Sapierzyński, R. (2018). Badanie histopatologiczne w onkologii weterynaryjnej. Część III. Guzy z komórek tucznych u psów *Życie Weterynaryjne*, 93(3), 169–174.
- Scarpa, F., Sabbatini, S., & Bettini, G. (2016). Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol.*, 14(3), 245–251. doi: 10.1111/vco.12090.
- Sfiligoi, G., Rassnick, K. M., Scarlett, J. M., Northrup, N. C., Gieger, T. L. (2005). Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990-2001). *J Am Vet Med Assoc.*, 226(8), 1368–1374. doi: 10.2460/javma.2005.226.1368.
- 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.
- 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.
- 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.
- Stefanello, D., Buracco, P., Sabbatini, 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). *J Am Vet Med Assoc.*, 246(7), 765–769. doi: 10.2460/javma.246.7.765.
- Tham, D. M., & Vail, D. M. (2007). Mast cell tumors. In: Withrow S.J. & Vail D.M. (Eds). *Small Animal Clinical Oncology*. St. Louis: Saunders Elsevier, 402–424.
- Thompson, J. J., Pearl, D. L., Yager, J. A., Best, S. J., Coomber, B. L., & Foster, R. A. (2010). Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. *Vet Pathol.*, 48(1), 156–168. doi: 10.1177/0300985810387446.
- Villamil, J. A., Henry, C. J., Bryan, J. N. et al. (2011). Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. *J Am Vet Med Assoc.*, 239(7), 960–965. doi: 10.2460/javma.239.7.960.
- Warland, J., Brioschi, V., Owen, L., & Dobson, J. (2015). Canine mast cell tumours: decision-making and treatment. *In Pract.*, 37(7), 315–332. doi: 10.1136/inp.h3440.
- Weishaar, K. M., Thamm, D. H., Worley, D. R., & Kamstock, D. A. (2014). Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. *J Comp Pathol.*, 151(4), 329–338. doi: 10.1016/j.jcpa.2014.07.004.
- Welle, M. M., Rohrer Bley, C., Howard, J., & Rufenacht, 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.