

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

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**ПОРТЕНКО МАРТА ПАВЛІВНА**

**УДК: 619:616-091:591.86:636.1**

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ПАТОМОРФОЛОГІЯ РІЗНИХ ТИПІВ САРКОЇДУ КОНЕЙ**

21 – ветеринарія

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

\_\_\_\_\_ **М.П. Портенко**

Науковий керівник: Щербентовська Ольга Миколаївна, докторка ветеринарних наук, завідувачка навчально-дослідної лабораторії кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії, старший викладач Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

Львів – 2023

## АНОТАЦІЯ

**Портенко М.П. Патоморфологія різних типів саркоїду коней.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 – «Ветеринарія», за спеціальністю 211 – «Ветеринарна медицина». – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, 2023.

Дисертаційна робота присвячена вивченню клінічних проявів та патоморфологічній верифікації різних анатомічних типів саркоїду коней, починаючи від невеликих поодиноких уражень до множинних агресивних фібробластичних пухлин, які реєстрували у тварин із приватних господарств та конюшень Львівської, Тернопільської, Рівненської та Івано-Франківської областей України впродовж 2019–2023 років. Для вирішення наукового завдання використано комплекс методів: клінічні – встановлення локалізації пухлин, визначення їх форми, консистенції та величини; хірургічні – оперативне видалення новоутворень; статистичні; гістологічні – виявлення структурної організації різних типів саркоїду: фарбування гематоксилином та еозином, за Ван-Гізеном, резорцин-фуксином Вейгерта, азан за Гейденгайном; гістохімічні – виявлення локалізації сполучної тканини, колагенових та еластичних волокон: PAS-реакція, Гоморі (PAMS), альціановий синій за Сідменом; імуногістохімічні – для визначення типу білків цитоскелета, які переважають у саркоїді, та встановлення проліферативної активності: маркери Ki-67 та віментин; виготовлення напівтонких зрізів, зафарбованих метиленовим синім та з дофарбовуванням кислим фуксином; трансмісійна електронна мікроскопія – для вивчення ультраструктурної організації саркоїду; морфометричні – визначення індексу проліферації, об'єму ядра та ядерця, ядерно-ядерцевого співвідношення; статистичні – встановлення вірогідності результатів досліджень.

За результатами ретроспективних досліджень встановлено, що на території західних областей України найбільшу кількість випадків саркоїду коней фіксували у Львівській – 15,28 %, дещо менше у Рівненській – 14,06 % та Тернопільській

областях – 10,48 %, у відсотковому відношенні до загальної кількості обстежених тварин найменше у Івано-Франківській – 9,63 %. Найпоширенішим типом саркоїду був плоский (32 %), верукозний (24,08 %), фібробластичний (20,7 %), змішаний (14,02 %), нодулярний (8,5 %) та злоякісний (0,6 %). Розміри саркоїду варіювали від маленьких – 2 см (найчастіше плоский) до 5 см (плоский, нодулярний і змішаний) та більше 5 см (верукозний, фібробластичний, змішаний, злоякісний), що залежало від місця локалізації та ділянок найбільшого чи найменшого травматизму.

За макроскопічними ознаками досліджувані саркоїди поділяли на 6 клініко-анатомічних типів: плоский (прихований), нодулярний (вузликівий), верукозний, фібробластичний, змішаний та злоякісний. Загалом було досліджено 2552 коней, із яких у 328 тварин клінічно діагностували саркоїд. Новоутворення локалізувалися в різних анатомічних ділянках тіла та належали до різних типів. Найбільше множинних вогнищевих саркоїдних пухлин локалізувалося на грудній стінці (26,5 %), черевній стінці та в паху (51 %). Типовою морфологічною ознакою всіх типів саркоїду була депігментація та гіперкератоз уражених ділянок. Клінічно плоский (прихований) саркоїд характеризувався ураженням поверхневих шарів шкіри з чітко обмеженими ділянками алопецій. Нодулярний тип саркоїду проявлявся у вигляді рухомих сферичних підшкірних вузликів невеликих розмірів, що, зазвичай, локалізувалися в ділянці паху, бічної черевної стінки, внутрішнього боку стегон та повік. Верукозний тип саркоїду здебільшого розміщувався в ділянках шиї та паху з утворенням значних за розмірами потовщень шкіри неправильної форми, які характеризувалися пошкодженням глибоких шарів дерми. Одним із найбільш агресивних саркоїдів коней був фібробластичний тип з утворенням переважно масивних новоутворень на ніжці з виразковою поверхнею. Змішаний саркоїд об'єднував у собі верукозний, фібробластичний і нодулярний тип із переважанням ознак того чи іншого типу пухлини.

Поєднуючи гістологічні та гістохімічні методи досліджень саркоїду, встановили характерні ураження епідермісу та дерми. Здебільшого, епідерміс був у стані гіперкератозу та акантозу. Межі між сосочковим та сітчастим шаром дерми

не візуалізувалися. Субдермально та інтрадермально відзначали хаотичне розміщення колагенових волокон, які утворювали значну кількість щільних завитків – муарових структур, які розміщувалися навколо судин різного калібру. У різних типах саркоїду інтрадермально відзначали васкуляризацію від помірної до інтенсивної. Судини розширені, васкуляризація значна, анізокаріоз та анізоцитоз туморозних елементів виражений помірно. Ріст новоутворення, зазвичай, інфільтративно-інвазивний. Фібробласти та фіброцити з гіперхромними ядрами локалізувалися здебільшого в глибоких шарах дерми. Відзначали як типові, так і нетипові мітотичні фігури, поряд з амітозом.

Наявність у саркоїді значної кількості поліцукоридів та глікопротеїдів у колагені III типу підтверджувалася інтенсивною PAS-реакцією. У глибоких шарах туморозної тканини ми відзначали меншу інтенсивність забарвлення з реактивом Шифа. Зменшення кількості аргірофільних волокон зумовлене формуванням у глибоких шарах новоутворення колагену I типу з повним заміщенням та трансформацією колагену III типу. У поверхневих тканинах, навпаки, наявна велика кількість колагену III типу, що пов'язано з інтенсивним синтезом фібробластами незрілої сполучної тканини.

При забарвленні альціановим синім виявлено значну локалізацію кислих глікозаміногліканів та протеогліканів у перивазальних просторах, що може вказувати на важливу трофічну функцію кислих глікозаміногліканів, особливо їх іонообмінну активність як поліаніонів. Також відзначали незначну реакцію в туморозних елементах новоутворення.

Імуногістохімічно встановлено інтенсивну віментин-позитивну експресію клітин саркоїду, що підтверджувало їх мезодермальне походження. При виявленні у саркоїдах позитивних антитіл до маркера проліферації Ki-67 було відзначено значну кількість клітин, які були в G<sub>1</sub>- та S-фазах мітозу. Саме такі активно проліферуючі клітини новоутворення представляли «фракцію росту» пухлини. За результатами морфометричних досліджень встановлено, що у невеликих за розмірами прихованих саркоїдах кількість Ki-67+ клітин невелика і становила  $8,9 \pm 0,6$  %, мітотичний індекс дорівнював  $3,3 \pm 0,4$ . Розміщувалися Ki-67+ клітини

зазвичай хаотично в субдермальному та дермальному шарі новоутворення. При імуногістохімічному дослідженні верукозного типу саркоїду в коней виявляли достатньо високий рівень експресії Ki-67, що становив  $23,2 \pm 2,3$  %, мітотичний індекс –  $9,7 \pm 1,3$ . Це вказувало на високий ризик рецидиву та злоякісність новоутворення. Частка позитивних клітин Ki-67+ у фібробластичному саркоїді коней становила  $36,4 \pm 1,8$  %, а мітотичний індекс складав  $12,2 \pm 3,2$  %. Негативних випадків щодо експресії маркера проліферації у фібробластичних саркоїдах ми не виявили.

При вивченні морфологічної структури саркоїдів на напівтонких зрізах встановлено їх значну васкуляризацію з хаотичним розташуванням фібробластів і веретеноподібних фіброцитів. Основну масу саркоїду займали колагенові волокна, які при фарбуванні метиленовим синім із дофарбовуванням кислим фуксином забарвлювались у рожевий колір.

За результатами досліджень саркоїду із використанням методу трансмісійної електронної мікроскопії встановлено, що основний клітинний пул новоутворення представлений фібробластами різного ступеня диференціювання, переважно незрілими, із високою активністю, на що вказувала значна кількість розширених цистерн комплексу Гольджі, розвинута гранулярна ендоплазматична сітка та ядра зі значною кількістю інвагінацій, відкритих пор та міофіламентів у перинуклеарному та інтрацитоплазматичному просторі. Ядра фібробластів, здебільшого округлої неправильної форми, подекуди траплялися внутрішньоядерні сферичні електроннощільні утворення. Ядерця з вираженими фібрилярними центрами, електроннощільні. У колагеновому матриксі відзначали активний неоангіогенез, на що вказувала значна кількість капілярів з ендотеліоцитами, що містили псевдоподії на люмінальній частині цитоплазми та базальній поверхні. Це вказувало на їх ембріональний тип. Ендотеліоцити мали великі округлі ядра, в цитоплазмі – значну кількість мітохондрій, різну електронну щільність цитоплазми.

Крім того, встановлено високу тромбоцитарну активність, що проявлялась адгезією клітин до люмінальної частини цитоплазми ендотеліоцитів, що свідчить

про інтенсивний ангиогенез у туморозній тканині. Виявлена клітинна інфільтрація сегментоядерними нейтрофільними лейкоцитами також вказувала на імунну реактивність.

Результати роботи впроваджено в навчальну та науково-дослідну роботу кафедр закладів вищої освіти України, а саме: Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Білоцерківського національного аграрного університету, Сумського національного аграрного університету, Полтавського державного аграрного університету. На основі результатів досліджень господарствам, де утримуються коні, та приватним конюшням рекомендовано проводити діагностику новоутворень, моніторинг рецидивів, утримувати коней окремо від худоби та проводити комплекс заходів для боротьби з кровосисними комахами.

**Ключові слова:** коні, шкіра, саркоїд, вірус папіломи великої рогатої худоби (BPV), гіперкератоз, капіляри, колагенові волокна, муарові структури, фібробласти, фіброцити.

## ABSTRACT

**Portenko M.P. Pathomorphology of different types of equine sarcoids.** – Qualification scientific paper – manuscript.

Thesis to obtain the scientific degree of Philosophy Doctor in the knowledge field 21 – «Veterinary Science», specialization 211 – «Veterinary Medicine». – Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv, 2023.

The dissertation is dedicated to the study of clinical manifestations and pathomorphological verification of different anatomical types of equine sarcoids, ranging from small individual lesions to multiple aggressive fibroblastic tumors. These were recorded in horses from private farms and stables in the Lviv, Ternopil, Rivne, and Ivano-Frankivsk regions of Ukraine during 2019–2023. The following complex of methods was used to solve the scientific task: clinical – establishing the tumor localization, determining its shape, consistency and size; surgical – surgical neoplasm removal; statistical and histological – identifying the structural organization of different sarcoid types: hematoxylin and eosin staining, Van Gieson staining, Weigert's resorcin-fuchsin staining, Heidenhain's azan staining; histochemical – detecting the connective tissue, collagen and elastic fibers localization: PAS-reaction, Gomori method (PAMS), Steedman's Alcian blue staining; immunohistochemical – determining the type of cytoskeleton proteins prevailing in sarcoid and establishing proliferative activity: Ki-67 markers and vimentin; production of semi-thin sections stained with methylene blue and restained with acid fuchsin; transmission electron microscopy – studying the sarcoid's ultrastructural organization; morphometric – determining the proliferation index, the volume of the nucleus and nucleolus, the nucleus to nucleolus ratio; statistical – establishing the probability of research results.

According to the results of retrospective studies, it has been established that in the western regions of Ukraine, the highest number of equine sarcoid cases relative to the total number of examined animals was recorded in the Lviv region, somewhat fewer in the Rivne and Ternopil regions, and the lowest percentage appeared to be in the Ivano-Frankivsk region. The most prevalent type of sarcoid was flat (32 %),

verrucous (24.08 %), fibroblastic (20.7 %), and mixed one (14.02 %). The sarcoid size varied from small (2 cm; most commonly flat sarcoid), to medium (5 cm; flat, nodular, and mixed sarcoid), and large (more than 5 cm; verrucous, fibroblastic, mixed, and malignant sarcoid). The size depended on the localization and areas of the highest or lowest trauma impact.

By macroscopic characteristics, the examined sarcoids were classified into six clinic-anatomical types: occult, nodular, verrucous, fibroblastic, mixed, and malignant. In total, 2552 horses were investigated, and sarcoids were clinically diagnosed in 328 animals. The neoplasms were localized in various anatomical areas and belonged to different types. The smallest number of neoplasms was found in the head area around the eyes in the form of isolated nodules (2.3 %), on the neck (5.4 %), and on the limbs (14.8 %). Multiple focal sarcoid tumors were localized in the chest area (26.5 %) and in the abdominal wall and groin area (51 %). Depigmentation and hyperkeratosis of the affected areas were typical morphological features of all sarcoid types. Clinically, occult sarcoid was characterized by the involvement of the skin superficial layers with clearly defined areas of alopecia. The nodular sarcoid manifested itself as mobile spherical subcutaneous nodules of small size, usually localized in the groin, lateral abdominal wall, inner thighs, and eyelids. The verrucous sarcoid, to a greater extent, was located in the neck and groin areas with the formation of irregularly shaped, significantly thickened skin lesions characterized by damage to the deep dermis layers. Fibroblastic sarcoid was the most aggressive one, with the formation of mostly massive neoplasms on the limb with an ulcerated surface. The mixed sarcoid combined verrucous, fibroblastic, and nodular types with a predominance of features of one or another tumor type.

Combining histological and histochemical methods of sarcoid research, characteristic lesions of the epidermis and dermis were revealed. Typically, the epidermis was in a state of hyperkeratosis and acanthosis. The boundaries between the papillary and reticular layers of the dermis were not visualized. Subdermally and intradermally, chaotic arrangements of collagen fibers were noted, that formed numerous dense bundles, i.e. moire structures, located around vessels of various calibers. In different sarcoid types, intradermally, vascularization ranging from moderate to intense was observed. Vessels



were dilated, and vascularization was significant, with moderate expression of anisocariosis and anisocytosis of tumor cells. The growth of the neoplasm was usually infiltrative and invasive. Fibroblasts and fibrocytes with hyperchromatic nuclei were mainly located in the deep layers of the dermis. Both typical and atypical mitotic figures were observed, along with amitosis.

Intense PAS reaction confirmed a significant amount of polysaccharides and glycoproteins in the sarcoid's type III collagen. In the tumor tissue's deep layers, we observed lower intensity of staining with Schiff's reagent. The reduction in the number of argyrophilic fibers was attributed to the formation of type I collagen in the neoplasm's deep layers, with complete replacement and transformation of type III collagen. In contrast, there was a large amount of type III collagen in the superficial tissues, associated with the intense synthesis of immature connective tissue by fibroblasts.

Alcian blue staining revealed significant localization of acidic glycosaminoglycans and proteoglycans in the perivascular spaces, indicating an important trophic function of acidic glycosaminoglycans, especially their ion-exchange activity as polyanions. A slight reaction was also noted in the neoplasm's tumor cells.

Immunohistochemically, intense vimentin-positive expression in sarcoid cells was observed, confirming their mesodermal origin. When antibodies to Ki-67 were detected in sarcoids, a significant number of cells in the G1 and S phases of mitosis were noted. These actively proliferating cells represented the "growth fraction" of the tumor. Morphometric studies revealed that in small occult sarcoids, the number of Ki-67+ cells was low, accounting for  $8.9 \pm 0.6$  %, with a mitotic index of  $3.3 \pm 0.4$ . Ki-67+ cells were typically distributed chaotically in the subdermal and dermal layers of the neoplasm. The immunohistochemical examination of verrucous sarcoid revealed a relatively high level of Ki-67 expression, reaching  $23.2 \pm 2.3$  %, with a mitotic index of  $9.7 \pm 1.3$ , indicating a high risk of recurrence and neoplasm malignancy. The proportion of positive Ki-67 cells in fibroblastic sarcoids was  $36.4 \pm 1.8$ %, with a mitotic index of  $12.2 \pm 3.2$  %. No cases of negative Ki-67 expression were found in fibroblastic sarcoids.

Studying the morphological structure of sarcoids in semi-thin sections, a significant vascularity was observed, with the fibroblasts and spindle-shaped fibrocytes arranged

chaotically. Collagen fibers accounted for the main mass of the sarcoid, which appeared in pink color, when stained with methylene blue and counterstained with acid fuchsin.

Based on the results of sarcoid studies using transmission electron microscopy, it was determined the main cellular component of the neoplasm consists of fibroblasts at various differentiation stages, predominantly immature, with high activity. This was indicated by a significant number of expanded cisterns in the Golgi complex, well-developed granular endoplasmic reticulum, and nuclei with numerous invaginations, open pores, and myofilaments in the perinuclear and intracytoplasmic space. The fibroblast nuclei, mostly of irregularly round shape, occasionally contained intranuclear spherical electron-dense formations. The nucleoli had well-defined fibrillar centers and were electron-dense. In the collagenous matrix, active neoangiogenesis was observed, indicated by a significant number of capillaries with endotheliocytes containing pseudopodia on the cytoplasm's luminal part and the basal surface, suggesting their embryonic type. Endotheliocytes had large round nuclei, a significant number of mitochondria in the cytoplasm, and varied electron density.

Additionally, a high platelet activity was identified, manifested by cell adhesion to the endotheliocyte cytoplasm's luminal part, indicating intense angiogenesis in the tumor tissue. The observed cellular infiltration by segmented neutrophilic leukocytes also indicates immune reactivity.

The research results were implemented in the educational and research work of the higher education establishments in Ukraine, namely: Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv, National Agrarian University in Bila Tserkva and National Agrarian University in Sumy. Based on the research results, farms and private stables where horses are kept were recommended to diagnose neoplasms, monitor relapses, keep horses separately from livestock, and carry out a set of measures to combat blood-sucking insects.

**Key words:** horses, skin, sarcoid, bovine papillomavirus (BPV), hyperkeratosis, capillaries, collagen fibers, moire structures, fibroblasts, fibrocytes.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

*Наукові праці, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації.*

*Статті, опубліковані у фаховому науковому виданні міжнародної наукометричної бази даних Scopus та Web of Science:*

1. **Portenko, M., & Shchebentovska, O.** (2022). Patho-histological features of fibroblastic sarcoid in horses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(4), 393–399. doi:10.15421/022252. *(Здобувачка провела клінічний огляд коней, відібрала матеріал для гістологічних досліджень, підготувала матеріал до друку).*
2. **Portenko, M., Shchebentovska, O., Blishch, H.** (2023). Histological and immunohistochemical changes in equine sarcoids. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(2), 325–331. doi:10.15421/022348. *(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготувала матеріали до друку).*
3. **Portenko, M., Shchebentovska, O., Kostyniuk, A.** (2023). Electron microscopic changes in fibroblastic sarcoid in horses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(3), 516–521. doi: 10.15421/022374. *(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих даних, підготувала статтю до друку).*

*Статті у фахових наукових виданнях України:*

4. **Портенко М., Щебентовська О.** (2023). Клініко-анатомічна верифікація та моніторинг різних типів саркоїду у Західних областях України. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 25 (109), 114–124. doi.:10.32718/nvlvet10918. *(Здобувачка провела ретроспективні дослідження, аналіз літературних даних, інтерпретацію отриманих результатів, підготувала матеріали до друку).*

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.*

*Тези наукових доповідей:*

5. Портенко М. П. (2022). Патогістологічна характеристика фібробластичного типу саркоїду коней. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти»*. Житомир, 98–101.

6. Портенко М. П. (2023). Саркоїд коней. Клінічні особливості та їх морфологічна характеристика. *Збірник матеріалів Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», присвяченої 100-річному ювілею ректора Степана Васильовича Стояновського*. Львів, 56–57.

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА.....	11
ЗМІСТ.....	13
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	15
ВСТУП.....	16
РОЗДІЛ 1	
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	23
1.1. Етіологія саркоїду та роль бичачого папіломавірусу (BPV) в індукції даного новоутворення коней.....	23
1.2. Фактори, що впливають на передачу та поширення саркоїду.....	29
1.3. Коротка характеристика типів саркоїду коней.....	31
1.4. Сучасні погляди на терапію саркоїду.....	34
1.5. Висновок з огляду літератури.....	36
РОЗДІЛ 2	
ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	
ВИКОНАННЯ РОБОТИ.....	38
2.1. Вибір напрямів досліджень.....	38
2.2. Об'єкти дослідження, місце проведення досліджень.....	38
2.3. Методи проведення досліджень.....	40
2.3.1. Гістологічні методи дослідження.....	40
2.3.1.1. Фарбування пікрофуксином за Ван-Гізеном.....	41
2.3.1.2. Фарбування резорцин-фуксином Вейгерта та карміном Орта.....	41
2.3.1.3. Азановий метод фарбування за Гейденгайном.....	42
2.3.2. Гістохімічні методи дослідження.....	43
2.3.2.1. Методика фарбування за Мак-Манусом (PAS-реакція).....	43
2.3.2.2. Методика фарбування за Гоморі (PAMS).....	43
2.3.2.3. Метод виявлення кислих глікозаміногліканів за Стідменом.....	44
2.3.3. Метод електронно-мікроскопічного дослідження.....	44

2.3.4. Імуногістохімічні дослідження.....	45
2.3.5. Статистичне опрацювання результатів та матеріальне забезпечення морфометричних досліджень .....	46
РОЗДІЛ 3	
РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	47
3.1. Моніторинг поширення саркоїду коней у західних областях України....	47
3.2. Клінічні ознаки та макроскопічна характеристика різних типів саркоїду коней.....	52
3.3. Гістологічна характеристика різних типів саркоїду коней.....	66
3.4. Гістохімічна характеристика фібробластичного типу саркоїду.....	83
3.5. Застосування методу напівтонких зрізів для вивчення тонкої структурної організації фібробластичного типу саркоїду.....	93
3.6. Імуногістохімічне типізування саркоїду коней.....	98
3.7. Електронно-мікроскопічне дослідження фібробластичного типу саркоїду коней.....	104
3.8. Висновки до розділу 3.....	115
РОЗДІЛ 4	
УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	118
ВИСНОВКИ.....	127
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	130
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	131
ДОДАТКИ.....	146

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

BPV – бичачий папіломавірус

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

РНК – рибонуклеїнова кислота

EcPV – вірус папіломи коней

КСК – кінноспортивний клуб

УВП – українська верхова порода коней

## ВСТУП

Упродовж останніх десяти років в Україні стрімко розвивається приватне конярство, набув популярності кінний туризм та спорт. Приватних коней почали використовувати з метою лікування дітей із захворюваннями опорно-рухового апарату, гіподинамії та розладів нервової системи (іпотерапія). Із збільшенням популяції коней виникають і різні захворювання, частину з яких становить онкологічна патологія [85]. Шкірні захворювання у коней, зазвичай, становлять серйозну проблему, що обмежує їх використання у професійному спорті.

Аналізуючи світову літературу, можемо зробити висновок: упродовж багатьох років і до сьогодні проблемним питанням у дерматології є саркоїд коней, діапазон захворюваності на який коливається в межах від 12 % до 67 % усіх новоутворень шкіри [9, 24, 71, 77, 80, 107]. Проте, багато аспектів біології саркоїду в коней залишаються незрозумілими. В Україні взагалі відсутня будь-яка інформація про саркоїд, його поширення, методи лікування, хоча кількість коней стрімко зростає. Поки не буде знайдено відповідь на питання щодо точної діагностики цих новоутворень у коней, доти це питання буде залишатись актуальним.

Зазвичай ріст пухлин у коней відмічають у віці від 2 до 9 років, найчастіше уражається черевна, грудна частини тіла та голова, рідше кінцівки. Згідно з літературними даними, ці фібробластичні новоутворення шкіри не метастазують, але мають різноманітні клінічні прояви, починаючи від агресивного інфільтративного росту до «спонтанної» регресії [66, 106]. Як зазначають деякі автори [95], клінічні прояви саркоїду дещо варіюють у різних порід однокопитних і навіть у однієї тварини кількість новоутворень може коливатися від одного до кількох уражень. Саркоїд здатний залишатися стабільним упродовж років або проявляти швидкий і агресивний ріст з інфільтрацією навколишніх тканин [77, 107]. Причина таких відмінностей поки невідома, проте клініцисти не рекомендують проводити біопсію при підозрі на саркоїд, аргументуючи саме властивістю саркоїду перероджуватися у клінічно агресивніший тип.



Незважаючи на прогрес у вивченні молекулярно-генетичного походження саркоїду коней, у світі до сьогодні не виділено жодного універсального лікування цих новоутворень. Зазвичай лікарі проводять хірургічне висікання, кріотерапію, висікання лазером, застосовують імунотерапію, гіпертермію та хіміотерапію. Проте рецидиви трапляються достатньо часто. Поодинокі пухлини мають кращий прогноз, аніж множинні, але жоден підхід до терапії не виявився універсально успішним [9, 39, 59]. Більшість наявних методів лікування були ефективними тільки для одного конкретного типу пухлини. Таким чином, з вищезазначеної інформації можна зробити висновок, що саркоїд – це пухлина, яка зазвичай має низьку здатність до метастазування, але високу ймовірність до рецидиву після лікування або видалення.

Імунотерапія та лікування також не показали очікуваних результатів, оскільки новоутворення часто виявляли локально агресивний ріст, були великих розмірів, з множинними ураженнями, і через локалізацію у важкодоступних місцях ускладнювали процес їх видалення. Однією із причин дискваліфікації дорогих спортивних коней на змаганнях було саме естетичне (погіршувало екстер'єр) та анатомічне розташування цього новоутворення (заважало повноцінно виконувати вправи). Іноді коней навіть доводилось евтаназувати через неефективність лікування, функціональні порушення, чисельні пухлини та фінансові витрати, пов'язані з операційним та післяопераційним доглядом.

Не менш важливою проблемою при новоутвореннях шкіри в коней є їх своєчасна діагностика. До сьогодні морфологічна діагностика саркоїду вважається непростю, адже, як вже зазначалось, кількаразові маніпуляції при проведенні біопсії можуть викликати запальні реакції, які маскують класичний прояв саркоїду, провокувати швидкий ріст і метастазування пухлини. Крім того, слід пам'ятати про інші новоутворення у коней, які морфологічно схожі на саркоїд – це фібросаркоми, фіброми, а також надмірне утворення грануляційної тканини.

Найінформативнішим методом виявлення злоякісної трансформації саркоїду є гістологічна верифікація. Саме тому невирішеним питанням залишається вибір

методу інцизії шкіри у коней, який би гарантував максимальну безпеку та безрецидивний перебіг патології.

На жаль, в Україні не приділяють уваги вивченню саркоїду, відсутні будь-які повідомлення про клінічні типи та патогістологічні зміни. Не вивчають дане захворювання й у ЗВО при підготовці лікарів та магістрів ветеринарної медицини.

Базуючись на фактичному матеріалі, який був отриманий у процесі виконання наукового дослідження, ми розробили покроковий алгоритм роботи з кіньми, у яких первинно діагностували саркоїд, що передбачав клінічний огляд і спостереження за невеликими пухлинами та хірургічне видалення масивних новоутворень з наступним патогістологічним дослідженням.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є частиною наукової тематики кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, зокрема: «Патоморфологічні зміни в органах і тканинах різних видів тварин та їх діагностичне значення при онкологічних, заразних і незаразних хворобах та за впливу лікарських препаратів» (номер державної реєстрації – 0121U109866).

**Мета роботи** – вивчити поширення, обґрунтувати інформативність діагностики саркоїду, встановити особливості клініко-морфологічних проявів різних типів саркоїду коней. Для досягнення поставленої мети визначено такі **завдання:**

- провести ретроспективні дослідження щодо поширення саркоїду в коней у Львівській, Івано-Франківській, Тернопільській та Рівненській областях України, визначити вплив різних ендогенних та екзогенних факторів, які впливають на розвиток неоплазій;

- визначити найбільш типову локалізацію саркоїду в коней залежно від його клінічного типу;

- провести верифікацію різних типів саркоїду в коней за його клінічними проявами;

- встановити морфологічні особливості найбільш злоякісного типу саркоїду, використовуючи гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні методи дослідження;

- вивчити ультраструктурні зміни за найбільш злоякісного типу саркоїду.

*Об'єкт дослідження:* встановлення морфологічної організації та ультраструктурних особливостей різних типів саркоїду в коней.

*Предмет дослідження:* поширення, клінічний перебіг, макроскопічні, патогістологічні, імуногістохімічні та ультраструктурні зміни за різних типів саркоїду в коней.

**Методи дослідження:** клінічні – встановлення локалізації пухлин, визначення її форми, консистенції та величини; хірургічні – оперативне видалення новоутворень; статистичні; гістологічні – виявлення структурної організації різних типів саркоїду: фарбування гематоксиліном та еозином, за Ван-Гізоном, резорцин-фуксином Вейгерта, азан за Гейденгайном; гістохімічні – виявлення локалізації сполучної тканини, колагенових та еластичних волокон: PAS-реакція, Гоморі (PAMS), альціановий синій за Сідменом; імуногістохімічні – для визначення типу білків цитоскелета, які переважають у саркоїді, та встановлення проліферативної активності: маркери Ki-67 та віментин; виготовлення напівтонких зрізів, зафарбованих метиленовим синім та з дофарбовуванням кислим фуксином; трансмісійна електронна мікроскопія – для вивчення ультраструктурної організації саркоїду; морфометричні – визначення індексу проліферації, об'єму ядра та ядерця, ядерно-ядерцевого співвідношення; статистичні – встановлення вірогідності результатів досліджень.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше в Україні проведено ретроспективний аналіз поширення саркоїду в коней у західних областях України (Львівській, Івано-Франківській, Тернопільській та Рівненській областях), встановлено його різні клініко-анатомічні типи, а саме: плоский, нодулярний, верукозний, фібробластичний, змішаний та злоякісний саркоїди, проведено їх морфологічну верифікацію. Із використанням гістологічних та гістохімічних методів визначено основні морфологічні структури саркоїду. За допомогою

трансмисійної електронної мікроскопії вивчено ультраструктурну будову саркоїду, вперше охарактеризовано організацію найбільш злоякісного фібробластичного типу саркоїду, в якому виявлено значне переважання фібробластичного ряду клітин, розвиток розгалуженої системи гемокапілярів венозного типу із яскраво вираженим ангиогенезом. Встановлено значний цитоскелет клітин із чисельними міофіламентами в ендотеліоцитах та фібробластих. Доведено, що весь клітинний пул локалізувався серед масивної строми, що складалася з колагенових волокон різного типу. У складі фібрилярного компоненту нам не вдалося виявити еластичних волокон. Доведено, що морфологію саркоїду формують грубі колагенові волокна I типу, які утворюють дифузні муарові структури із фібробластів та фіброцитів.

Теоретично обґрунтовано інформативність застосування імуногістохімічних методів типізування білків цитоскелета, які переважали у саркоїді. Встановлено, що фібробласти при саркоїді інтенсивно експресують віментин, що підтверджує його мезодермальне походження. Визначено їх проліферативну активність за допомогою маркера Ki-67. Обґрунтовано доцільність хірургічного видалення масивних новоутворень, що знижує кількість випадків рецидивів патології.

**Практичне значення отриманих результатів.** Обґрунтовано доцільність використання комплексу гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методів для верифікації саркоїду коней. Доведено, що різні клініко-анатомічні форми прояву саркоїду на гістологічному рівні побудовані з клітин фібробластичного ряду та різняться виключно кількістю стромальних елементів та інвазивністю росту.

Отримані результати дали можливість чітко диференціювати фібробластичні новоутворення в коней, а в поєднанні з імуногістохімічними методами їх точно, безпомилково верифікувати. Результати досліджень, які висвітлені в дисертаційній роботі, використовуються лікарями ветеринарної медицини в приватних та державних конюшнях, а саме: КЗ ДЮСШ «Буревісник», КСК «Срібна підкова», КСК «Вікторія».

Результати досліджень використовуються у навчальному процесі при викладанні дисципліни «Патологічна анатомія та розтин» на факультеті ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Білоцерківського національного аграрного університету та Сумського національного аграрного університету. Можуть бути використані при написанні підручників, монографій з ветеринарної онкології.

**Особистий внесок здобувача.** Авторка особисто опрацювала літературні джерела, провела клінічний огляд коней, оперативне втручання при видаленні новоутворень, фіксацію та гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні дослідження, оформила ілюстративно-наочні матеріали. Опрацювання отриманих результатів та їх аналіз, статистичну обробку та формування висновків проводила спільно з науковим керівником. Відбір матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження, виготовлення та аналіз електроннограм проводила спільно з завідувачем лабораторії електронної мікроскопії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького О. О. Зайцевим.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати досліджень обговорювались та отримали загальне схвалення на щорічних звітах кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького (2019–2023 рр.), науково-технічній раді ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького (2019–2023 рр.), а також на: науково-практичній конференції, присвяченій 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти» (Житомир, 2022), Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», присвяченій 100-річному ювілею ректора Степана Васильовича Стояновського (Львів, 2023).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 6 наукових праць, у тому числі 3 у фаховому науковому виданні міжнародної наукометричної бази даних Scopus та Web of Science, 1 стаття у науковому фаховому виданні України та 2 тезах наукових доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Основний зміст роботи викладено на 153 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація складається із анотації, вступу, огляду літератури, вибору напрямів досліджень, матеріалів та методів, результатів власних досліджень, узагальнення та обговорення результатів досліджень, висновків та пропозицій виробництву. Робота ілюстрована 98 рисунками та 6 таблицями. Список використаних літературних джерел містить 135 найменувань (132 латиницею).

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Етіологія саркоїду та роль бичачого папіломавірусу (BPV) в індукції даного новоутворення коней

Саркоїдні пухлини вперше були описані та охарактеризовані як окрема клінічна одиниця Джексоном ще у 1936 році. Він визначив саркоїд як «унікальну локально-інвазивну, доброякісну неопластичну пухлину шкіри зі змінною формою епідермального компоненту та високою схильністю до рецидиву» [57]. На сучасному етапі упродовж майже двох десятиліть для вивчення саркоїду в однокопитних у світі застосовували методи молекулярної біології, які виявили, що бичачий папіломавірус (BPVs) або тісно пов'язані з ним віруси можуть бути причиною виникнення саркоїдних пухлин. Експерименти, проведені Олсоном та його колегами, продемонстрували, що внутрішньошкірна інокуляція коням екстракту пухлин шкіри великої рогатої худоби, що містила BPV, викликала ураження, які нагадували саркоїд як макроскопічно, так і гістологічно [77, 75, 91, 106]. Це було одним із найперших припущень щодо інфекційного походження даного новоутворення. Подальші дослідження Регланда та його співробітників підтвердили та розширили цю гіпотезу. Експериментальне зараження коней BPV спричиняло саркоїдоподібні ураження, які спонтанно регресували та призводили до вироблення антитіл до вірусу. Хоча у спонтанних випадках саркоїду в коней не завжди виявляли антитіла до BPV [6, 19, 20].

Окремі автори вважали, що віруси з сімейства BPV-1, рідше BPV-2 асоціювали з саркоїдом коней, індукуючи його [117]. BPV належать до родини *Papillomaviridae*, утворює невеликі ікосаедричні капсиди без оболонки діаметром від 50 до 60 нм, що містять один кільцевий дволанцюговий геном ДНК, розміром приблизно від 7,2 до 8,0 кб [135]. Геном BPV складається з 6 ранніх (E) і 2 пізніх (L) генів. Ранні гени кодують білки, які володіють здатністю до трансформації – E5, E6 і E7, а також білки, які регулюють їх реплікацію та транскрипцію – E1, E2 і E4 [21]. Пізня ділянка кодує структурні білки: L1, який утворює пентамери, що

називаються капсомерами, і L2, який з'являється в структурі капсиду як мономер [77]. Серед інших, E2, E5, E6 і E7 функціонують як основні онкобілки, стимулюючи розвиток саркоїду.

Одним із перших досліджень для виявлення фрагментів ДНК BPV у хворих коней використовували методи гібридизації ДНК [3, 4]. Крім того, наявність BPV-1 і BPV-2, а також BPV-13 було продемонстровано в кількох ПЛР дослідженнях тканин саркоїд-позитивних коней. Останнім часом результати гібридизації *in situ* показали присутність вірусної нуклеїнової кислоти у фібробластичних клітинах усіх досліджених випадках саркоїду коней (18 саркоїдів). Інші дослідження продемонстрували наявність BPV у більшості випадків саркоїду коней у діапазоні від 73% і до 95% [94, 117, 130]. Як зазначалось раніше, у коней BPV виявляли не тільки в саркоїдах, ДНК цього вірусу була присутня і в нормальній шкірі або несаркоїдних ураженнях. Проте, ДНК BPV не виявляли при плоскоклітинному раку шкіри, меланомі, папіломах у коней, але відмічали його присутність при окремих дерматитах [131]. Дослідження, проведені Gaunor et al. [31] з використанням гібридизації *in situ*, показали відсутність вірусної ДНК у несаркоїдних тканинах (гіперпластичних та неопластичних ураженнях). З іншого боку, Vogaert et al. [11] повідомили про наявність ДНК BPV у нормальній шкірі 24 із 42 коней (57%). Його виявляли, в основному, у коней, уражених саркоїдом, а також коней, які утримувалися в близькому контакті з великою рогатою худобою (73%). ДНК BPV також була виявлена у 50 % коней, які контактували з хворими на саркоїд, і в 30 % здорових коней, які не контактували з хворими тваринами. Інші дослідження Vogaert et al. показали, що всі розглянуті випадки шванном були позитивними на ДНК BPV. Крім того, роботи ряду науковців [19, 22] продемонстрували присутність ДНК BPV у 59 % пухлин нервових оболонок, 37 % фібросарком та 22 % інших пухлин (міксосарком, фібром та інших сарком). Таким чином, враховуючи вищеописані дослідження, можна стверджувати, що ДНК вірусу BPV тісно пов'язана з саркоїдом коней, проте траплялись і винятки. Однак, виявлення вірусу BPV не можна використовувати як єдиний індикатор саркоїду,



оскільки його присутність реєстрували і в інших ураженнях, навіть у нормальній шкірі.

Подальші молекулярно-генетичні дослідження показали також наявність мРНК і білків BPV у саркоїдах коней. РНК, що містила транскрипти як ранньої (E2, E5, E6, E7), так і пізньої (L1) фази BPV, була ідентифікована в саркоїдах коней. Однак Wilson et al. [126] помітили, що мРНК пізнього гена становила менше 0,3 % від транскрибованої РНК BPV. Gaunor et al. показав відсутність рибонуклеїнової кислоти BPV в епідермальних клітинах, навіть якщо вона була присутня в шарах фібробластів [31]. Вестерн-блот аналіз, імуногістохімія та імуофлуоресценція показали наявність білків E5, E7 і L1 в уражених тканинах. На відміну від Wilson [126], Vogaert et al. надали докази того, що білок пізньої фази L1 присутній не лише в біоптатах ураженої дерми, але й в епідермісі [12, 14]. Крім того, гіпотеза про наявність продуктивної вірусної інфекції BPV підтверджувалася виявленням 4 залишків білка L2 в ДНК BPV, виділеної від коней, що частково доводить існування відмінного кінського підтипу BPV-1.

Крім того, виділяли ДНК BPV-1 у мух, які перебували поблизу коней із саркоїдом, що може свідчити про їх безпосередню роль у перенесенні та розповсюдженні цього вірусу [119]. Проте, Derek C. Knottenbelt у своїх працях зазначав, що роль папіломавірусів у виникненні саркоїду залишається до кінця невизначеною, хоча велика частина цих новоутворень все ж таки містила генетичний матеріал, ідентичний або дуже подібний до того, що виявляли в деяких папіломавірусів [60, 61].

Спроби ідентифікувати частки вірусу BPV у природних (польових) випадках саркоїду коней, використовуючи метод електронної мікроскопії для виявлення вірусу, були безуспішними. Для більшості вчених це не стало несподіванкою, оскільки кінь не є природним господарем для BPV і не може підтримувати вегетативну частину життєвого циклу вірусу. Аналіз бичачих папілом, отриманих із різних анатомічних ділянок, дозволив сформувати шість різних типів BPV, які за морфологічними ознаками поділили на дві групи: перша група пов'язана з фібропапіломами, а друга – з папіломами. Вірус BPV, виявлений у фібропапіломах

(типи 1, 2 і 5), демонстрував різний ступінь гомології послідовності ДНК і був найчастішим типом, який виділяли у саркоїдах коней [35, 88, 89].

Angelos та його колеги встановили значну перевагу ДНК, подібну до BPV типу 1, у саркоїдних пухлинах коней Швейцарії та США. Лише в кількох саркоїдах ДНК BPV не виявилось, та не було жодних схем рестрикції, крім тих, що відповідають BPV-1 і BPV-2. Це свідчить про те, що молекулярні методи є важливими в діагностиці саркоїду [4, 35, 74, 87, 90].

Тут слід згадати, що у коней діагностують *Equus caballus papillomavirus* (EcPV), який поділяється на сім типів. Три основні клінічні синдроми зумовлені EcPV інфекцією – це шкірний папіломатоз, вушні бляшки і генітальна форма, включаючи плоскоклітинну карциному, але не саркоїд. Усе ж таки, після проведення великої кількості сучасних молекулярних експериментальних досліджень, вчені виділили основну етіологічну роль у виникненні саркоїду, яку пов'язують з бичачим дельтапапіломавірусом (BPV). Щодо передачі вірусу між тваринами, то до сьогодні ще немає єдиного твердження, проте ключову роль у передачі збудника залишають за комахами, які через укуси інкорпорують ДНК уражених клітин шкіри і спричиняють трансформацію їх у пухлинні. Сприятливим фактором розвитку саркоїду зазвичай є травматичні ушкодження, мікротравми, які утворюються від збруї або внаслідок ін'єкцій лікарських засобів та ускладнення при локальних операціях на шкірі [90, 128, 134].

Моніторингові дослідження, які проводились в Ірані, показують, що 38,4 % новоутворень шкіри в однокопитних складали фіброми, 34,8 % – саркоїд, 11,5 % – плоскоклітинні карциноми, 11,5 % – меланоми та 3,8 % – папіломи. При цьому 57,7 % уражень фіксували в ослів, а 34,6 % новоутворень у коней, з яких саркоїд становив 33,4 % [53]. Інші автори стверджують, що саркоїд складає від 12 до 67 % новоутворень у коней і 70 % усіх пухлин шкіри у коней [69, 121], тоді як плоскоклітинний рак становить до 37 % [115].

Jangir et al. [49] у своїх дослідженнях описували 16 уражень шкіри коней невеликих розмірів, які локалізувалися на повіках очей та різних частинах тіла. Гістопатологічно ці випадки були диференційовані як неопластичні (81,25 %) та

інші (18,75 %) стани. Серед них доброякісні пухлини становили (62,50 %) і включали міому (37,5 %), прихований саркоїд (12,5 %), фіброматоз (6,25 %) і фібропапілому (6,25 %), тоді як усі злоякісні пухлини (18,75 %) верифіковані як плоскоклітинний рак. Усі біоптати шкіри досліджували методом ПЛР на наявність ДНК BPV-1 і 2, за результатами яких виділено 31,25 % позитивних. Отже, можна погодитися з думкою вчених, що саркоїд є поширеною пухлиною шкіри у коней, індукованою папіломавірусом [1, 13, 42, 60]. Nasir & Reid продемонстрували, що в 95 % випадків саркоїдів, де BPV-ДНК виявляли за допомогою ПЛР, також була присутня експресія вірусних генів [86]. Carr et al. показали наявність білка BPV E5 в досліджених саркоїдах у коней [19]. Нещодавно генетично подібний BPV-13 був ідентифікований у саркоїдах коней в Бразилії [52]. За допомогою ряду молекулярних методів досліджень, включно з гібридизацією за Саузерном (Саузерн-блот) і полімеразною ланцюговою реакцією, BPV-ДНК виявляли від 86 до 100 % саркоїдів коней [4, 5, 76, 120, 94, 121].

Доволі висока частота інфікування BPV у зовні здорових коней, які жили у тісному контакті з великою рогатою худобою, ураженою папіломатозом, свідчать про передачу BPV між видами від великої рогатої худоби до однокопитних. У коней, які жили у прямому контакті з кіньми, ураженими саркоїдом, спостерігали 50 % латентної інфекції BPV [14, 87]. ДНК BPV-1 і -2 була виявлена в саркоїдах по всьому світу окремо або як змішана інфекція обох типів у одного коня [15, 56, 86, 121]. У Європі на BPV-1 припадає переважна більшість виявленої ДНК і лише невелика кількість саркоїдів, що містили BPV-2 [94]. Дослідження, проведені в Сполучених Штатах, показали, що BPV-1 і BPV-2 приблизно в однакових пропорціях поширені у його східній частині [120], тоді як BPV-2 переважає в його західній частині, представляючи 63 % ампліфікованої ДНК [19]. У західній Канаді саркоїди коней найчастіше асоціюються з BPV-2 [19, 128, 129]. Оскільки коні та велика рогата худоба найчастіше утримуються в спільних приміщеннях або випасаються на спільних пасовищах, потенційна можливість передачі між видами завжди буде існувати.

На відміну від BPV-інфекції великої рогатої худоби, де утворюються цілі вірусні частинки, у коней відбувається непродуктивна інфекція. Гіпотези про зараження коней включають прямий або непрямий контакт з іншими інфікованими кінями та великою рогатою худобою, а також передачу через комах [21, 109]. Як стверджують учені [18, 20, 37, 68, 78], одного лише контакту з вірусом недостатньо для проліферації пухлини. Важливу роль у проліферації новоутворень відіграють травми шкіри, знижений імунологічний статус та генетична схильність деяких порід коней. Існує теорія, що саркоїд може утворюватися в місцях хронічного локального пошкодження шкіри внаслідок фізичних травм, що сприяє активації латентної BPV-інфекції, патологічного загоєння рани та формування рубців, які можуть трансформувати у саркоїд [20, 32]. Цікаво, що присутність ДНК BPV також була зареєстрована в нормальній шкірі коней. Було виявлено, що вірус є транскрипційно активним у деяких випадках запальних уражень шкіри [12, 37, 133]. Більшість досліджень підтверджує здатність саркоїду до трансформації – від легкої форми до важкої, або перехід одного типу в інший з глибоким ураженням певних ділянок шкіри. Крім того, ветеринарні лікарі стверджують, що 30 % новоутворень рецидивує після профілактики чи лікування [57, 60]. Деякі гени BPV впливають на білки цитоскелета клітин господаря, що також може бути причиною міграції клітин саркоїду в навколишні шари ураженої тканини [108].

У 2011 році, приблизно через 50 років після перших експериментів з індукції саркоїду шляхом навмисного зараження, Hartl та інші підтвердили результати своїх попередників. Вони ввели 4 лошатам інфекційні віріони BPV-1, що викликало фазу віремії та утворення псевдосаркоїдів (саркоїдоподібних гранульом), але тільки в місцях інокуляції віріонів. В експерименті *in vitro* фібробласти піднебіння плода коней трансфікували ДНК BVP-1, а отримані клітини мали характерні ознаки саркоїду.

Вирішальну роль BPV у прогресуванні саркоїду може забезпечити захисний ефект вакцинації химерними вірусоподібними частинками. Імунізація коней частинками, подібними до вірусу папіломи BPV-1 L1, призводила до утворення антитіл, що нейтралізували BPV-1 і, як наслідок, забезпечували тривалий захист

від захворювання, спричиненого віріоном BPV-1. Подібні ефекти відзначали також у вакцинованих ослів, у яких вже клінічно виявляли саркоїд [28]. Тварини, що були імунізовані папіломавірусоподібними частинками, містили білки L1 і E7 BPV-1, показали тенденцію до посилення регресії пухлини та зниження прогресії. Такі експериментальні роботи дали надію, що проведення імунотерапії, спрямованої проти вірусу BPV у однокопитних із саркоїдом, дозволить згодом знизити ризики утворення нових пухлин.

## 1.2. Фактори, що впливають на передачу та поширення саркоїду

Як зазначалось у попередньому розділі, єдиної думки щодо механізмів передачі збудника та зараження коней вірусом BPV не визначено. Вважають, що одним із способів зараження є прямий контакт коней із великою рогатою худобою, яка є носієм BPV, або через укуси мух. Проте результати таких спостережень та досліджень є неоднозначними та непослідовними. Нещодавно, у 2018 році, Haspelslagh et al. провели серію цікавих експериментальних досліджень, у яких виявляли ДНК BPV у мух. Метою експерименту було встановити, чи BPV-негативні мухи (*Stomoxys calcitrans*) можуть стати позитивними на ДНК BPV після безпосереднього контакту з саркоїдом та тканиною папіломи великої рогатої худоби. Якщо так, то наскільки тривалим повинен бути контакт з новоутворенням. Загалом в експерименті було використано 420 мух, яких спіймали живими та заражали BPV-позитивною тканиною та саркоїдом коней. Щодня упродовж тижня збирали мертвих мух і визначали навантаження BPV за допомогою кількісного ПЛР дослідження. За результатами експерименту було встановлено значне збільшення BPV у мух, які контактували як із саркоїдом, так і з папіломами, але вірусне навантаження було вищим і залишалось високим протягом тривалішого часу після контакту з тканиною папіломи, порівняно з тканиною саркоїду. Протягом кількох днів вірусне навантаження знову зменшилося. Результати цих експериментів вказують на те, що передача BPV через *Stomoxys calcitrans* є можливим, проте зараження частіше відбувається після їх контакту з папіломами великої рогатої худоби, ніж із саркоїдом коней. Встановлено, що передача саркоїду

можлива виключно після швидкого контакту мух з кіньми. ДНК BPV-1 виявляли як у кусаючих, так і в некусяючих мух, які потрапили в клейку пастку, що розміщувалась поблизу тварин, уражених саркоїдом. Ці мухи містили варіанти BPV-1, який часто виявляли у саркоїдах коней. Це підтверджувало гіпотезу про мух, які дійсно є потенційними переносниками [32, 33, 36, 46].

Дослідження на ослах виявили більш високий ризик розвитку захворювання у тварин, які тісно контактували з хворими на саркоїд. Значних відмінностей між послідовностями ДНК BPV великої рогатої худоби та коней не виявлено. Це свідчить про те, що коні та корови є звичайними видами-хазяїнами для BPV1 і передача вірусу між цими видами є типовою. Можливо, в імунокомпетентних коней ефективна імунна відповідь може запобігти розвитку хвороби, тоді як у тварин із генетичною схильністю або зниженою стійкістю до BPV вона спричинює розвиток хвороби.

Regland et al. стверджували про зв'язок між саркоїдом коней і тривалою травмою шкіри, що могла забезпечувати прямий доступ BPV до субепідермальних фібробластів та призводила до їх інтенсивної проліферації. Такі прояви були рідкісними, проте ветеринарні лікарі часто відзначали ускладнення при загоюванні ран [105]. Щодо механізму передачі BPV у коней досі є дискусії, оскільки до певного часу обговорювали виключно прямі та непрямі шляхи передачі вірусу, тоді як вертикальний шлях був зафіксований і запропонований після виявлення вірусної ДНК у спермі здорових жеребців. Тестування крові та плаценти несаркоїдних кобил та їх лошат показало, що плацента коней може містити ДНК BPV. Це спонукало науковців до припущення про можливу пренатальну вертикальну передачу ДНК у коней.

Недавні дослідження саркоїду встановили вікову та статеву залежність в ослів – молоді самки мали вищі показники зараження саркоїдом, аніж самці. Окремі вчені стверджують про генетичну схильність деяких порід коней до саркоїду. Моніторинг, проведений Корнельською ветеринарною лікарнею та діагностичною лабораторією, показав, що у коней породи *American Quarter Horse* виявляли саркоїд удвічі частіше, ніж у чистокровних верхових коней (*Equus ferus*

*caballus*). Така породна схильність може свідчити про генетичну основу сприйнятливості цих тварин [12, 17, 36, 48, 62, 96].

Для верифікації діагнозу на саркоїд недостатньо лише клінічного огляду, оскільки дану патологію за візуальними ознаками легко сплутати з фібромою чи фібросаркомою. Тому, патогістологічна діагностика є вирішальною та надважливою для підтвердження й вибору методів лікування.

### **1.3. Коротка характеристика типів саркоїду коней**

З літературних джерел відомо [57], що в однієї тварини переважно реєструють тільки один тип саркоїду, але траплялися випадки, коли у хворих коней упродовж життя розвивалось кілька типів саркоїдів. Ці новоутворення могли залишатися статичними упродовж місяців або років, а потім повільно чи раптово ставали агресивними та прогресували у типі без видимих причин.

Саркоїд, зазвичай, є локально інвазивним, не метастазує, за винятком злоякісної форми, де поширення відбувається лімфогенним шляхом з утворенням чисельних новоутворень уздовж лімфатичних судин та в лімфатичних вузлах [58, 61]. Про спонтанну регресію повідомляють рідко, у цих коней переважно не розвиваються нові саркоїдні пухлини. Лише в одному дослідженні на популяції коней породи Франш-Монтань у Швейцарії спостерігався високий відсоток спонтанної ремісії [10]. Значну частоту рецидивів саркоїд коней мав після лікування, особливо після хірургічного видалення. Рецидивні новоутворення були агресивніші, ніж первинне ураження з тенденцією до швидкого росту та більшої площі ураження. Рецидивуючий саркоїд може з'явитися через декілька тижнів до місяців або років [22, 44, 65].

Залежно від макроскопічної будови, саркоїд поділяють на шість різних типів: плоский (прихований), вузликовий (нодулярний), верукозний, фібробластичний, змішаний, злоякісний [58].

Плоский (прихований) саркоїд являє собою невелику ділянку шкіри без волосся або з тоненьким волоссям із зміненою пігментацією. Зазвичай, новоутворення округлої форми у вигляді алопецій з вузликами діаметром 2–5 мм.

Локалізується на шкірі навколо рота, очей та шиї. Особливо в тих місцях, де найменше шерстного покриву. Проте, прихований саркоїд може вражати і великі поверхні або локалізуватися в кількох різних місцях. Для тварини цей тип саркоїду не є проблемним, оскільки не викликає ні болю, ні свербіж. Прихований тип саркоїду рідко вражає кінцівки, повільно росте і може переходити у верукозний.

Нодулярний (вузликовий) саркоїд – це підшкірне рухливе утворення, часто, але не завжди, сферичної форми, вкрите неушкодженою, клінічно нормальною шкірою. Вузлики при нодулярному саркоїді поділяються на типи А та В. У вузликах типу А немає міцного з'єднання між шкірою та підшкірною клітковиною. Вузлики типу В мають явне ураження шкіри, поверхня шкіри не може зміщуватися самостійно [29, 44].

Верукозний саркоїд – новоутворення, яке часто локалізується на морді, в основі вуха та у пахових впадинах. Ці ураження є алопетичними, не викликають ні свербіж, ні болю, мають типовий бородавчастий вигляд із вираженим гіперкератозом. Новоутворення переважно ростуть повільно, але часто прогресують до більш агресивної форми, особливо при постійному травмуванні [45, 115].

Фібробластичний саркоїд є найбільш агресивною формою новоутворення, що може розвинути з будь-якого іншого типу саркоїду після випадкових або ятрогенних маніпуляцій, включно з біопсією [29]. За структурою новоутворення має м'ясистий вигляд, іноді з виразками, що вкриті струпом, під яким формується грануляційна тканина. Виразкові поверхні приваблюють мух, які сприяють подразненню та локальному інфікуванню бактеріями, розвитку міазм. Місцем локалізації фібробластичних саркоїдів є пах, черевна стінка, іноді дистальні відділи кінцівок, особливо рани шкіри. Фібробластичний саркоїд поділяють на два типи: 1 тип характеризується вираженою ніжкою без потовщення біля основи новоутворення, переважно з м'ясистою головкою з нормальною пігментованою шкірою або утворенням виразок внаслідок постійного травмування; 2 тип має широку локальну основу з потовщенням шкіри у вигляді великого мозолу [115].



Змішаний саркоїд (прихований, нодулярний, верукозний і фібробластичний) є комбінацією двох або більше з цих типів і може представляти прогресуючий або перехідний стан між прихованим та верукозним чи вузловим і фібробластичним типом [43, 45]. Більшість саркоїдів можна класифікувати як змішані, оскільки деякі типи (нодулярний, верукозний і фібробластичний) часто присутні в різних варіаціях у межах одного ураження. У випадках, коли важко визначити, який тип саркоїду домінує, застосовують класифікацію змішаного. Таке може відбуватись у фазі переходу або прогресування від одного клінічного типу до іншого. Ділянками, де найчастіше виявляють змішаний тип саркоїду, є морда, повіки, пах і медіальна частина стегна.

Злоякісний саркоїд є особливо інвазивним типом пухлини, який здатний проникати в лімфатичні судини, що призводить до утворення множинних пухлин уздовж судин і місцевих лімфатичних вузлів. Злоякісний тип найчастіше локалізується на шкірі щелепи та морди, ліктя і медіальної ділянки стегна [57].

Саркоїд необхідно диференціювати від фіброми та фібросаркоми [45, 57]. Гістологічно фіброми добре обмежені пухлини, що побудовані з мономорфної популяції зрілих фібробластів без епідермальної проліферації. Фібросаркома, зазвичай, швидко росте, при пальпації щільної консистенції, у процесі росту новоутворення набуває червоного кольору з виразковою поверхнею, що дуже подібно до саркоїду. Гістологічно ця пухлина має виражену клітинну будову: більшість клітин плеоморфні, з високою цитологічною атипією, наявні множинні як типові, так і не типові мітотичні фігури. Також при фібросаркомі різко виражена дезорганізація в розміщенні ядер. Фібробластичний саркоїд, який є одним з найагресивніших типів, що характеризується інтенсивною дермальною проліферацією, особливо у випадках утворення великих виразок, побудований із грануляційної тканини із значною кількістю фіброзних елементів, які орієнтовані під прямим кутом до базального шару епідермісу у вигляді палісадних структур із помітним запальним набряком та вираженою васкуляризацією [27, 65, 75, 84].

#### 1.4. Сучасні погляди на терапію саркоїду

Лікування саркоїду коней завжди було складним завданням для лікарів ветеринарної медицини, оскільки різноманітність клінічних проявів цих уражень, а також часті локальні рецидиви ускладнювали процес терапії [77]. Загалом існує кілька протоколів лікування саркоїду, які показали позитивну динаміку, проте відповідь на одне й те саме лікування у різних порід коней не завжди було однаково ефективним. Сучасне лікування саркоїду, в першу чергу, передбачало протипухлинну терапію, але більшість дослідників вважають, що профілактичні заходи повинні бути спрямованими безпосередньо на збудника вірусу папіломи.

У світовій практиці описані як хірургічні, так і консервативні методи лікування саркоїду, проте жоден з них не був на 100 % успішним [77]. Лише у 32 % випадків відзначали спонтанну регресію [17, 74]. Деякі дослідники зазначали, що не всіх коней з саркоїдом можна вилікувати. У випадку, коли ураження локалізуються у різних місцях, а їх площа надто велика, лікування таких коней практично неможливе через імовірний рецидив і погіршення стану первинного вогнища після маніпуляцій або ж розвиток нових саркоїдів уже в інших місцях [17, 19, 60]. Загальновідомо, що прогноз лікування коней значно гірший, якщо раніше робилися невдалі спроби терапії [41, 57, 65]. Тому під час першого лікування завжди слід використовувати найкращий та доступний варіант з найвищими шансами на успіх [95].

Хірургічне видалення саркоїдів коней застосовувалося десятиліттями, проте зі змінним успіхом. У наукових працях окремих авторів зазначається про високу частоту рецидивів – від 40 до 72 % [106]. Це пояснюють інфільтративним характером пухлини та імплантаційними метастазами новоутворення під час хірургічних маніпуляцій. Виявлення ДНК BPV на межі здорового шару шкіри та висіченого саркоїду після хірургічних маніпуляцій корелює з підвищеним ризиком рецидиву [74]. Коли висікання проводили з захопленням хоча б 1,0–1,5 см здорової шкіри навколо саркоїду, без дотику пухлини до навколишніх тканин, аутоінокуляції пухлинними клітинами вдавалось уникати. У таких випадках успішність проведених маніпуляцій сягала понад 80 % [17, 74]. Іншим важливим

фактором у прогнозі хірургічного видалення саркоїду, як вважають автори, є можливість виконання ексцизії під загальною анестезією – 80 % успіху. Загальна анестезія забезпечувала хірургам можливість проводити детальне висікання країв новоутворення та створювала хороші умови для уникнення аутоінокуляції [17].

Як у медицині, так і у ветеринарії, метод кріохірургії посідає чільне місце при лікуванні злоякісних новоутворень. Перед заморожуванням великі саркоїдні утворення спершу видаляли хірургічно, а навколишні тканини заморожували рідким азотом, особливо дно пухлини та здорові краї шкіри. Температура кріоножа становила не менше мінус 20 до мінус 25 °С. Після проведеної процедури впродовж кількох днів утворювалося чорне щільне потовщення у вигляді струпа, який поступово відшаровувався протягом кількох тижнів, зрештою утворювалася відкрита рана, яка вже загоювалася за вторинним натягом. Успіх кріооперацій сягав до 60 % [63, 74, 77]. Іноді спостерігали спонтанну регресію нелікованого саркоїду в цієї ж тварини, що, на думку авторів, могло свідчити про те, що руйнування однієї пухлини може призвести до імунної відповіді, спрямованої проти інших віддалених саркоїдів [66]. Водночас, недоліками такого методу лікування був тривалий час анестезії та косметичні дефекти, які утворювалися згодом – рубці, лейкодермія, лейкотрихія [59, 66].

Хіміотерапія як один із методів лікування саркоїду також показав непогані результати. Уведення цитотоксичних препаратів призводить до загибелі пухлинних клітин і може проводитися двома способами: системно й місцево. Обґрунтування місцевої хіміотерапії базується на досягненні високої концентрації препарату в пухлині протягом тривалого часу із збереженням нормальних тканин. Досягається низька системна експозиція, що мінімізує токсичність самого препарату. Оскільки саркоїд локалізується в шкірі, то ін'єкція є найбільш зручним способом для проведення місцевої хіміотерапії. Позитивний ефект посилюється за використання носіїв ліків, які пролонгують персистенцію препарату в пухлині. Для досягнення цього ефекту часто використовували в'язкі маслянисті препарати, такі як кунжутна або мигдалева олія. Для хіміотерапії часто використовували препарат цисплатин, який при лікуванні невеликих саркоїдів був достатньо ефективним. У

випадку великих саркоїдів його застосовували в комбінації з хірургічним висіканням пухлини. Місцеве введення цисплатину під час хірургічного видалення саркоїду не мало негативного впливу на загоєння рани [51].

Таким чином, можемо зробити висновок, що для лікування саркоїду випробовували кілька протоколів лікування, проте жоден із сучасних підходів не був на 100 % ефективним або універсальним для всіх типів пухлин і локалізацій, а рецидиви після лікування залишалися поширеним явищем. Тому питання профілактики та лікування саркоїду коней до сьогодні залишається невирішеною проблемою.

### **1.5. Висновок з огляду літератури**

Підсумовуючи вищеописане, можемо відзначити, що сьогодні більшість дослідників визнає, що в патогенезі розвитку саркоїду важливу роль відіграє вірус папіломи худоби (BPV) типів 1 і 2, який може передаватися через укуси комах, інкорпорується в ДНК уражених клітин шкіри і спричинює трансформацію цих клітин у пухлинні. Саркоїд може роками не зазнавати змін, а може, навпаки, розпочати швидкий та агресивний ріст з інфільтрацією прилеглих до нього тканин шкіри. Така відмінність у поведінці цього новоутворення досі не вивчена. Саркоїдні новоутворення, зазвичай, виникають в будь-якій ділянці тіла як окремо, так і групами, проте найчастіше уражається вентральна частина черева, голова і пах. Прогресуванню або й рецидивам новоутворень, зазвичай, сприяють травми шкіри, хірургічні рани, мікротравми внаслідок ін'єкцій або навіть укусів комах. Важливим сприятливим фактором, пов'язаним із можливістю трансмісивної міжвидової передачі збудника, є спільне утримання та випасання коней і великої рогатої худоби. Практика лікування саркоїду до сьогодні залишається невирішеною проблемою, оскільки жоден із методів не був на 100 % ефективним або універсальним. Економічні наслідки від ураження коней саркоїдом є достатньо суттєвими. Найперше це пов'язано з утворенням косметичних дефектів на шкірі, а також обмеженням використання спортивних тварин у змаганнях, якщо пухлини

розташовуються на рівні обхвату вуздечки, у кутиках рота чи на дистальних відділах кінцівок. Крім того, знижується племінна цінність таких тварин.

Таким чином, в Україні, як і в багатьох європейських країнах, саркоїд залишається важливою клінічною проблемою, особливо для високопородних коней.

## **РОЗДІЛ 2**

### **ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ**

#### **2.1. Вибір напрямів досліджень**

Серед сучасних методів лабораторної і клінічної діагностики морфологічні методи посідають одне з перших місць завдяки своїй інформативності та діагностичному значенню. До них відносять гістологічні, гістохімічні та цитологічні методи діагностики, особливо в онкології. В окремих випадках точний діагноз не може бути поставлений без використання імуногістохімічних та ультраструктурних методів досліджень. У зв'язку з високою інформативністю та ілюстративністю морфологічні методи досліджень широко використовуються не тільки гістологами й патологоанатомами, а також і клініцистами та науковцями. Важливе значення у диференціальній діагностиці новоутворень шкіри має виявлення аргірофільних волокон. Застосування імуногістохімічних методів досліджень дає можливість виявляти мінімальні кількості речовин у клітинах і є вирішальним при остаточній постановці діагнозу. Саме тому з метою верифікації різних типів саркоїду коней ми обрали широкий спектр морфологічних методів досліджень.

#### **2.2. Об'єкти дослідження, місце проведення досліджень**

Дане ретроспективне дослідження проводилося в період 2019–2023 років на базі комунального закладу дитячо-юнацької спортивної школи «Буревісник», ТОВ «Львівський іподром», спортивної конюшні «Гранат», спортивної конюшні «Вікторія», Ягільницького кінного заводу, кінноспортивного клубу (КСК) «Лемберг Хорс Клуб», КСК «Ластівка», КСК «Шевальє», КСК «Срібна підкова» та інших приватних конюшень Львівської, Івано-Франківської, Тернопільської та Рівненської областей. Упродовж виконання дисертаційної роботи було досліджено 2552 коней з різними патологіями, серед яких за клінічного огляду попередньо діагностовано 328 випадків саркоїду, 15 меланом (у коней сірої масті), 27 папілом та 1 карцинома. Уражалися коні української верхової породи

(УВП), англійської чистокровної, голландської теплокровної, бельгійської теплокровної, голштинської, вестфальської, гуцульської та невизначених порід. Новоутворення локалізувалися в різних анатомічних ділянках тіла. Найчастіше пухлини виявляли на черевній стінці та в паху, на грудній клітці, шиї, навколо очей. При клінічному огляді всі коні були здорові, якщо не брати до уваги наявних новоутворень. При виборі методу лікування саркоїду враховували тип новоутворення та його локалізацію. Плоский і верукозний саркоїди лікували консервативним методом, застосовуючи зовнішньо один з препаратів: Sarcoid cream, 5-фтор-урацил або імквімод. Для нодулярного типу використовували кріотерапію.

При лікуванні фібробластичного саркоїду використовували три методи: лігування – накладання лігатури на пухлину з ніжкою (часто спостерігалися рецидиви); електрокоагуляція; оперативне видалення неоплазії, яке здійснювали шляхом широкого висікання в межах здорових тканин із відступом від пухлини на 1-2 см з наступним накладанням швів. Хірургічні маніпуляції проводили після садації з застосуванням детомідину гідрохлориду (0,02 мг/кг) у комбінації з бутарфанолу тартрат (0,025 мг/кг). Місцеву анестезію проводили інфільтраційним методом із використанням лідокаїну гідрохлориду у дозі 0,2 мг/кг маси тіла тварини.

Панч-біопсію проводили в тих випадках, коли новоутворення локалізувалось у важкодоступних місцях, з використанням седативних препаратів та місцевої анестезії з наступною коагуляцією тканин. Усі маніпуляції з кіньми проводили з урахуванням основних принципів біоетики, згідно з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та наукових цілях» (Страсбург, 1986), 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 біоетичної експертизи №8 від 29.10.2019 р.), Закону України №3447-4 від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

На основі проведених ретроспективних досліджень визначено найбільш злоякісний тип саркоїду та ділянки, які найчастіше уражались.

Гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні дослідження виконувались у навчально-дослідній лабораторії кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького під керівництвом доктора ветеринарних наук О.М. Щербентовської. Ультраструктурні дослідження проводили в лабораторії електронної мікроскопії ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького за сприяння та допомоги завідувача лабораторії О.О. Зайцева.

**2.3. Методи проведення досліджень:** фізикальні (встановлювали локалізацію саркоїду, визначали його форму, колір, консистенцію, рухливість щодо навколишніх тканин), гістологічні, гістохімічні, імуногістохімічні, електронно-мікроскопічні, морфометричні, статистичні.

### **2.3.1. Гістологічні методи дослідження**

Фрагменти видалених новоутворень фіксували у 10 % нейтральному водному розчині формаліну та рідині Буена. Після фіксації проводили вирізку новоутворення, враховуючи його тканинну локалізацію, з наступним промиванням у водопровідній воді після формаліну упродовж доби. За використання фіксатора Буена проводили промивання 70<sup>0</sup> спиртом по одній добі у трьох порціях спирту. Фрагменти у гістологічних касетах дегідрували у висхідному ряді спиртів, починаючи від 70<sup>0</sup> та збільшуючи концентрацію на 10 %, з експозицією по 12 годин у кожному. Довівши до абсолютного етанолу, експозицію зменшували до 6 годин. Переносили у суміш ксилолу та абсолютного етанолу 1:1 на 1 годину, потім ксилол I 1 годину та ксилол II 1 годину, витримували у суміші ксилолу та парафіну 1:1. У термостаті тканину просочували у двох порціях парафіну за температури 56<sup>0</sup> С з експозицією 1 година. Матеріал заливали в блоки та охолоджували. З отриманих блоків на санному мікротомі МС-2 отримували гістологічні зрізи товщиною 7 мкм, які монтували на предметні скельця методом виловлювання з дистильованої води. Змонтовані зрізи підсушували в термостаті упродовж 12 годин за температури 37<sup>0</sup>С. Депарафінізацію здійснювали ксилолом з подальшою



регідратацією через низхідний ряд спиртів до дистильованої води. Фарбування зрізів виконували з використанням гематоксиліну Маєра та еозину. Дегідратували у висхідному ряді спиртів через ксилол, поміщали у синтетичне середовище, накриваючи покривним склом [70, 79]. Для верифікації типу саркоїду використовували додаткове фарбування за методом Ван-Гізона на колагенові волокна та резорцин-фуксином за Вейгертом на еластичні волокна.

### **2.3.1.1. Фарбування пікрофуксином за Ван-Гізонам**

Зрізи депарафінізували та з дистильованої води переносили у свіжоприготований гематоксилін Вейгерта на 3–5 хв. Гематоксилін Вейгерта готували, змішуючи в рівних кількостях два основні розчини (Вейгерт I та Вейгерт II). Вейгерт I – це 1% розчин гематоксиліну у 96<sup>0</sup> етиловому спирті. Розчин Вейгерт II – це: 50 % розчин водного хлорного заліза ( $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ) – 4 мл; міцна соляна кислота (питома вага – 1,15–1,19) – 1 мл; вода дистильована – 95 мл. Після фарбування зрізи ретельно споліскували у двох порціях водопровідної води з наступним фарбуванням у пікрофуксині 2–3 хв. Склад пікрофуксину: 100 см<sup>3</sup> насиченого розчину пікринової кислоти та 7 см<sup>3</sup> 1% водного розчину кислого фуксину.

Наступним етапом здійснювали проводку через три порції 96<sup>0</sup> спирту, витримуючи по чергово по 1–2–3 хвилини. Просвітлювали у двох порціях ксилолу та поміщали зрізи у канадський бальзам. Результат правильного фарбування: ядра забарвлювалися у чорний колір, колагенові волокна – у червоний, а м'язові елементи та еритроцити – у жовтий колір.

### **2.3.1.2. Фарбування резорцин-фуксином Вейгерта та карміном Орта**

Зрізи після депарафінізації фарбували у літєвому карміні Орта – 10–15 хв. Для приготування літєвого карміну Орта брали 100 мл насиченого водного розчину вуглекислого літію (1,52 % за 20<sup>0</sup>С), додавали 2,5 г карміну, кип'ятили 5–10 хв і після охолодження фільтрували через пористий фільтрувальний папір. Минаючи воду, зрізи переносили у 1% солянокислий спирт (70<sup>0</sup>) на 5–15 хв, він

одночасно фіксує та диференціює фарбу. Споліскували у водопровідній воді та 70<sup>0</sup> спирті з наступним зануренням у профільтований резорцин-фуксин Вейгерта (фуксилін) на 20–30 хв. Для приготування фуксиліну розчиняли 0,5 г фуксину основного та 1 г резорцину в 50 мл дистильованої води у колбі Ерленмеєра на 200 мл. Окремо готували 20 % розчин FeCl<sub>3</sub> у кількості 10 см<sup>3</sup>. Змішували обидва розчини, попередньо нагрівши перший розчин та кип'ятили 5 хв, регулярно збовтуючи. Після охолодження фільтрували. Осад з фільтром вміщували в колбу Ерленмеєра на 200 мл та додавали 100 см<sup>3</sup> 96<sup>0</sup> спирту. Після нанесення фарби зрізи споліскували у воді 1–2 хв, диференціювали у 1 % солянокислому спирті під контролем мікроскопа до моменту, поки чітко не починали проглядатись еластичні волокна (3–5 хв). Після цього проводили через три порції 96<sup>0</sup> спирту, витримуючи по чергово по 1–2–3 хвилини. Просвітлювали у двох порціях ксилолу 2 хв і поміщали зрізи у синтетичне середовище. Результат фарбування – ядра клітин забарвлювались у червоний колір, еластичні волокна – у темно-синій.

### **2.3.1.3. Азановий метод фарбування за Гейденгайном**

Депарафінізовані зрізи з дистильованої води занурювали у 0,1 % розчин азокарміну G, виготовлений на 1 % розчині льодяної оцтової кислоти. Фарбування виконували у ємності Коплена за температури 56<sup>0</sup>C протягом 45 хв. Промивали дистильованою водою, диференціювали у 0,001 % розчині аніліну в 96<sup>0</sup> спирті. Переносили в 1 % розчин оцтової кислоти в 96<sup>0</sup> етанолі на 1 хв. Після того поміщали в 5 % водний розчин фосфорновольфрамової кислоти на 1 годину. Швидко споліскували дистильованою водою, занурювали в розчин анілінового синього, оранжевого G в оцтовій кислоті такого складу: 0,5 г анілінового синього, 2 г оранжевого G в 100г дистильованої води з додаванням льодяної оцтової кислоти. Перед фарбуванням розчин розводили вдвічі. Швидко диференціювали у 96<sup>0</sup> етанолі через абсолютний спирт та ксилол. Зрізи поміщали під покривне скло у бальзам. Колагенова і ретикулярна сполучні тканини забарвлювалися в інтенсивно-синій колір, хроматин ядер, м'язова тканина, еритроцити – червоний.

## **2.3.2. Гістохімічні методи дослідження**

### **2.3.2.1. Методика фарбування за Мак-Манусом (PAS-реакція)**

Матеріал фіксували у фіксаторі Буена. Із блоків отримували зрізи за допомогою санного мікротому МС-2, товщиною 7 мкм. Зрізи монтували на предметні скельця, висушували в термостаті. Депарафінізували ксиолом, доводили до води та занурювали у 0,5 % розчин періодної кислоти на 5 хв. Промивали в дистильованій воді та занурювали у реактив Шифа на 10 хв. Реактив Шифа готували за прописом Детомазі: розчиняли 1 г основного фуксину в 200 мл кип'яченої води, струшували протягом 5 хв, охолоджували до 50<sup>0</sup>С з наступним фільтруванням. Додавали до фільтрату 20 мл 1 н. НСІ, охолоджували до 25<sup>0</sup>С. Додавали 1 г метабісульфіту натрію. Залишали в темноті на 12 год. Жовтуватий розчин струшували 1 хв з 2 г активованого вугілля з наступним фільтруванням. Промивали у проточній воді протягом 10 хв. Дофарбовували ядра гематоксиліном Майєра 2 хв. Гематоксилін Майєра: 1 г гематоксиліну розчиняли у 1000 см<sup>3</sup> дистильованої води, додавали 0,2 г NaSO<sub>3</sub> (йодноватокислий Na) та 50 г хч хлоралгідрату й 1 г лимонної кислоти. Зневоднювали у спиртах висхідної концентрації через ксиолол поміщали у бальзам. Результат фарбування – колаген III типу, що містить значну кількість поліцукридів та глікопротеїдів, забарвлювався у яскраво-червоний колір.

### **2.3.2.2. Методика фарбування за Гоморі (PAMS)**

Депарафінізовані зрізи після дистильованої води поміщали у 0,5 % розчин періодної кислоти на 15 хв при кімнатній температурі. Промивали тричі в дистильованій воді, інкубували 30 хв за 60<sup>0</sup>С у розчині метенаміну срібла, виготовленого за прописом: 3 % гексаметилентетраміну 100 мл, 5 % нітрат срібла 5 мл. Повільно додавали цитрат срібла до розчину гексаметилентетраміну. Готовий робочий розчин зберігали при 4<sup>0</sup>С кілька місяців. Змішували 50 мл робочого розчину з 5 % боратом натрію. За 10 хв до фарбування розчин підігрівали до 60<sup>0</sup>С. Зрізи інкубували в ємності Копліна за 60<sup>0</sup>С упродовж 30 хв. Промивали в гарячій дистильованій воді з наступним перенесенням їх у дистильовану воду кімнатної

температури. Тонували 0,2 % розчином хлориду золота, промивали в дистильованій воді. Залишки срібла забирали 3 % водним розчином тіосульфату натрію, в якому витримували 2 хв. Промивали в проточній воді протягом 10 хв, дофарбовували еозином та гематоксиліном Майєра. Зневоднювали у висхідному ряді спиртів, через ксилол поміщали у синтетичний бальзам. Ретикулярні волокна забарвлювалися від темно-коричневого до чорного кольору, ядра – сині, фон – рожевий.

### **2.3.2.3. Метод виявлення кислих глікозаміногліканів за Сідменом**

Депарафінізовані зрізи після дистильованої води занурювали на 30 с у 0,1 % розчин альціанового синього у 3 % оцтовій кислоті. Промивали у дистильованій воді, дофарбовували ядра 1 % нейтральним червоним 30 с. Промивали у дистильованій воді 5 хв, зневоднювали у висхідних спиртах, через ксилол поміщали у синтетичне середовище, покривали покривним склом. Результат реакції – кислі глікозаміноглікани забарвлювалися у сині кольори, ядра – темно-червоні.

### **2.3.3. Метод електронно-мікроскопічного дослідження**

Фрагменти саркоїду фіксували у 2 % розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері Міллоніга рН 7,36 упродовж 2 годин у термосі за температури танучого льоду. Після фіксації промивали у фосфатному охолоджену буфері Міллоніга, дегідратували в етанолі зростаючої концентрації з різницею 10 %, починаючи з 70 % розчину етанолу на дистильованій воді по 10 хв у кожному. Витримували у 3 порціях абсолютного етанолу по 10 хв у кожному, переносили у 2 порції пропілен-оксиду по 5 хв і просмолювали 24 год в суміші аралдіту з таким складом: Аралдіт М, ущільнювач NY964 1:1, ретельно змішавши. До 20 мл цього розчину 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 [2, 16, 30, 83, 123]. Сформовані блоки заточували у вигляді трапеції, закріпивши у тримач блоків. За допомогою скляного ножа

отримували напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм та ультратонкі зрізи товщиною 90 нм на ультрамікроскопі LKB-2188 (Швеція). Зрізи монтували на предметному склі, підігриваючи на приладі фірми LKB-2208 MULTIPATE (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°C упродовж доби з наступним контрастуванням цитратом свинцю по Рейнольдсу та ураніл-ацетатом. Взірці переглядали і фотографували в трансмісійному електронному мікроскопі Tesla BS-500 при прискорювальній напрузі 60 кV [34, 123]. Фотофіксацію проводили з використанням фотоплівки ФТ-41П. У цифровий формат негативи переводили за допомогою фотосканера Epson perfection V500 photo та пакету програмного забезпечення до нього.

#### **2.3.4. Імуногістохімічні дослідження**

Для вивчення проліферативної активності саркоїдів коней використовували моноклональні антитіла до негістонного білка Ki-67 (клон MIB-5), який визначається в ядрах клітин під час пізньої G-, S-, G<sub>2</sub>-фази і під час мітозу. Оцінку злякисних клітин, позитивно забарвлених на ядерний антиген Ki-67, оцінювали візуально за допомогою світлового мікроскопа та кількісно. Проліферативну активність пухлини оцінювали як відсоток Ki-67+ клітин від загального числа пухлинних клітин. У кожному взірці досліджено 5 мікроскопічних полів при збільшенні x200. Якщо відсоток злякисних клітин менший за 15 %, вважали, що новоутворення має низьку агресивність, Якщо Ki-67 коливався в діапазоні від 16-50 % – пухлина агресивна, якщо вище 50 % – високоагресивна. Встановлення експресії віментину проводили за допомогою мишачих моноклональних антитіл (клон VIM 3B4).

### 2.3.5. Статистичне опрацювання результатів та матеріальне забезпечення морфометричних досліджень

Статистичний та кореляційний аналіз результатів досліджень проводили за допомогою програми «StatPlus2008». Мітотичний індекс визначали за формулою:

$$\text{MitoticI} = \frac{(P + M + A + T)}{N} * 100\%,$$

де (P+M+A+T) – сума клітин, що були у стадії профазі, метафазі, ана- і телофазі, а N – загальна кількість проаналізованих клітин.

Для визначення об'єму ядра фібробластів використовували таку формулу:

$$V = \frac{\pi}{6} * A * B^2,$$

де V- об'єм клітин,  $\pi$  – 3,14, A – довжина ядер, B – ширина ядер.

Об'єм ядерця визначали за формулою:

$$V = \frac{\pi}{6} * d^3,$$

де  $\pi$  – 3,14, d – діаметр ядерця у кубі.

Готові гістологічні препарати опрацьовували і фотографували з використанням мікроскопа Leica DM-2500 (Switzerland) з камерою Leica DFC450C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4 [Build:454] Leica Microsystems (Switzerland) Limited.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Моніторинг поширення саркоїду коней у західних областях України

Ретроспективний аналіз захворюваності коней на саркоїд у період 2019–2023 років засвідчив різке зростання випадків даної патології, особливо від початку 2022–2023 років, що здебільшого пов’язане з масовим переміщенням спортивних племінних коней із східних областей України у західні через початок військових дій на сході України. Згідно з проведеними нами дослідженнями встановлено, що частка коней, у яких діагностовано саркоїд, у Львівській області становила 15,3 %, Тернопільській – 10,5 %, Івано-Франківській – 9,6 % та Рівненській – 14 % (рис. 3.1). Упродовж 2020–2021 років кількість коней з саркоїдом збільшилася на 3,4 % порівняно з 2019 роком; у 2021–2022 роках – на 6,7 %, тоді як у 2022–2023 роках зросла на 15,6 %, що пов’язано зі збільшенням кількості переміщених тварин (Табл. 3.1).

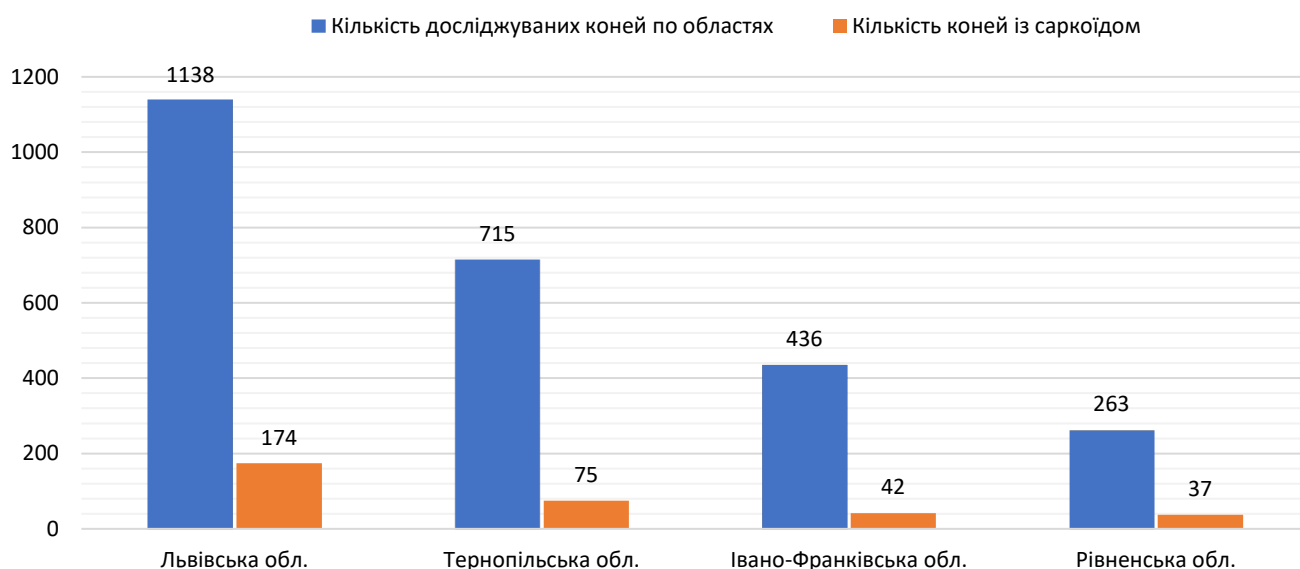


Рис. 3.1. Кількість обстежених коней у західних областях України та діагностованих саркоїдів у період з 2019–2023 роках.

На нашу думку, реєстрація більшої кількості коней саме у Львівській області, а отже і виявлення випадків саркоїду, безпосередньо пов’язана з перетримкою

тварин на карантині в приватних та державних конюшнях із можливістю надання ветеринарних послуг із наступним транзитом в інші області України або до країн Європи (табл. 3.1).

Таблиця 3.1.

**Кількість випадків коней з саркоїдом, що реєстрували у західних областях України впродовж 2019–2023 років**

Область	2019-2020 рр.	2021 р.	2022 р.	2023 р.	Всього
Львівська обл.	27	29	47	71	174
Тернопільська обл.	13	16	16	30	75
Івано-Франківська обл.	8	11	9	14	42
Рівненська обл.	2	5	11	19	37
<b>Усього</b>	<b>50</b>	<b>61</b>	<b>83</b>	<b>134</b>	<b>328</b>

Породної приналежності коней щодо зараження певним типом саркоїду ми не встановили (табл. 3.2).

Таблиця 3.2.

**Породна приналежність коней із західних областей України, у яких виявлено саркоїд**

Породи коней	Загальна кількість коней із саркоїдом (n=328)	У відсотках (%)
Українська верхова порода (УВП)	93	28,4
Англійська чистокровна	32	9,8
Голландська теплокровна	5	1,5
Бельгійська теплокровна	4	1,2
Голштинська	2	0,6
Вестфальська	9	2,7
Гуцульська	2	0,6
Невизначена	181	55,2
<b>Усього</b>	<b>328</b>	<b>100</b>



Статистично більшість досліджуваних коней з саркоїдом були меринами (63,7 %), кобили (36,3 %), переважно гнідої, вороної та рудої масті. Жодного лошати з саркоїдом упродовж періоду дослідження виявлено не було, що, імовірно, можна пов'язувати з досить тривалим латентним періодом розвитку новоутворення.

Виявлені саркоїди, зазвичай, мали локальне розміщення, і тільки 5 % від усіх досліджуваних новоутворень були у вигляді множинних уражень. Найбільша кількість саркоїдних пухлин локалізувалась на черевній стінці та в паху, відповідно 53 і 15 %, грудній клітці – становило 27 %. У ділянці голови та шиї фіксували значно менше новоутворень – 3 та 2 % від усіх досліджуваних саркоїдів.

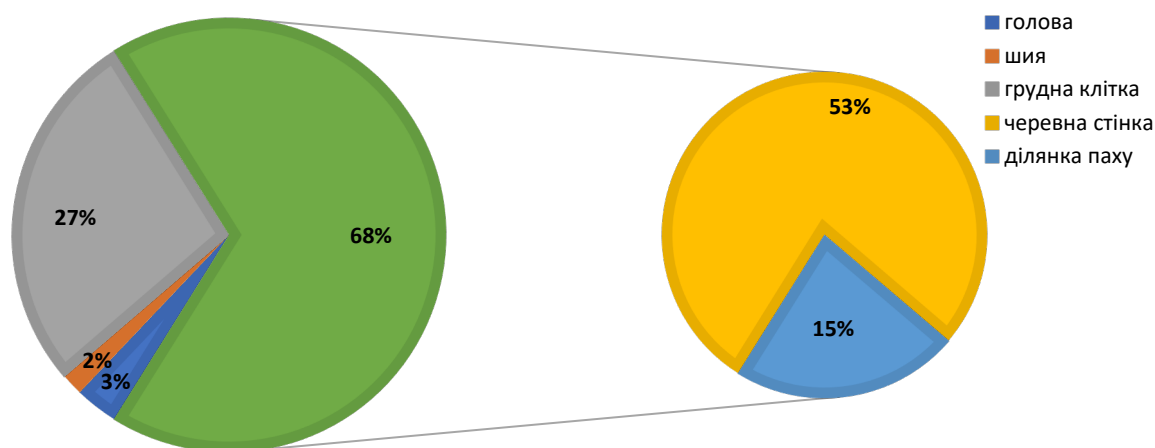


Рис. 3.2. Ділянки локалізації виявлених саркоїдів коней

Результати проведених досліджень показали, що у структурі досліджуваних нами неоплазій у коней найбільшу кількість займав плоский (прихований) тип саркоїду – 105 випадків (32 %), друге місце посідав верукозний – 79 (24, 08 %), на третьому місці був фібробластичний тип – 68 випадків (20,7 %). Змішаний тип саркоїду виявляли у 14,02 % коней, а злоякісний – 0,6 % (табл. 3.3). Найбільшу кількість рецидивів відзначали у коней з фібробластичним саркоїдом, особливо після їх видалення із накладанням лігатури на ніжку пухлини. Щодо випадків спонтанної ремісії, то найчастіше її реєстрували у коней з прихованим саркоїдом –

6,67 %. Загалом за період наших досліджень відзначали 9 випадків саркоїду з спонтанною ремісією (табл. 3.3).

Таблиця 3.3.

**Загальна кількість виявлених саркоїдів коней у західних областях України, залежно від їх клінічного типу**

Тип саркоїду	Кількість випадків	Кількість випадків у відсотках	Кількість рецидивів		Спонтанна ремісія	
		(%)	випадки	%	випадки	%
Плоский (прихований)	105	32	1	0,95	7	6,67
Нодулярний (вузликовий)	28	8,5	—		1	3,57
Верукозний	79	24,08	—		1	1,26
Фібробластичний	68	20,7	4	5,88	—	
Змішаний	46	14,02	1	2,17	—	
Злоякісний	2	0,6			—	
<b>Усього</b>	<b>328</b>	<b>100</b>	<b>6</b>	<b>1,82</b>	<b>9</b>	<b>2,74</b>

Щодо локалізації різних типів саркоїду та їх розмірів, то слід відзначити значну варіабельність. Здебільшого саркоїди розміщувались у ділянці вентральної частини черевної стінки і мали довжину від 5 і більше см (табл. 3.4). Саркоїди розміром від 2 до 5 см найчастіше виявляли в пахвинній ділянці. Їх кількість дорівнювала 65. Проте, слід відзначити, що часті травмування пухлин зброєю приводили до збільшення розмірів ушкодження, сприяючи розростанню новоутворення. Саме в місцях контакту амуніції, на грудині вздовж зовнішньої грудної вени також виявляли саркоїди великих розмірів. Найменшу кількість новоутворень фіксували на статевих органах, проте їх розміри були достатньо великими (табл. 3.4). Загалом, кількість саркоїдів до 2 см реєстрували у 44 випадках; від 2 до 5 см – 116. Найбільше було саркоїдів більше 5 см – 168 випадків (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Розмір виявлених саркоїдів та місця їх локалізації**

Місце локалізації саркоїду	Розмір новоутворення		
	до 2 см	2 – 5 см	5 і більше см
Вентральна черевна стінка	4	22	116
Пахвинна ділянка	25	65	20
Грудна клітка вздовж зовнішньої грудної вени	7	18	28
Голова (нижче лицевого гребеня)	8	9	2
Статеві органи		2	2
<b>Усього</b>	<b>44</b>	<b>116</b>	<b>168</b>

Отже, за результатами досліджень можна відзначити, що на території західних областей України найбільшу кількість випадків саркоїду в коней фіксували у Львівській області (15,28 %), дещо менше – у Рівненській (14,06 %) та Тернопільській (10,48 %), у відсотковому відношенні до загальної кількості обстежених коней у цих регіонах. Найменшу кількість коней із саркоїдом виявляли в Івано-Франківській області – 9,63 %. При цьому слід зазначити, що найпоширенішим типом саркоїду був плоский (32 %), верукозний (24,08 %), фібробластичний (20,7 %), змішаний (14,02 %), нодулярний (8,5 %) та злякисний (0,6 %). Розміри саркоїду варіювали від маленьких – 2 см (найчастіше плоский), до 5 см (плоский, нодулярний і змішаний) та більше 5 см (верукозний, фібробластичний, змішаний, злякисний), що залежало від місця локалізації та ділянок найбільшого чи найменшого травматизму.

Результати досліджень опубліковано у науковій праці:

Портенко М.П., Щербентовська О.М. (2023). [97].

### **3.2. Клінічні ознаки та макроскопічна характеристика різних типів саркоїду коней**

Макроскопічно для усіх саркоїдних новоутворень характерне вогнищеве потовщення шкіри, депігментація ураженої ділянки та її ущільнення, спричинене проліферацією фібробластів у місці ураження. Епідерміс змінювався від гіперкератинізованого до виразкового, залежно від типу саркоїду. Іноді мав вигляд рухомих підшкірних утворень з непошкодженою шкірою.

Перший діагностований нами тип саркоїду, який найчастіше виявляли – це прихований або плоский, при якому візуалізувалися чітко обмежені ділянки алопецій, які в окремих коней з часом або збільшувались, або залишались незмінними, проте без тенденції до відновлення росту шерсті (рис. 3.3, 3.4, 3.5). Уражались, зазвичай, тільки поверхневі шари шкіри, що робило цю патологію схожою на стригучий лишай (рис. 3.6). У ділянках алопецій подекуди з'являлися зони гіперкератинізованої сірої верукозної тканини, у якій з часом утворювалися під шкірою або в її товщі поодинокі чи множинні вузлики (нодулярний саркоїд). Більшість цих уражень не прогресували, і за відсутності травмування зберігалися в незміненому вигляді упродовж тривалого часу. Іноді відзначали збільшення кількості вузликів або гіперкератинізованих ділянок, причому останні могли ставати верукозними. Проте, вузлики на них залишалися «сидячими» і не утворювали ніжки. Ці гіперкератинізовані вузлики мали властивість поступово збільшуватися в розмірах, а у випадку їх постійного травмування, навіть поверхневого, перероджувались із прихованого або нодулярного саркоїду в більш агресивну фібробластичну пухлину.



Рис. 3.3. Прихований або плоский саркоїд: *a* – новоутворення в ділянці плеча; *b* – депігментована та гіперкератинізована шкіра в ділянці мошонки



Рис. 3.4. Прихований або плоский саркоїд: *a* – дифузні ураження різних розмірів ділянки бічної черевної стінки та паху; *b* – новоутворення на передній кінцівці



Рис. 3.5. Прихований або плоский саркоїд: *a* – невеликого розміру алопеції в ділянці грудної клітки; *b* – масивні ураження жувального м'яза з депігментацією



Рис. 3.6. Прихований або плоский саркоїд: *a* – великих розмірів ділянка депігментації грудної клітки; *b* – ділянка плеча

Другий тип саркоїду, якого діагностували найменше порівняно з іншими типами – нодулярний (вузликовий), характеризувався повністю підшкірною локалізацією. Найчастіше новоутворення мало вигляд одного або кількох сферичних підшкірних вузлів різного розміру. Зазвичай, пухлини локалізувалися в ділянці паху, препуція, внутрішнього боку стегон та повік (рис. 3.7, 3.8). Шкіра при нодулярному саркоїді практично не змінювалася, а самі вузлики були рухомими (рис. 3.9). В окремих випадках ці рухомі вузлики локалізувалися інтрадермально, що верифікувалось патогістологічним дослідженням. Виняток становив вузликовий саркоїд повік, для якого характерним було зрощення із суміжними тканинами. Ця форма саркоїду має доброякісний характер і краще піддається хірургічному лікуванню. За структурою вузликовий саркоїд подібний на тверду фіброму з добре обмеженими краями. Але біопсія або інша травма шкіри в ділянці новоутворення може призвести до переходу вузликового саркоїду в злоякісну фібробластичну форму.

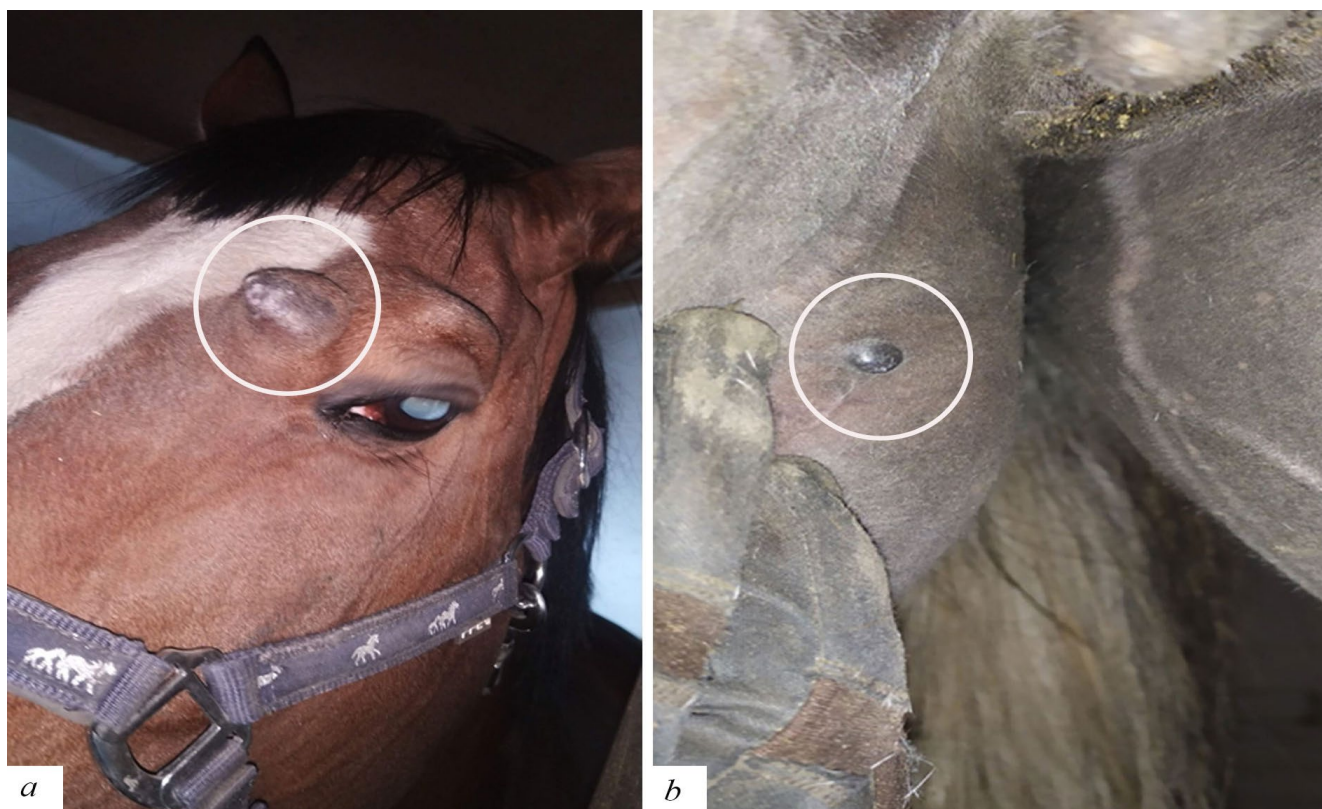


Рис. 3.7. Нодулярний (вузликовий) саркоїд: *a* – новоутворення розміщувалося під шкірою на орбітальній поверхні; *b* – невеликий сферичний підшкірний вузлик на внутрішній поверхні стегна



Рис. 3.8. Нодулярний (вузликівий) саркоїд: *a* – невелике кругле підшкірне новоутворення на медіальній поверхні грудної кінцівки; *b* – дифузний підшкірний саркоїд на бічній поверхні черевної стінки

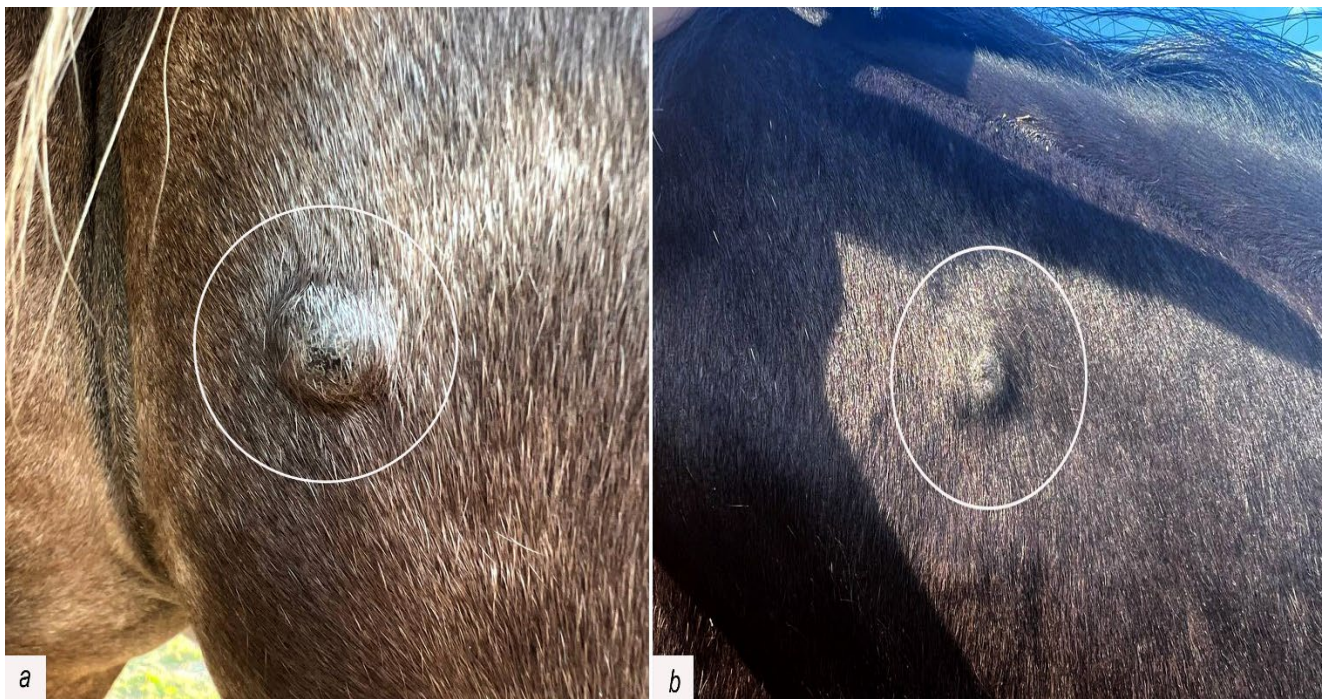


Рис. 3.9. Нодулярний (вузликівий) саркоїд: *a* – кругле підшкірне новоутворення в ділянці напівсухожилкового м'яза; *b* – рухоме підшкірне новоутворення в ділянці шиї



Третій тип саркоїду, який виявляли у коней із західних областей України, був верукозний. Він характеризувався ураженням глибших шарів дерми, утворенням чітких ділянок гіперкератозу із вираженим потовщенням шкіри, переважно неправильної форми. Ступінь гіперкератозу за цього типу саркоїду достатньо варіював. Так, наприклад, у периорбітальній ділянці шкіра могла залишатися майже гладкою і безшерстою, тоді як в інших ділянках тіла, зазвичай, це внутрішня поверхня стегна та пахові ділянки, на шиї утворювались значні потовщення (рис. 3.10, 3.11). Верукозний саркоїд буває сидячим, з широкою основою або з ніжкою (рис. 3.12). Як правило, саркоїд цього типу росте повільно, але під впливом таких факторів, як тертя, випадкова травма або хірургічне втручання, новоутворення здебільшого набувало характеру фібробластичної пухлини (більш агресивної) з ульceraцією, могло містити гранулематозну тканину (рис. 3.13).

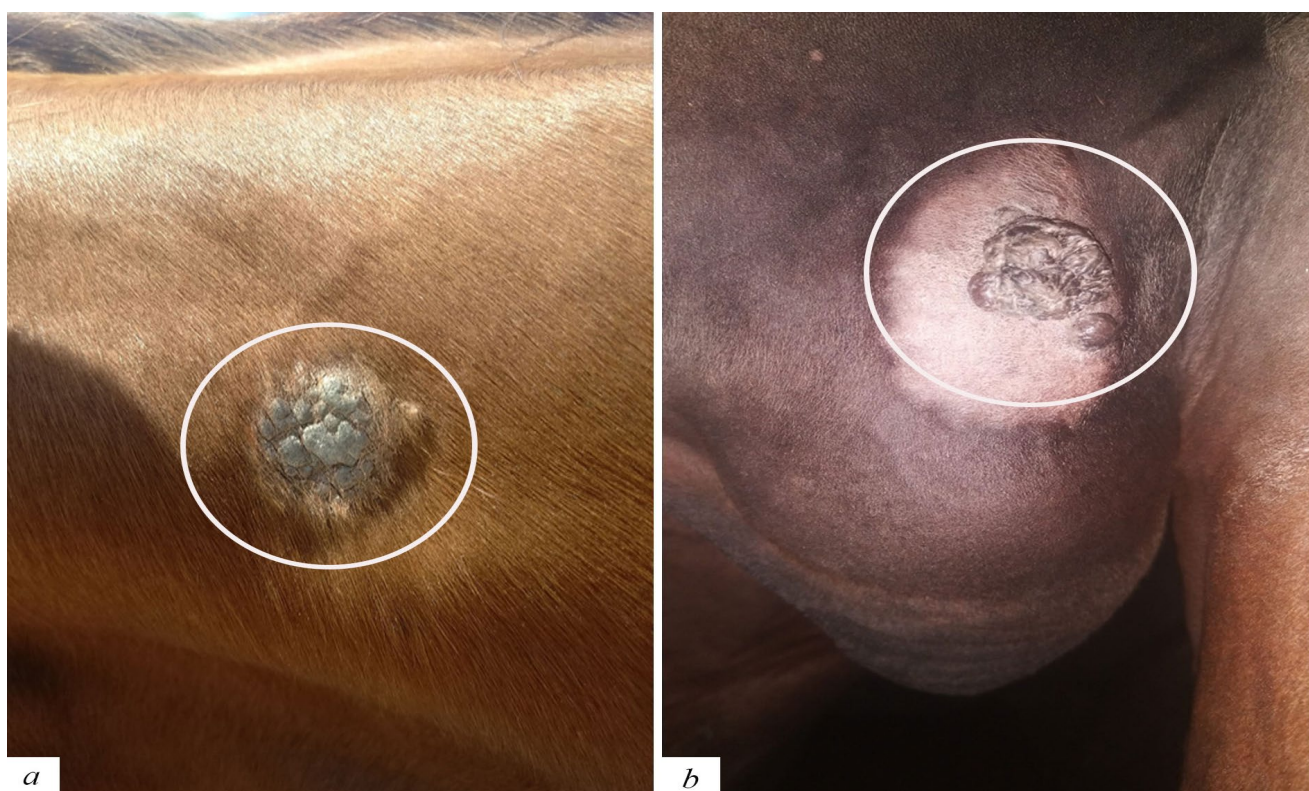


Рис. 3.10. Верукозний саркоїд коней: *a* – новоутворення у вигляді значного потовщення, розміщується у середній третині шиї; *b* – депігментована ділянка мошонки з масивним сидячим саркоїдом

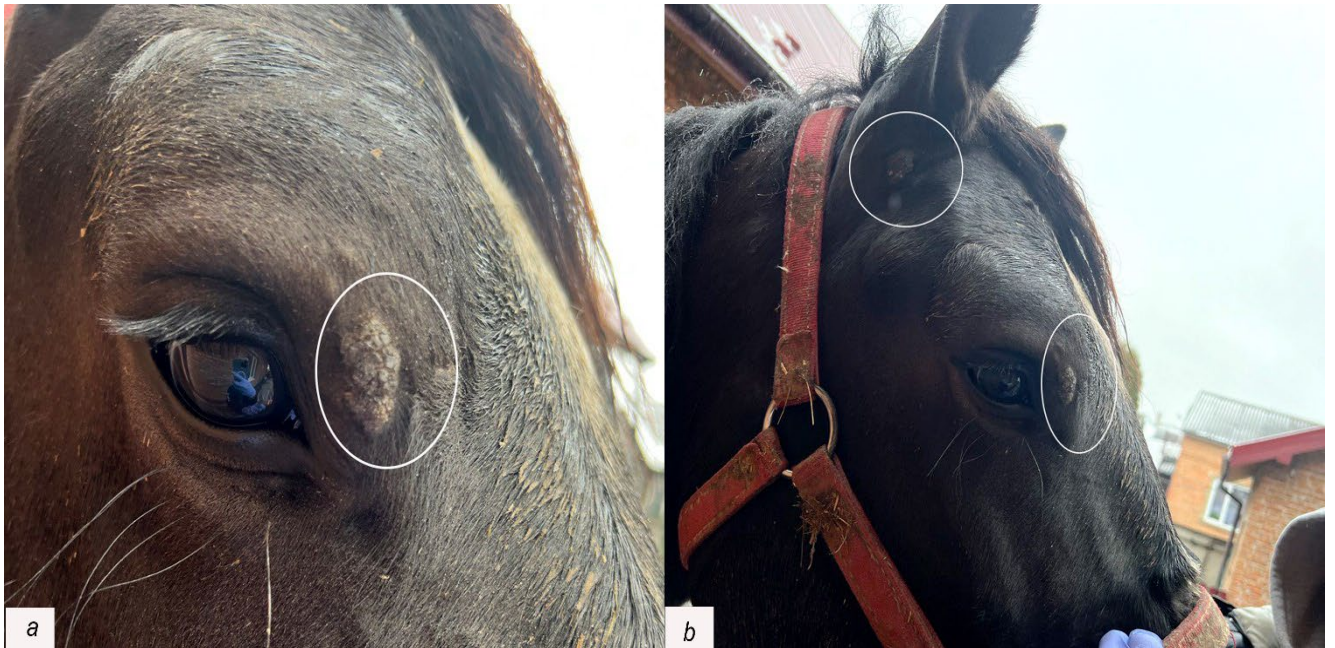


Рис. 3.11. Верукозний саркоїд коней: *a* – новоутворення локалізується у периорбітальній ділянці; *b* – новоутворення в ділянці вушної раковини



Рис. 3.12. Верукозний саркоїд коней: *a* – новоутворення, локалізоване у ділянці середньої третини шиї; *b* – дифузне розміщення саркоїду на ніжці в лобковій та пупковій ділянках (шкіра значно потовщена, без волосяного покриву)

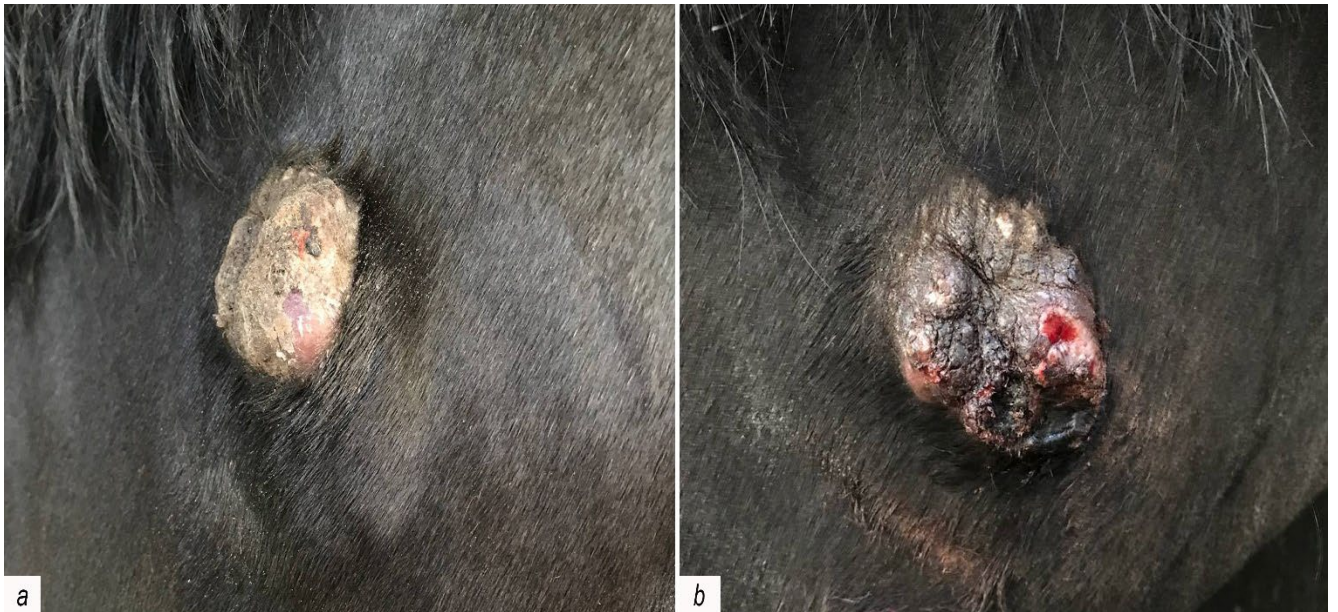


Рис. 3.13. Верукозний саркоїд коней: *a, b* – новоутворення, локалізоване у ділянці шиї з вогнищевою ульцерацією

Макроскопічно фібробластичний саркоїд у деяких коней локалізувався в ділянці зовнішньої грудної вени у вигляді новоутворення з широкою основою без вираженої ніжки, округло-видовженої форми, щільної консистенції з ознаками гіперкератозу, в діаметрі від 5 до 10 см (рис. 3.14). В інших коней у вигляді масивних округлих пухлин з вузкою основою (ніжкою) та виразковою поверхнею (рис. 3.15, 3.16), яка приваблювала комах.



Рис. 3.14. Фібробластичний саркоїд: *a* – великого розміру новоутворення, локалізоване в ділянці нижньої третини живота, з широкою основою, без шерстного покриву; *b* – вигляд саркоїду на розрізі: щільне утворення м'ясистого типу сіро-білого кольору

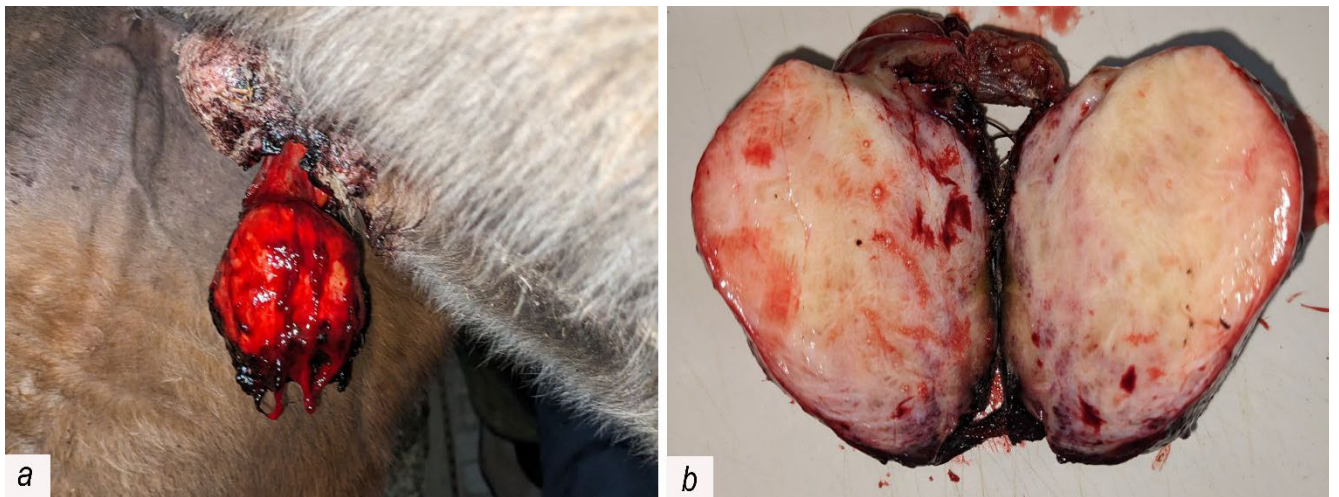


Рис. 3.15. Фібробластичний саркоїд: *a* – новоутворення на ніжці, локалізоване в ділянці паху з виразковою поверхнею, без шерстного покриву; *b* – вигляд саркоїду на розрізі: щільне утворення м'ясистого типу сіро-білого кольору

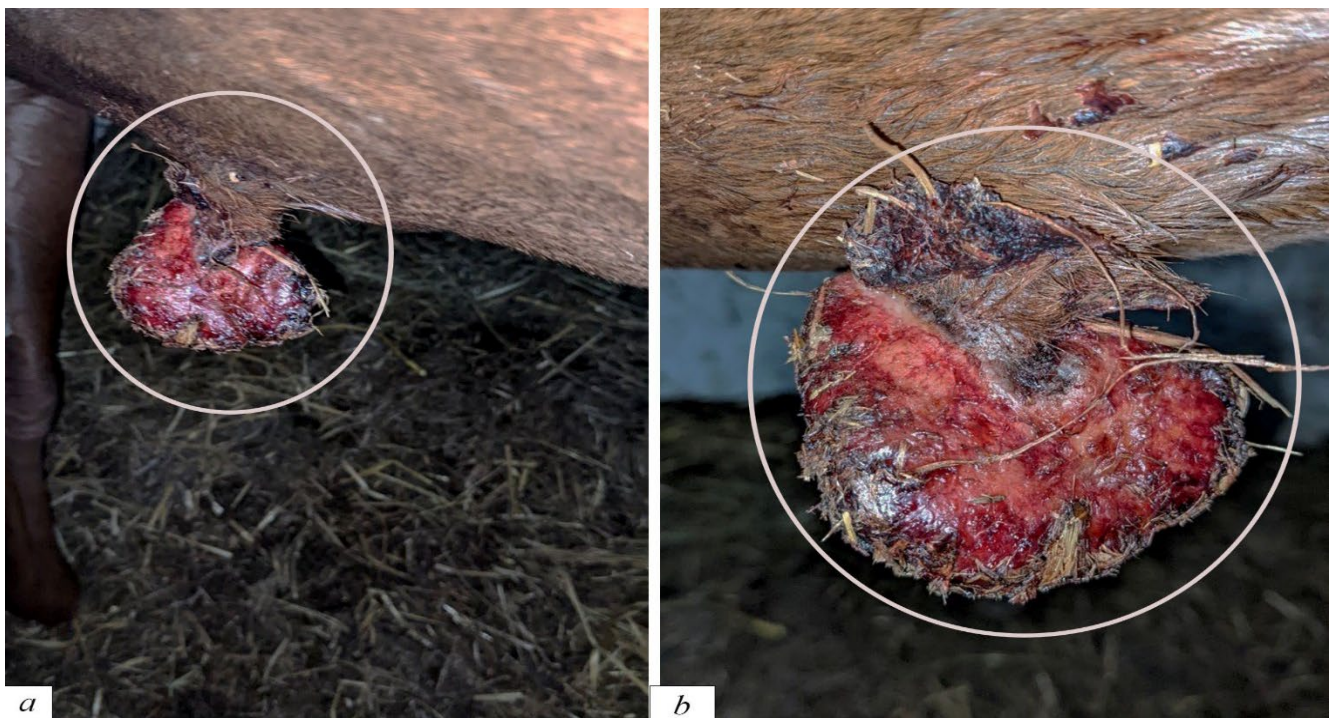


Рис. 3.16. Фібробластичний тип саркоїду: *a, b* – великих розмірів новоутворення на ніжці з виразковою поверхнею, розміщується на грудній стінці

При фібробластичному саркоїді уражались як елементи шкіри, так і підшкірної клітковини, що свідчить про значно агресивніший характер новоутворення. Фібробластичний саркоїд здебільшого швидко збільшувався і досягав великих розмірів за кілька тижнів чи місяців, особливо при контакті його зі збруєю. Фібробластичному саркоїду притаманна хороша васкуляризація, тому

навіть невеликі травми супроводжувалися сильною кровотечею (рис. 3.17, 3.18). Найбільші саркоїди цього типу утворювалися в результаті травматичних пошкоджень більш поверхневих форм пухлини, тоді як інші розвивалися на місці посттравматичних рубців.

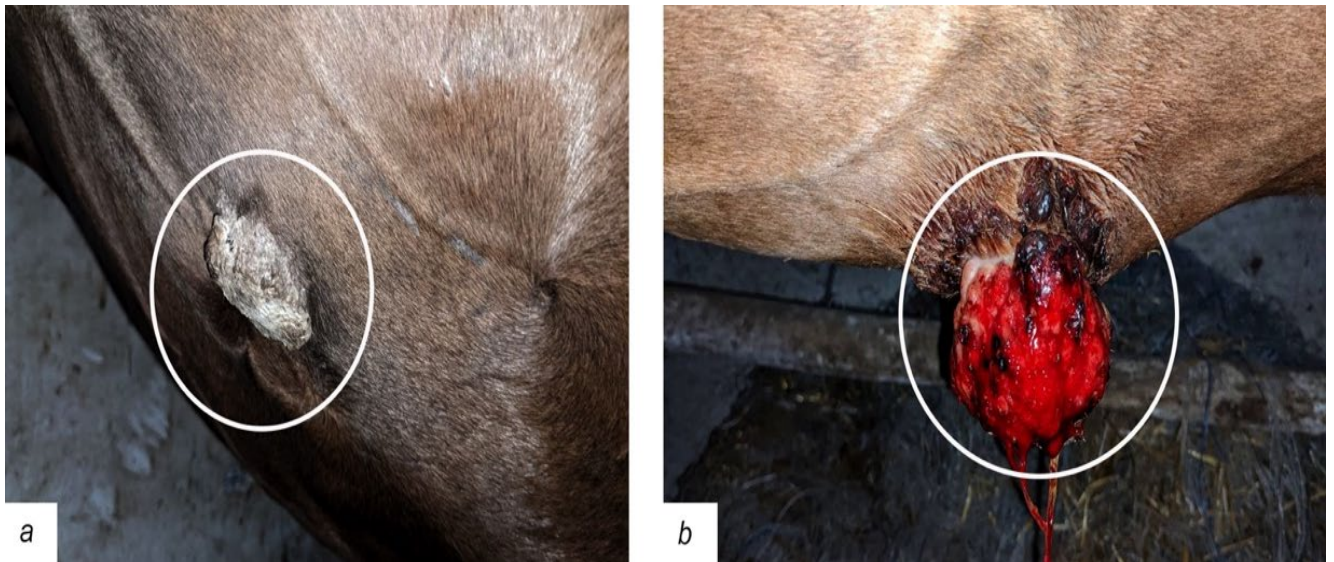


Рис. 3.17. Фібробластичний тип саркоїду: *a* – новоутворення з широкою основою без вираженої ніжки, округло-видовженої форми з ознаками гіперкератозу; *b* – масивне новоутворення з поверхнею, вкритою виразками



Рис. 3.18. Фібробластичний тип саркоїду: *a* – новоутворення в ділянці бічної грудної стінки з виразковою поверхнею, *b* – новоутворення в ділянці черевної стінки на ніжці

Слід відзначати, що після інтенсивного росту і досягнення певних розмірів фібробластичний саркоїд може на кілька років призупинити ріст. Проте, після періоду ремісії за деякий час відбувається різке погіршення. Зовнішній вигляд фібробластичного саркоїду іноді створює хибне враження поверхневого характеру такої пухлини і не дає чіткого уявлення про глибину ураження дермальних і субдермальних елементів (рис. 3.19, 3.20).



Рис. 3.19. Фібробластичний саркоїд: *a* – масивне новоутворення в ділянці білої лінії, *b* – новоутворення в ділянці паху

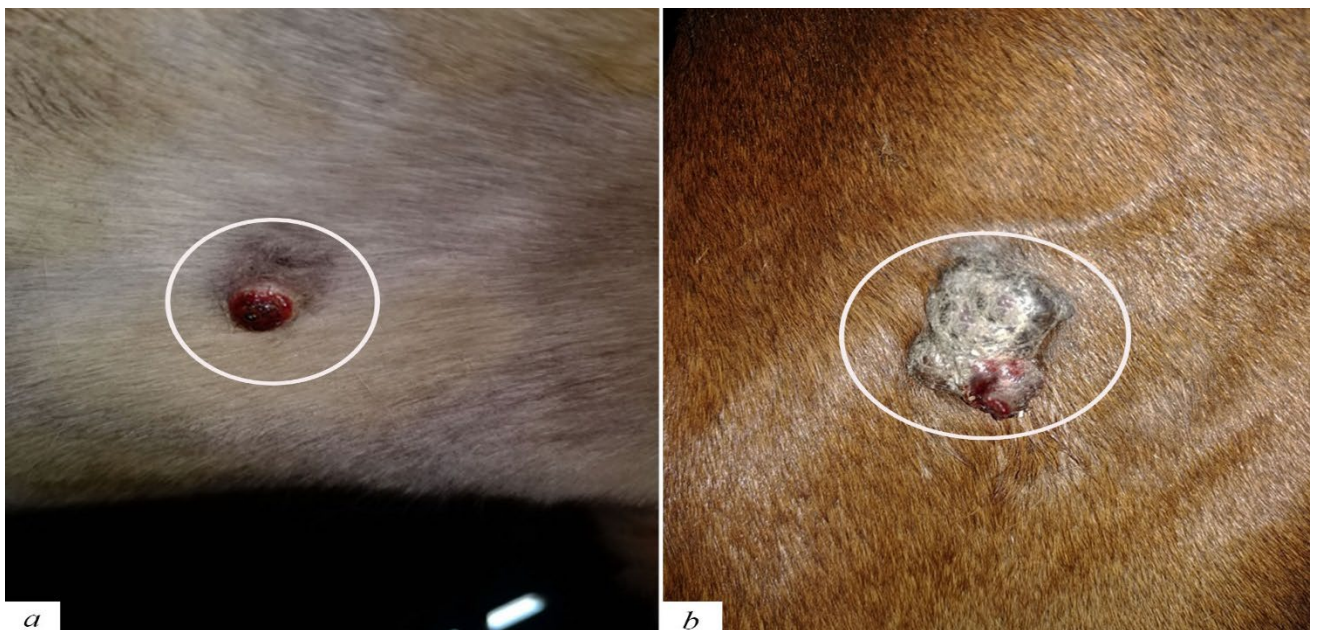


Рис. 3.20. Фібробластичний саркоїд: *a* – невеликих розмірів ульцеризуюче новоутворення на вентральній грудній стінці; *b* – фібробластичне ураження лицевої ділянки

Наприклад, фібробластичний саркоїд на губах призводив до ульceraції слизової оболонки внутрішньої поверхні щік. Спроби хірургічного видалення такого типу саркоїду, навіть із використанням методу кріохірургії, зазвичай призводило не лише до швидкого рецидиву, але й до появи більш агресивної, масивної, часто множинної пухлини.

Після оперативного видалення фібробластичного саркоїду досліджували його на розрізі. Новоутворення здебільшого були представлені щільною волокнистою тканиною, без капсули, еластичною, по периферії з вираженою масивною виразковою поверхнею (рис. 3.21).



Рис. 3.21. Макроскопічний вигляд фібробластичних саркоїдів на розрізі (*a, b*)

Змішаний саркоїд, переважно об'єднував у собі нодулярний, верукозний та фібробластичний, із переважаючими ознаками того чи іншого типу пухлини. Співвідношення таких специфічних ділянок широко варіювало, і, відповідно, ці саркоїди були представлені безліччю структурних варіантів. Вірогідно, вони відображали різноманітні стадії переходу від прихованого, верукозного чи вузликового до більш агресивного – фібробластичного типу (рис. 3.22).



Рис. 3.22. Змішаний саркоїд: *a* – верукозний тип (1), нодулярний тип (2); *b* – верукозний тип (1), фібробластичний тип (2)

Особливою агресивністю вирізняється відносно рідкісна злоякісна форма фібробластичного саркоїду, яка поширюється по ходу лімфатичних судин з утворенням вузлів і виразкових мас незрілої фібробластної тканини. Прогноз у таких випадках несприятливий. Упродовж періоду досліджень нам трапились тільки два випадки злоякісної форми саркоїду коней, які локалізувалися в ділянці грудної клітки вздовж грудної лімфатичної протоки та в ділянці припуця (рис. 3.23).

Таким чином, підсумовуючи результати наших моніторингових досліджень щодо поширення саркоїду коней та встановлення їх типів, можемо зазначити, що саркоїд має шість типів із різноманітною клініко-анатомічною картиною, але остаточну їх верифікацію слід проводити за допомогою патогістологічних досліджень. Найбільшу кількість уражень саркоїдом коней виявляли на грудній клітці вздовж зовнішньої грудної вени, на черевній стінці, в паху, на голові. Це, імовірно, пов'язано з їх механічним ушкодженням під час тренувань, стрижки, при подразненні шкіри збруєю, утворенні ран із стимуляцією росту пухлин.





Рис. 3.23. Злоякісний саркоїд: *a* – новоутворення в ділянці грудної клітки вздовж грудної лімфатичної протоки; *b* – новоутворення в ділянці припуція

У своїх дослідженнях ми проаналізували можливі шляхи передачі саркоїду від однієї тварини до іншої і прийшли до висновку, що більшість коней заражалися шляхом непрямой передачі вірусу від великої рогатої худоби, через спільне утримання коней у стайнях поруч з худобою, а також опосередковано через осіб, які доглядали за тваринами. Епізоотологічні дані щодо поширення саркоїду в спортивних коней, які утримувались у приватних конюшнях, де не було контакту з ВРХ підтвердили гіпотезу про роль комах як механічних переносників вірусу BPV.

Основною проблемою з саркоїдом у конярській практиці, з якою стикається більшість ветеринарних лікарів світу, є висока частота рецидивів після операції. У нашому дослідженні приблизно 20 % саркоїдних коней піддавались лікуванню (66 випадків), переважно видаленню змішаних, верукозних та фібробластичних саркоїдів. Клінічні параметри, які підвищували ризик рецидиву, це: великий розмір новоутворення та його локалізація у місцях, де неможливо було зробити висікання великого розміру.

Результати досліджень опубліковано у науковій праці:

Портенко М.П., Щербентовська О.М. (2023). [97, 102].

### 3.3. Гістологічна характеристика різних типів саркоїду коней

За гістологічного дослідження фрагментів шкіри навколо саркоїду встановлено незначний гіперкератоз. У сітчастому шарі дерми розміщувалися сальні залози типової морфологічної будови, які відкривались у канал волосяного фолікула (рис. 3.24). На мікропрепаратах з поперечним перерізом добре видно збережені стрижні волосу у волосяних фолікулах (рис. 3.25).

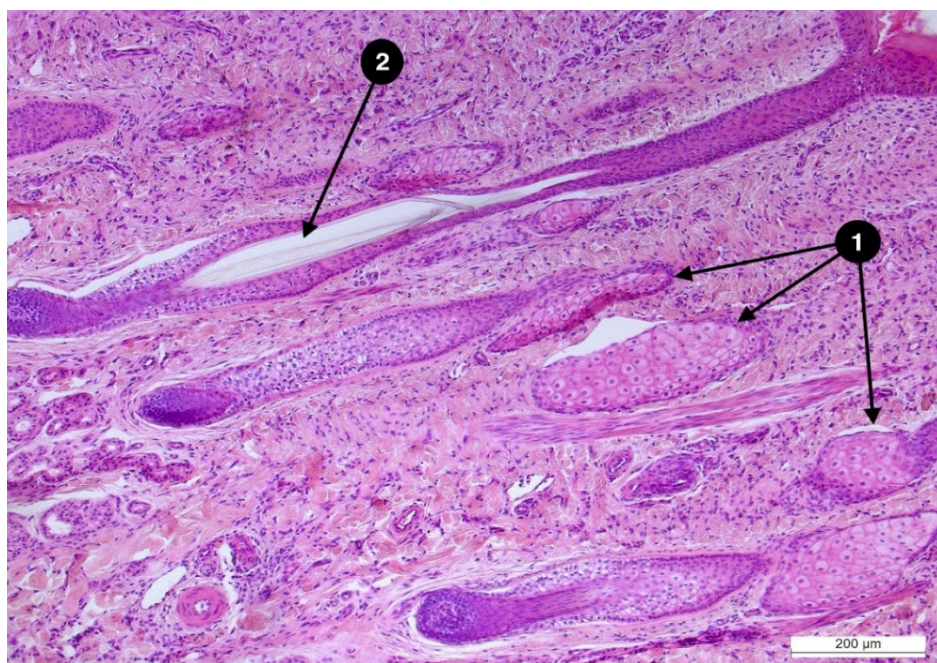


Рис. 3.24. Шкіра коня навколо саркоїду: сітчастий шар дерми з волосяною цибулиною та волосом (2), сальними залозами (1). Гематоксилін та еозин. х 100

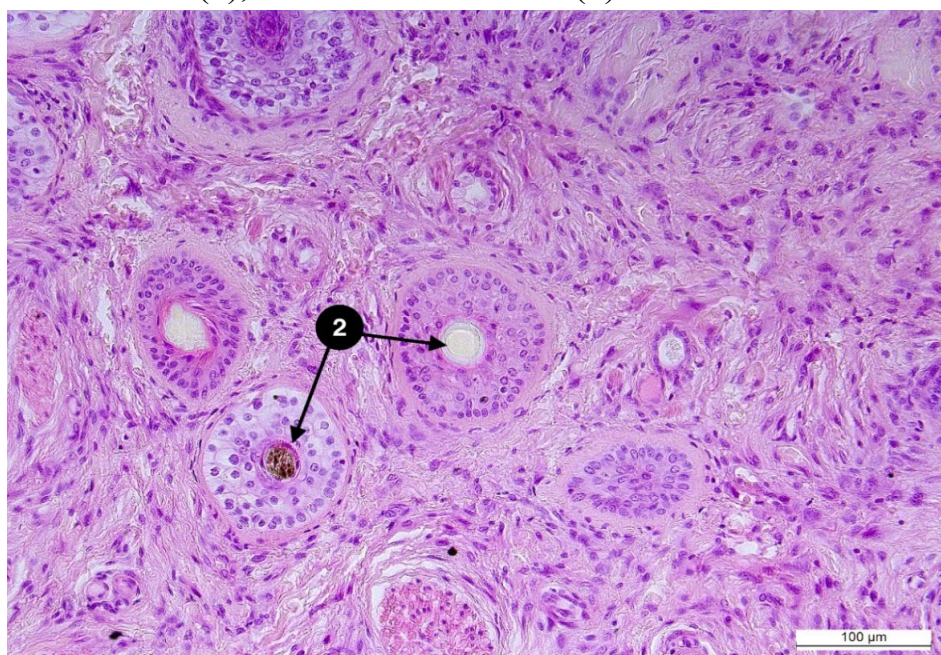


Рис. 3.25. Шкіра коня навколо саркоїду. Поперечний переріз дермального шару з волосяними фолікулами (2). Гематоксилін та еозин. х 200

Гістологічно межа між епідермісом та дермою у прихованому саркоїді нерівна, наявні численні пальцеподібні відростки епідермісу, що проникали глибоко в дерму, утворюючи значний акантоз (рис. 3.26–3.28). Роговий шар потовщений, базальні клітини базального шару циліндричної форми з видовженими ядрами, розміщувалися вертикально до лінії, що розділяє епідерміс і дерму. Відзначали гіперкератоз із видовженням та розширенням епідермальних сосочків. У місцях ороговіння зернистий шар відсутній.



Рис. 3.26. Прихований тип саркоїду. Гіперкератоз (1), виражений акантоз (2), дерма (3). Гематоксилін та еозин. х 100

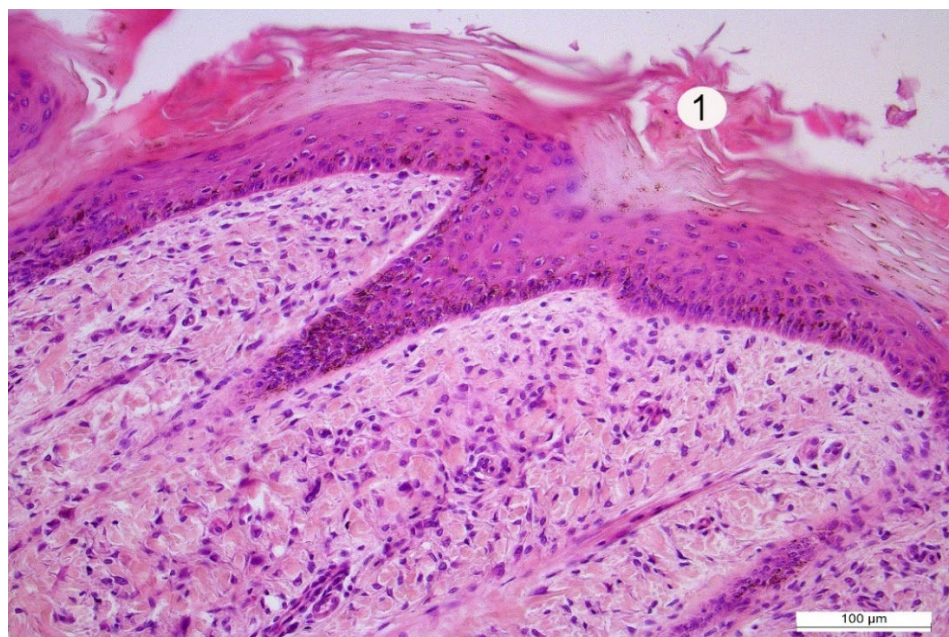


Рис. 3.27. Прихований тип саркоїду: гіперкератоз (1). Гематоксилін та еозин. х 200

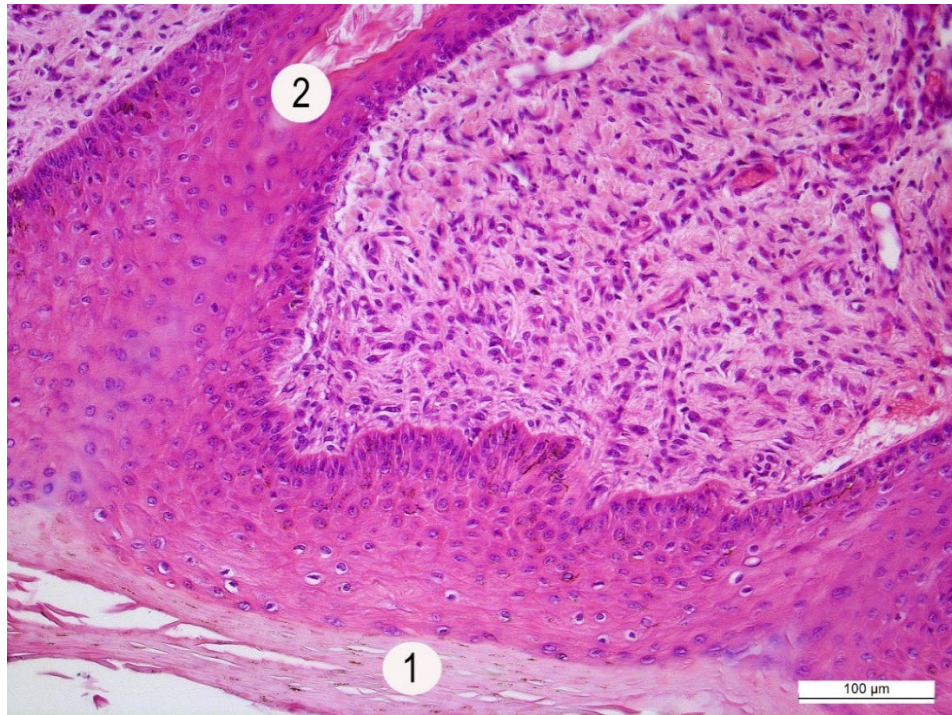


Рис. 3.28. Прихований тип саркоїду: гіперкератоз (1), акантоз (2).

Гематоксилін та еозин. х 200

За гістологічного дослідження верукозного саркоїду невеликих розмірів епідерміс був у стані гіперкератозу та акантозу (рис. 3.29). У саркоїдах, де макроскопічно візуалізувалась ульцерація поверхневих шарів шкіри гістологічно відзначали десквамацію епідермісу з утворенням значної кількості оксифільного детриту, розширеними капілярами та діapedезними крововиливами (рис. 3.30–3.32). Демаркаційна лінія слабовиражена.

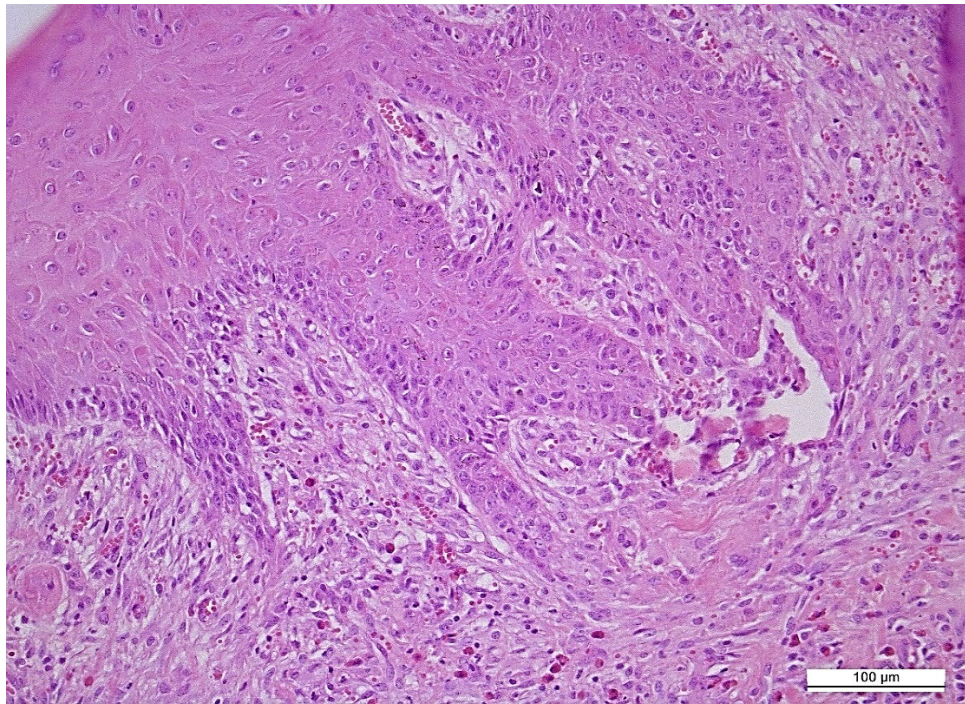


Рис. 3.29. Верукозний тип саркоїду: виражений акантоз.  
Гематоксилін та еозин. x100

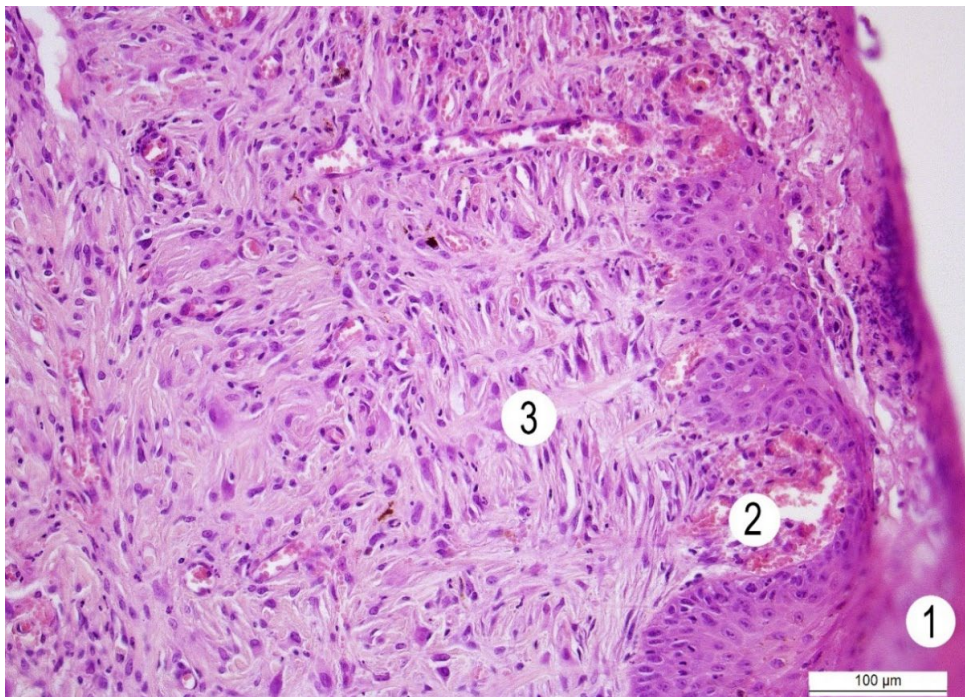


Рис. 3.30. Верукозний тип саркоїду: десквамація епідермісу (1), діapedезні крововиливи (2), формування фіброblastів перпендикулярно до базальної мембрани епідермісу у вигляді «штахетника» (3). Гематоксилін та еозин. x 200

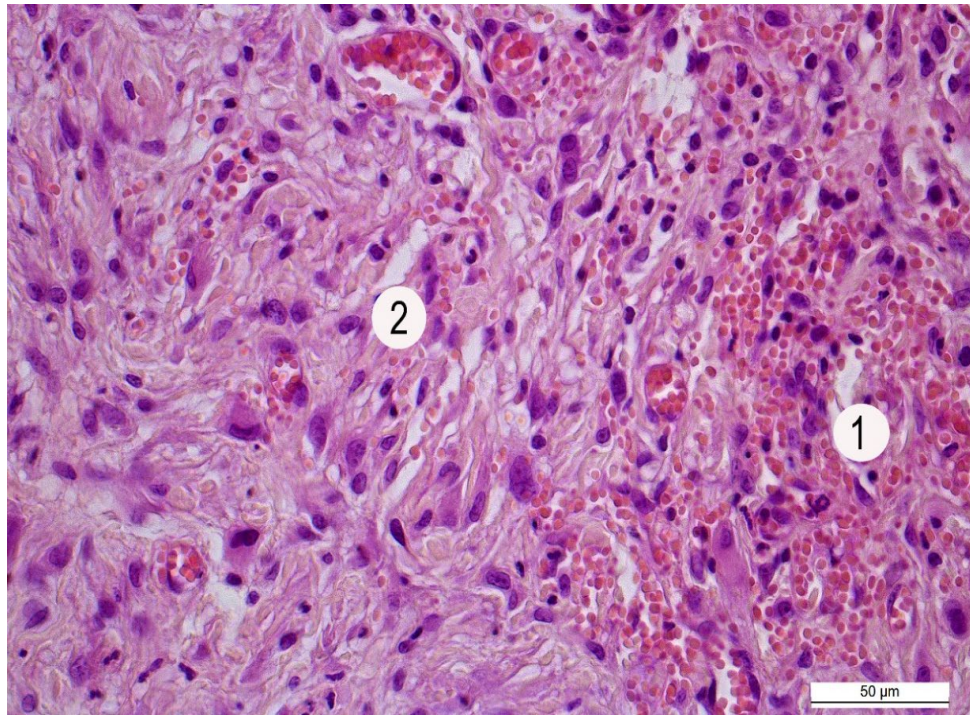


Рис. 3.31. Верукозний тип саркоїду: діapedезні крововиливи у дермі (1), розширені судини, утворення завитків із фібробластів у дермі (2).

Гематоксилін та еозин. х 400

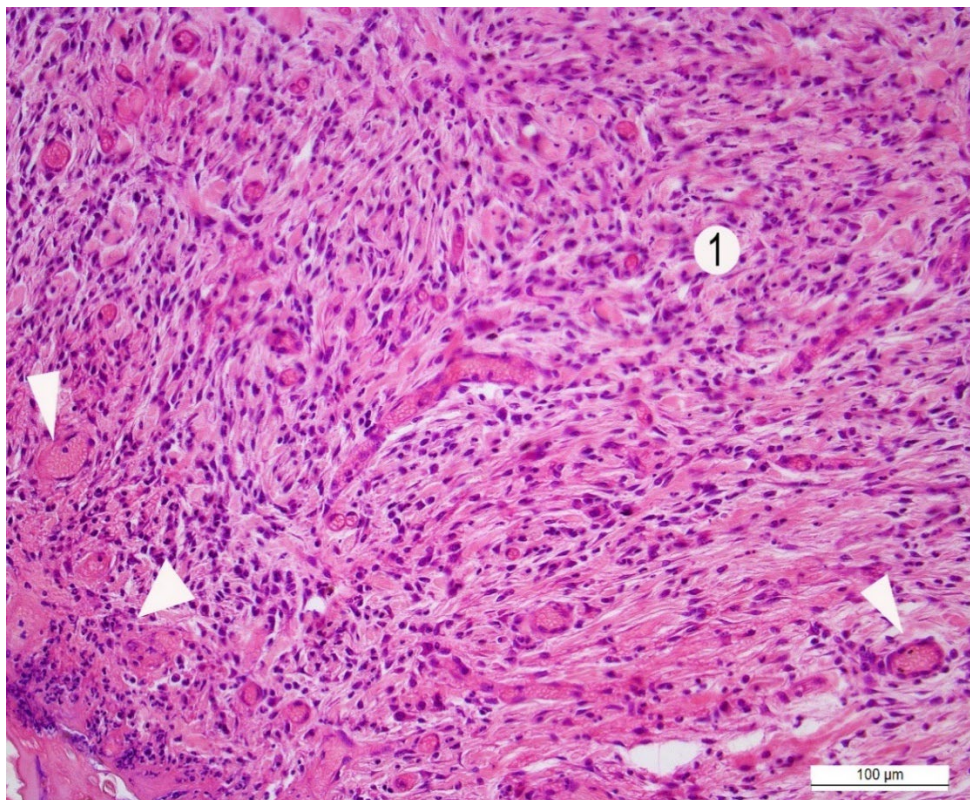


Рис. 3.32. Верукозний тип саркоїду: некробіоз епідермісу, розширені капіляри, переповнені кров'ю (стрілки). Гематоксилін та еозин. х 200

У місцях некробіозу наявна значна кількість лімфоепітеліальних елементів, сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів та активованих макрофагів (рис. 3.33, 3.34) без вираженої демаркаційної лінії (рис. 3.35).

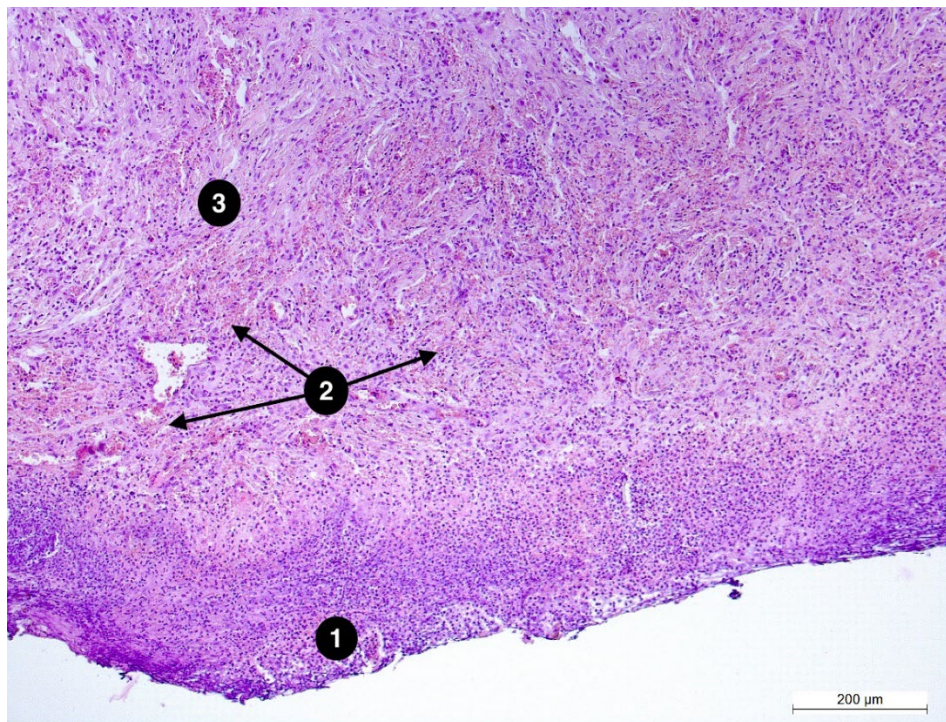


Рис. 3.33. Фібробластичний тип саркоїду: десквамація епідермального шару (1), розширення та кровонаповнення капілярів (2), вогнища атипового розростання фібробластичних клітинних елементів (3). Гематоксилін та еозин. x 100

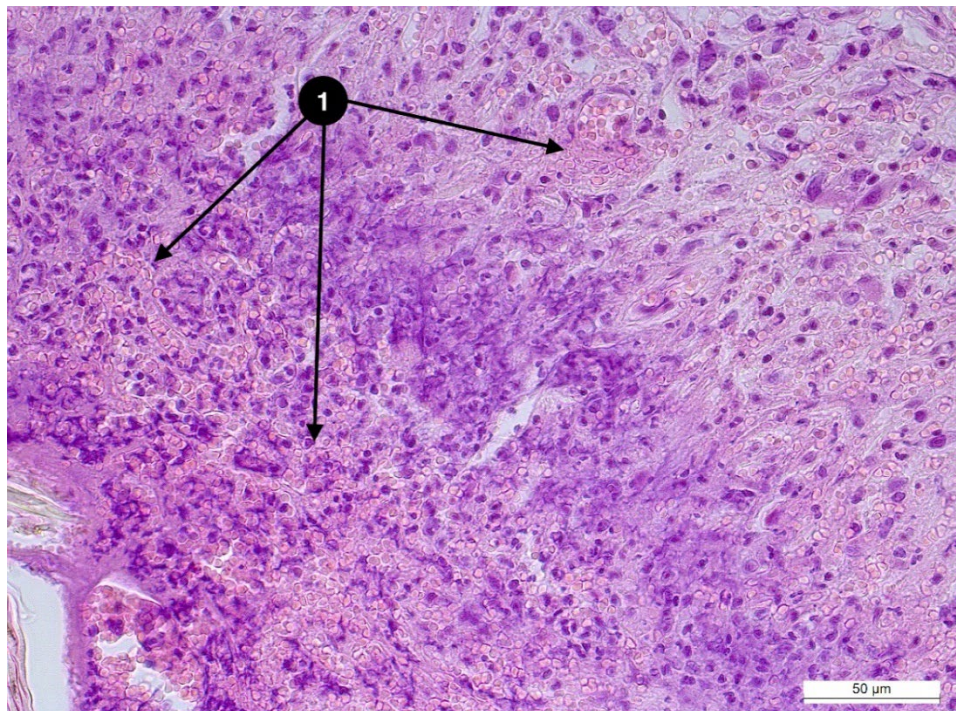


Рис. 3.34. Фібробластичний тип саркоїду: клітинна інфільтрація з крововиливами у перитумурозному епідермальному шарі, розширені та переповнені кров'ю капіляри (1). Гематоксилін та еозин. x 400

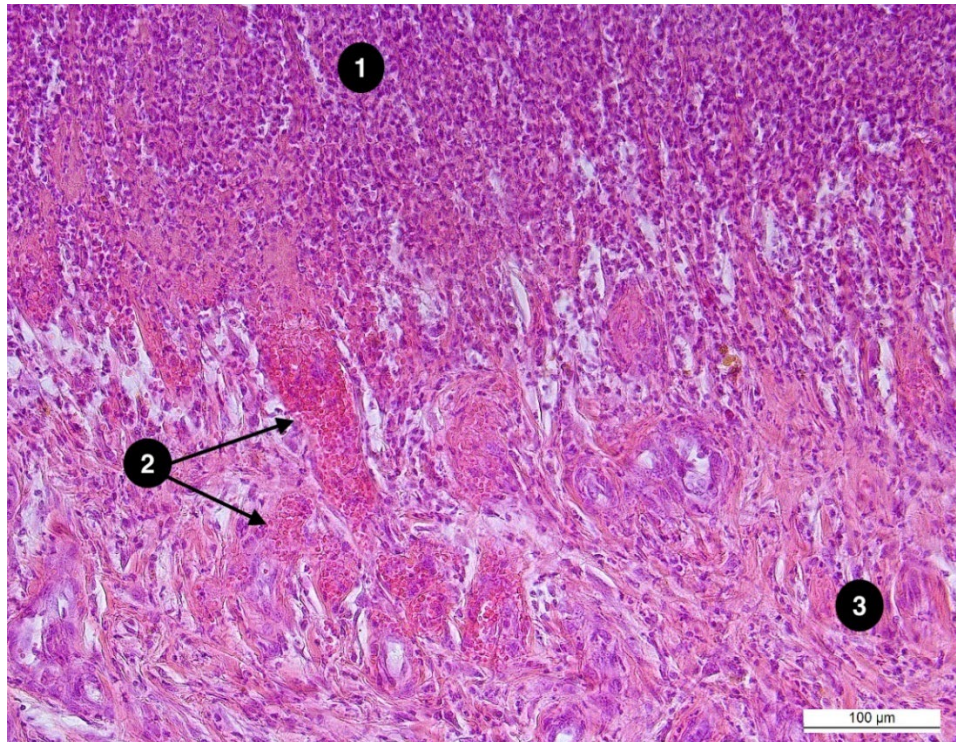


Рис. 3.35. Фібробластичний тип саркоїду: лімфоцитарна інфільтрація з крововиливами без вираженої демаркаційної лінії (1), розширені та переповнені кров'ю судини (2), субдермальне хаотичне розміщення грубих волокон (3). Гематоксилін та еозин. х 200

Однією з характерних ознак фібробластичного типу саркоїду є заміщення пухкої сполучної тканини сосочкового шару дерми грубими колагеновими волокнами, які зазвичай формують перпендикулярні до базальної мембрани епідермісу утворення з фібробластів у вигляді «штахетника» (рис. 3.36).

Анізокаріоз та анізоцитоз фібробластів помірно виражені. Межі між сосочковим та сітчастим шаром дерми не візуалізуються. Субдермально та інтрадермально відзначали хаотичне розміщення колагенових волокон, які утворювали значну кількість щільних завитків – муарових структур, які розміщувалися навколо судин різного калібру (рис. 3.37, 3.38). Судини розширені, васкуляризація значна, анізокаріоз та анізоцитоз туморозних елементів виражений помірно. Ріст новоутворення, зазвичай, інфільтративно-інвазивний. Фіброласти та фіброцити з гіперхромними ядрами локалізувалися здебільшого в глибоких шарах дерми (рис. 3.39, 3.40). Наявні як типові, так і нетипові мітотичні фігури.



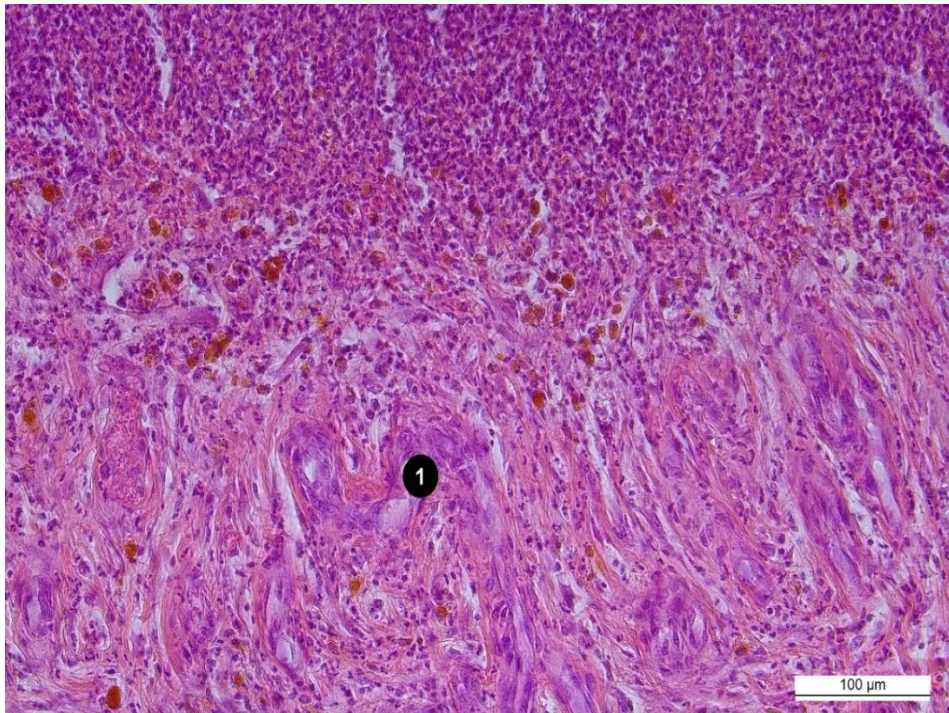


Рис. 3.36. Фібробластичний тип саркоїду: колагенові волокна, які формують перпендикулярні до базальної мембрани епідермісу утворення з фібробластів у вигляді «штахетника» (1). Гематоксилін та еозин. x 200

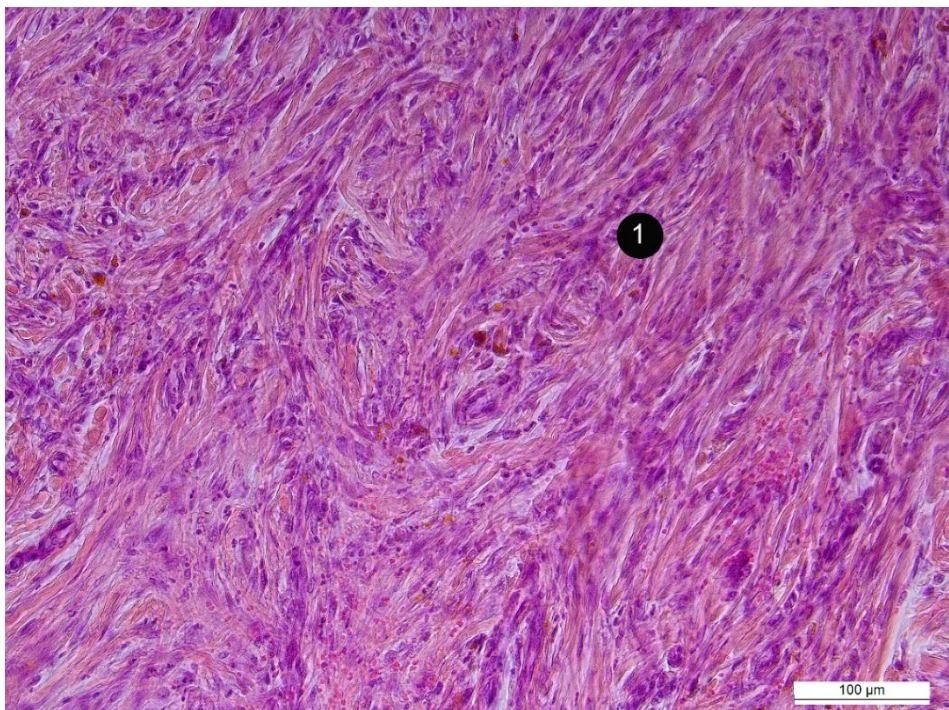


Рис. 3.37. Фібробластичний тип саркоїду: веретеноподібні неопластичні клітини в глибоких шарах дерми з гіперхромними ядрами, які утворюють муарові фігури (1). Гематоксилін і еозин. x 200

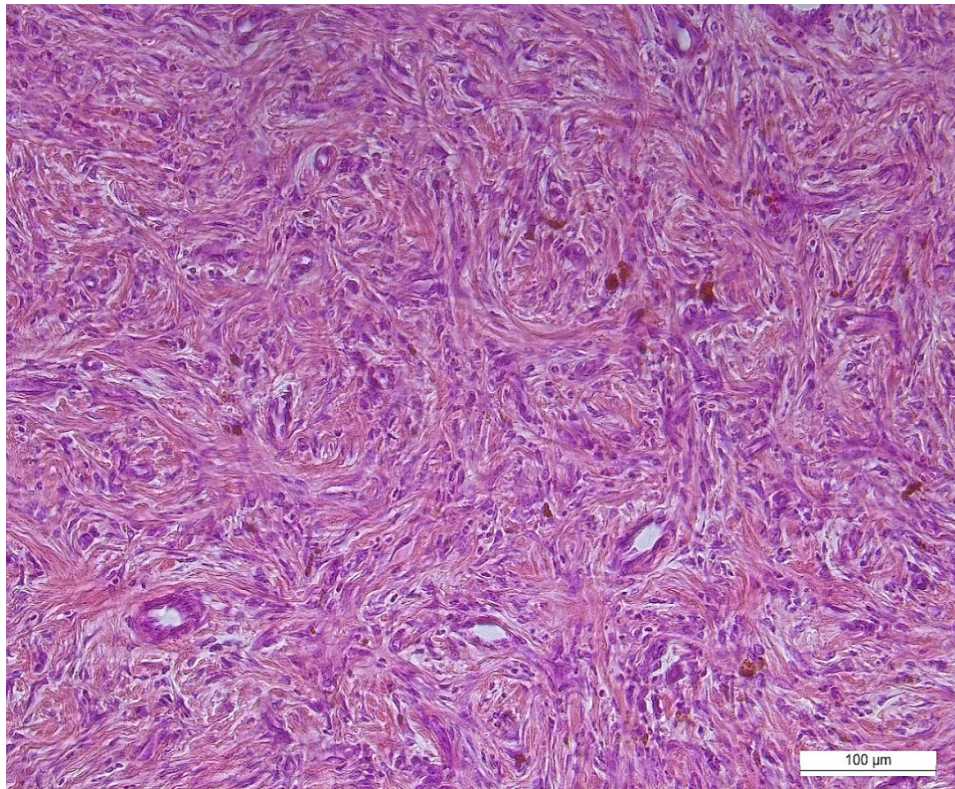


Рис. 3.38. Фібробластичний тип саркоїду: муарові фігури з фібробластів у глибоких шарах дерми. Гематоксилін та еозин. х 200

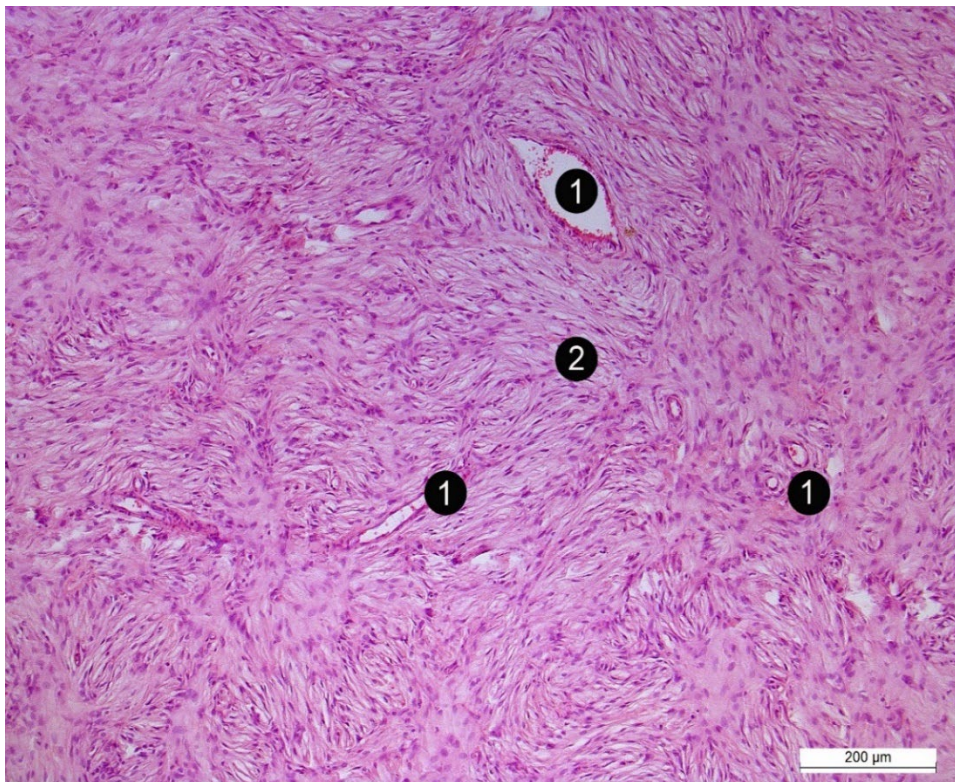


Рис. 3.39. Фібробластичний тип саркоїду: утворення щільних завитків із фібробластів у дермі (2), судини різного калібру (1). Гематоксилін та еозин. х 100

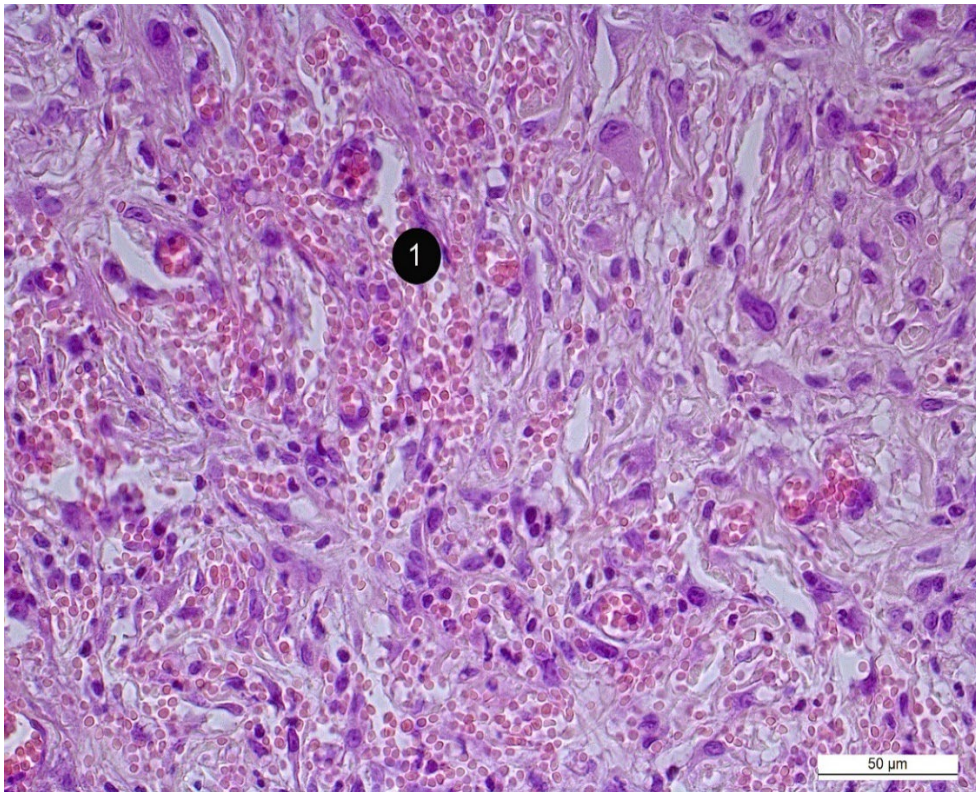


Рис. 3.40. Фібробластичний тип саркоїду: розширені та переповнені кров'ю судини (1); веретеноподібні неопластичні клітини в глибоких шарах дерми з гіперхромними ядрами, які утворюють муарові фігури. Гематоксилін та еозин. x 400

При фарбуванні пікрофуксином за методом Ван-Гізона встановлено, що строма новоутворення, в основному, представлена грубими волокнами, які забарвлювалися в яскраво-червоний колір та зірчастими фібробластами (рис. 3.41). Ядра клітин темно-коричневого кольору, видовжено овальної форми, клітинний атипізм виражений. У субдермальному шарі фібробласти розмішувалися переважно перпендикулярно базальній мембрані у вигляді тяжів (рис. 3.42), тоді як інтрадермально відзначали більшу щільність колагенових волокон, які перепліталися між собою у вигляді муару (рис. 3.43, 3.44). Кількість колагенового матриксу в фібробластичному саркоїді варіабельна: від мінімального до значного, що зумовлювало макроскопічну структуру новоутворення (3.43, 3.44). У більшості досліджуваних саркоїдів колагенові волокна займали основну масу новоутворення, інтрадермально утворюючи щільні масивні конгломерати.

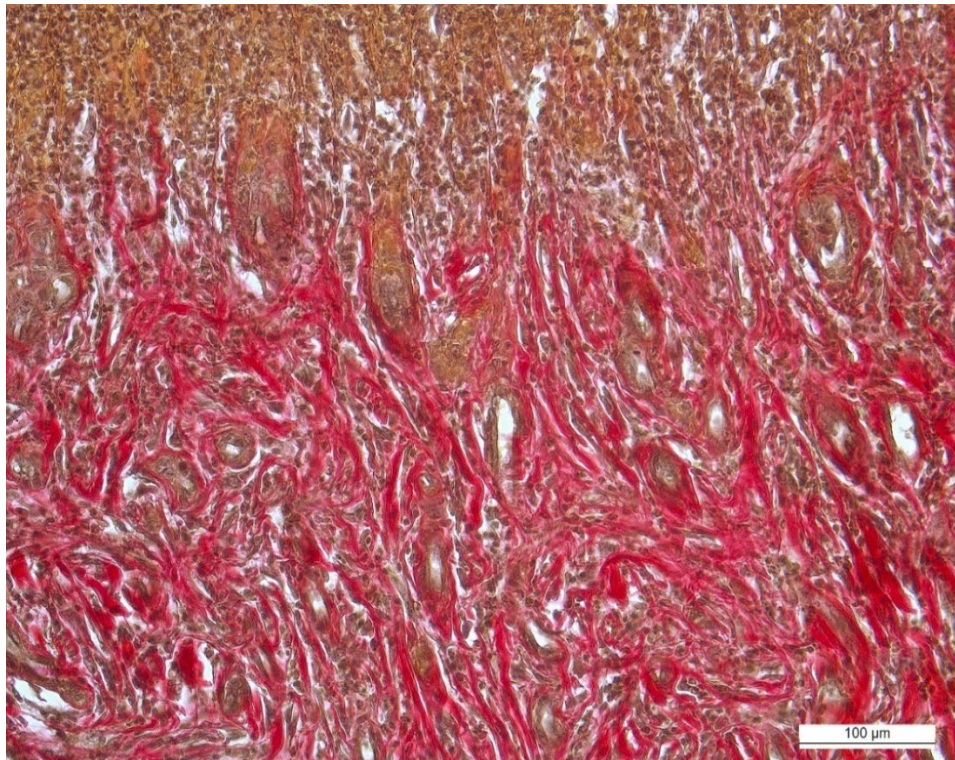


Рис. 3.41. Фібробластичний тип саркоїду: клітинна інфільтрація, грубі веретеноподібні колагенові волокна, що розміщуються у вигляді «штахетника». Фарбування за Ван-Гізоном. х 200

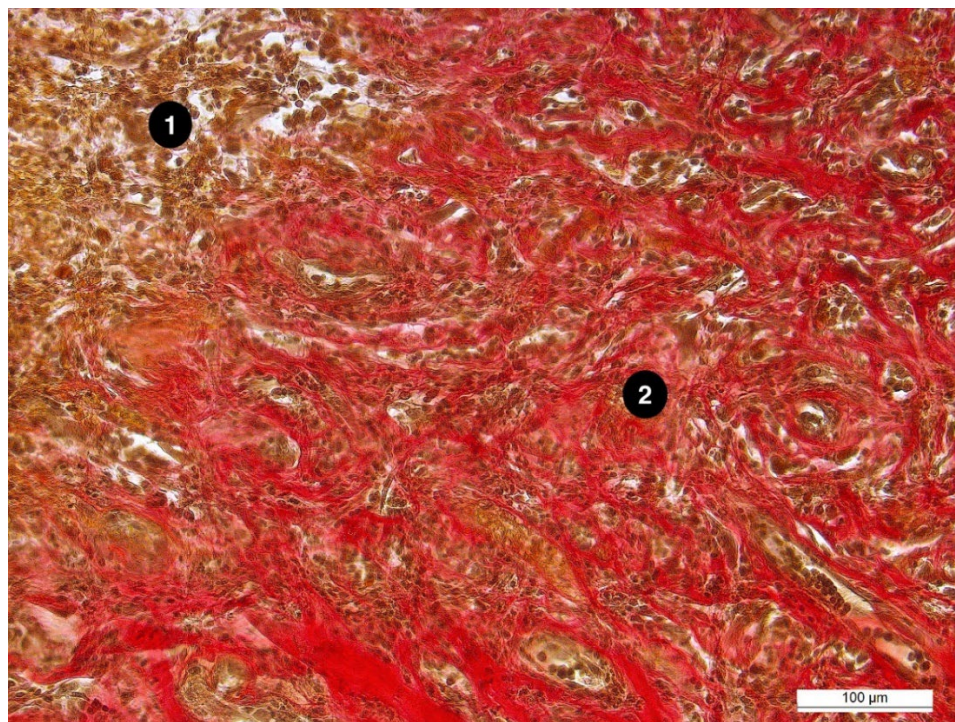


Рис. 3.42. Фібробластичний тип саркоїду. Клітинна інфільтрація (1), інтенсивна васкуляризація, веретеноподібні колагенові волокна (2), що розміщуються у вигляді тяжів. Фарбування за Ван-Гізоном. х 200

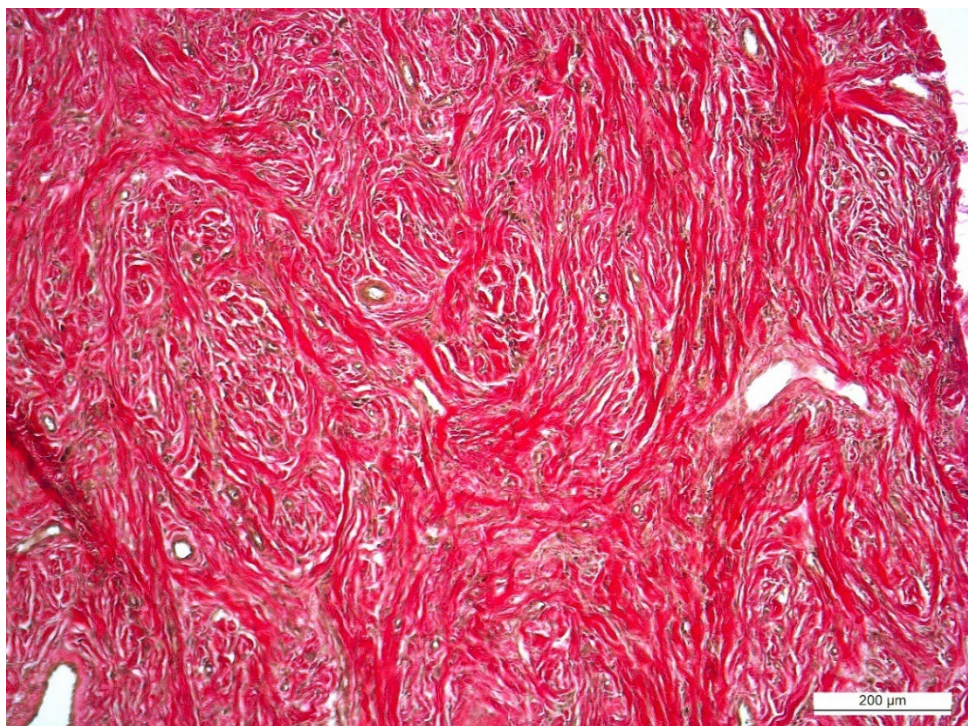


Рис. 3.43. Фібробластичний тип саркоїду: інтрадермальне розміщення грубих колагенових волокон у вигляді пучків, які переплітаються між собою за типом муарів. Фарбування за Ван-Гізоном. х 100

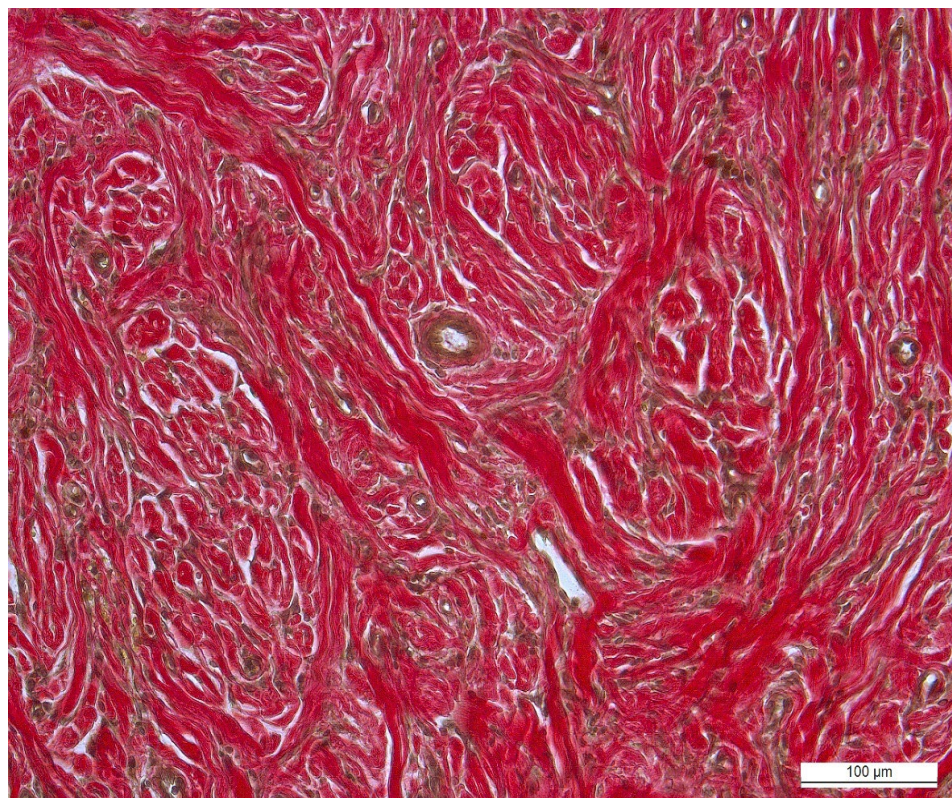


Рис. 3.44. Фібробластичний тип саркоїду: грубі колагенові волокна, які формують муарові структури. Фарбування за Ван-Гізоном. х 200

Досліджені нами різні типи саркоїду показали типові морфологічні зміни в епідермальному та дермальному шарах, а саме: гіперкератоз та акантоз. Субепідермально відзначалась проліферація грубих веретеноподібних колагенових волокон, які при фарбуванні за Ван-Гізоном набували яскраво-червоного кольору, що ідентифікувало їх як зрілий колаген 1 типу.

Для виявлення еластичних волокон у досліджуваних новоутвореннях шкіри коней застосовували метод фарбування резорцин-фуксином за Вейгертом. Установлено, що в структурі досліджуваних фібробластичних саркоїдів еластичних волокон не виявлено (рис. 3.45–3.47).

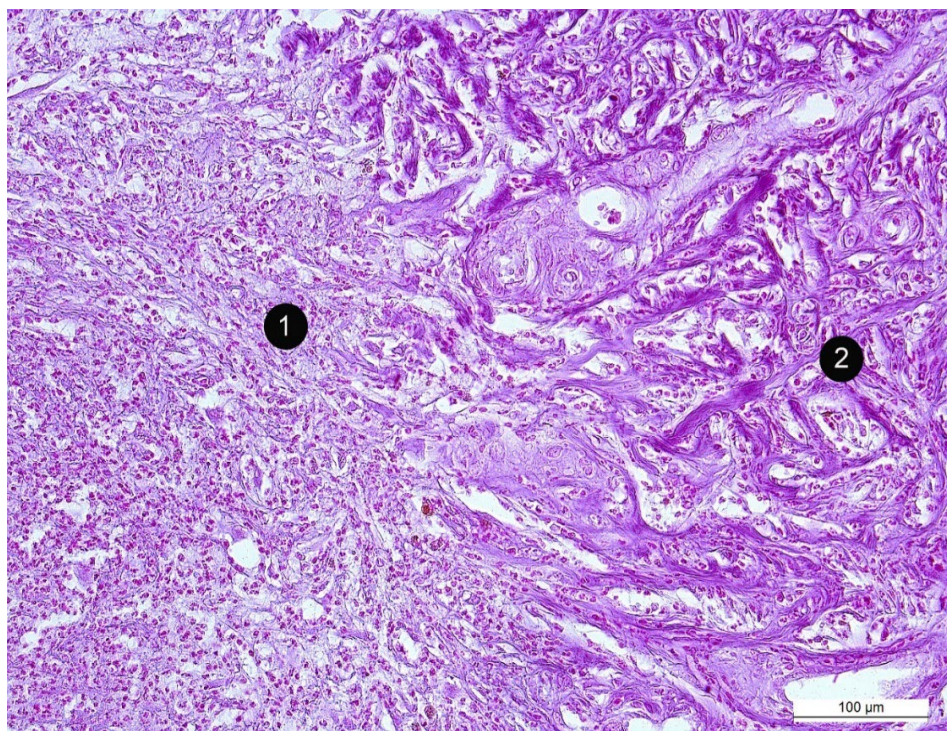


Рис. 3.45. Фібробластичний тип саркоїду: клітинна інфільтрація (1). Відсутність еластичних волокон між грубими колагеновими волокнами (2), які хаотично переплітаються між собою. Резорцин-фуксин за Вейгертом. x 200

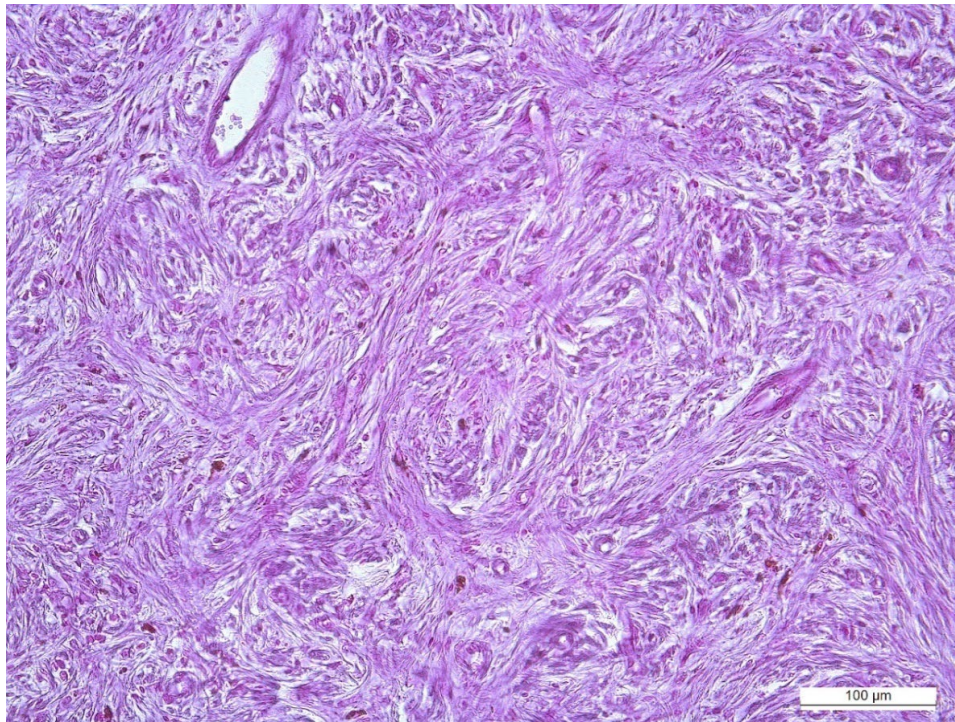


Рис. 3.46. Фібробластичний саркоїд: відсутність еластичних волокон між колагеновими, які утворюють муарові структури. Резорцин-фуксин за Вейгертом. x 200

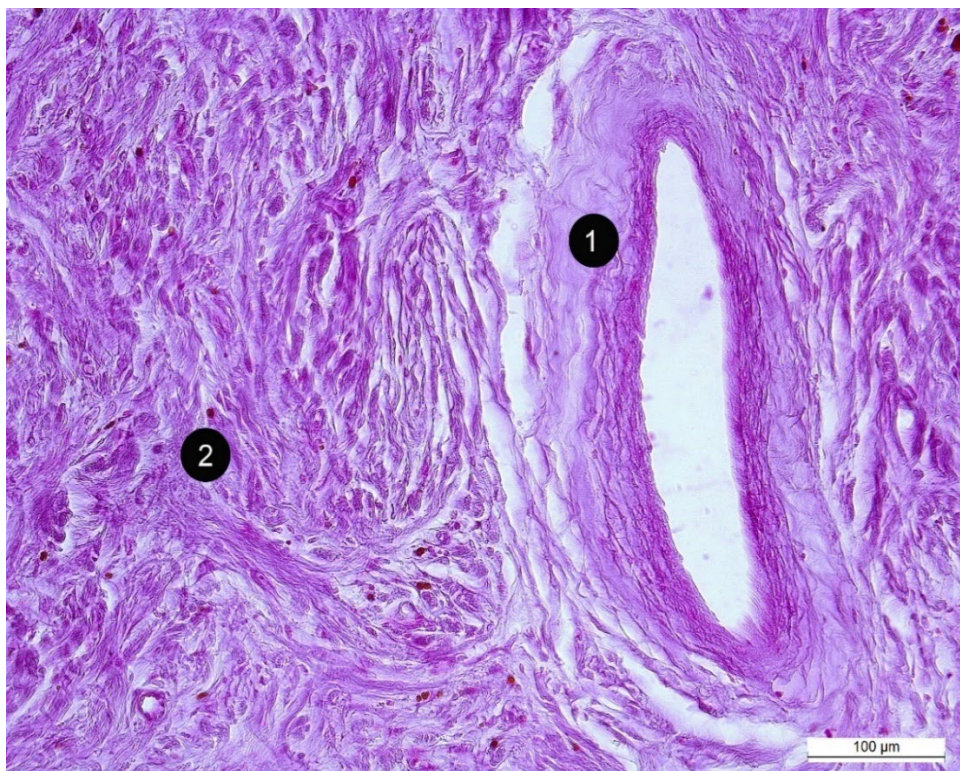


Рис. 3.47. Фібробластичний саркоїд: пучки колагенових волокон (2), які хаотично розміщуються навколо судин (1). Резорцин-фуксин за Вейгертом. x 200

При забарвленні верукозного саркоїду за методом Гейденгайна було встановлено виражений акантоз (рис. 3.48), значну кількість інтенсивно забарвлених у темно-синій колір колагенових волокон I та III типу (рис. 3.49, 3.50). Також у ділянці ушкодження поверхневих шарів епідермісу візуалізувалися розростання грануляційної тканини з інтенсивним утворенням колагену I та III типу.

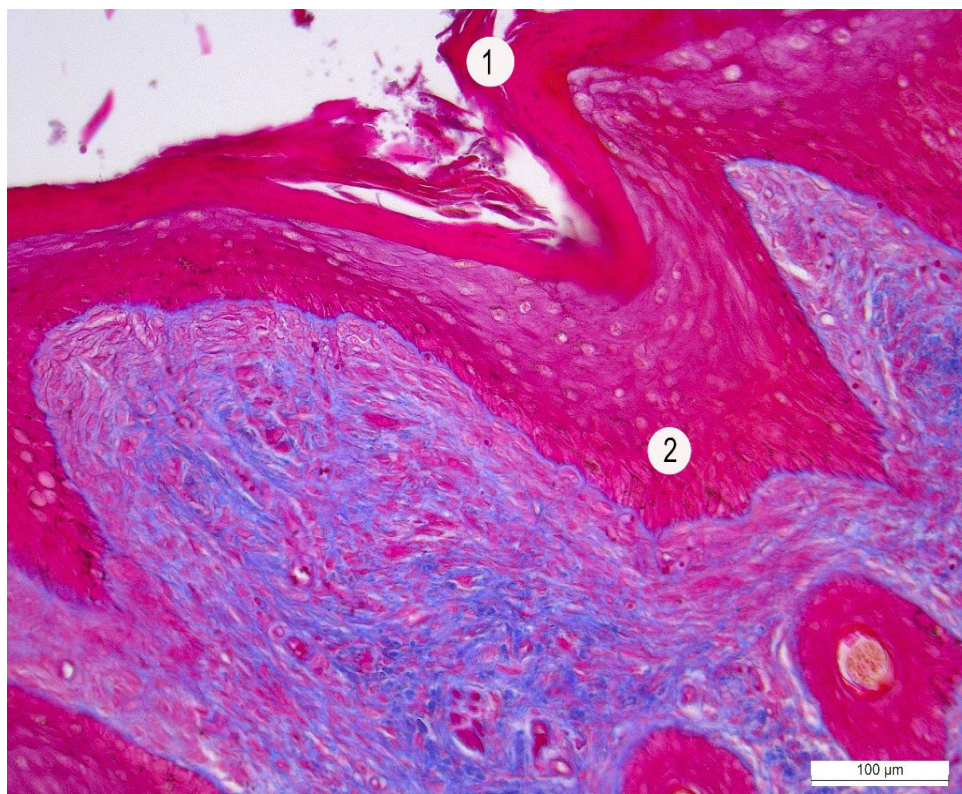


Рис. 3.48. Верукозний тип саркоїду. Гіперкератоз (1), акантоз (2). Фарбування азаном за Гейденгайном. х 200

За фібробластичного саркоїду поверхня грануляційної тканини була оточена масивним пластом з десквамованих клітинних елементів та детритом (рис. 3.51). Відмічено значну васкуляризацію та утворення гігантських химерних клітин з яскраво вираженим анізоцитозом та анізокаріозом (3.52, 3.53).



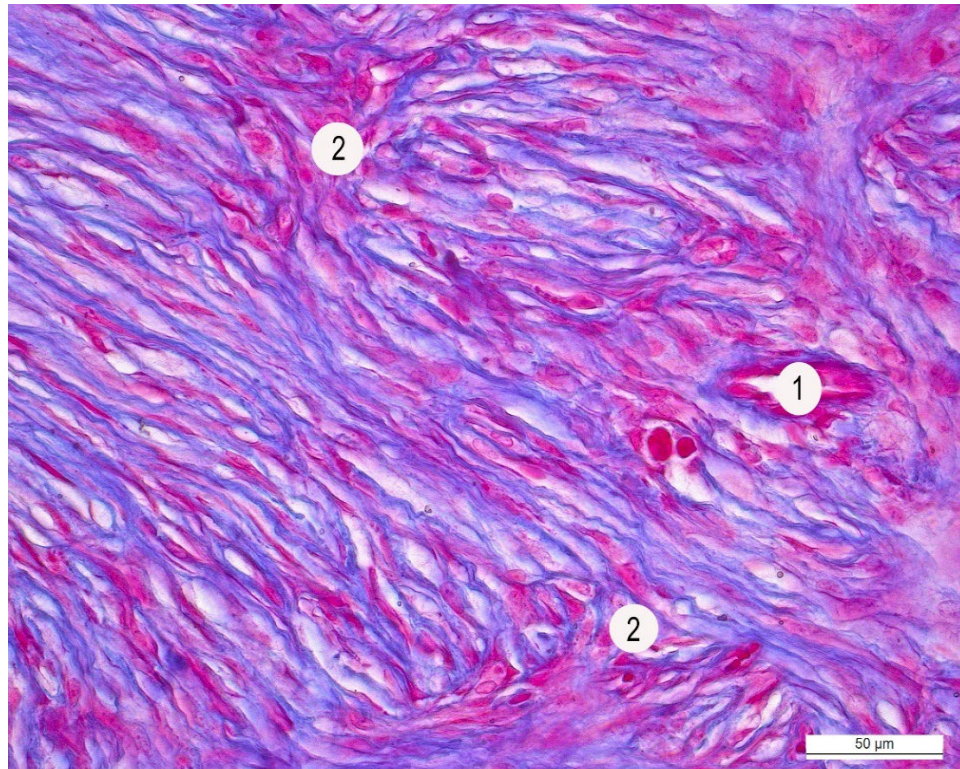


Рис. 3.49. Фібробластичний тип саркоїду. Гемокапіляр (1), муарові структури, утворені колагеном I та III типів (2). Фарбування азаном за Гейденгайном. х 400

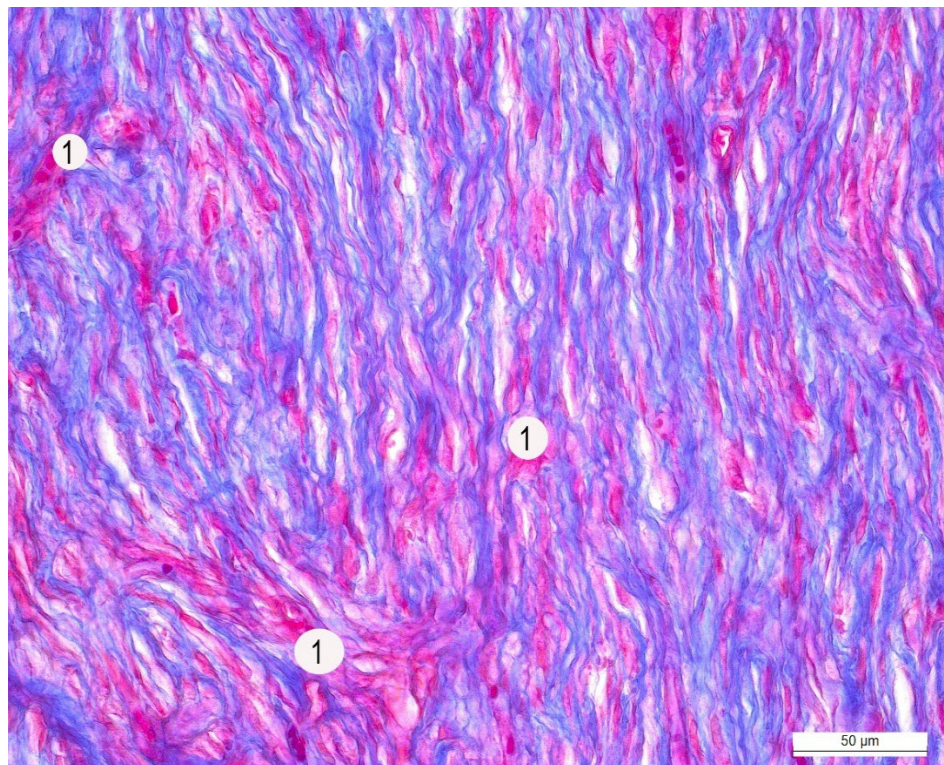


Рис. 3.50. Фібробластичний тип саркоїду. Ядерний хроматин фібробластичних клітин (1), колаген I та III типу. Фарбування азаном за Гейденгайном. х 400

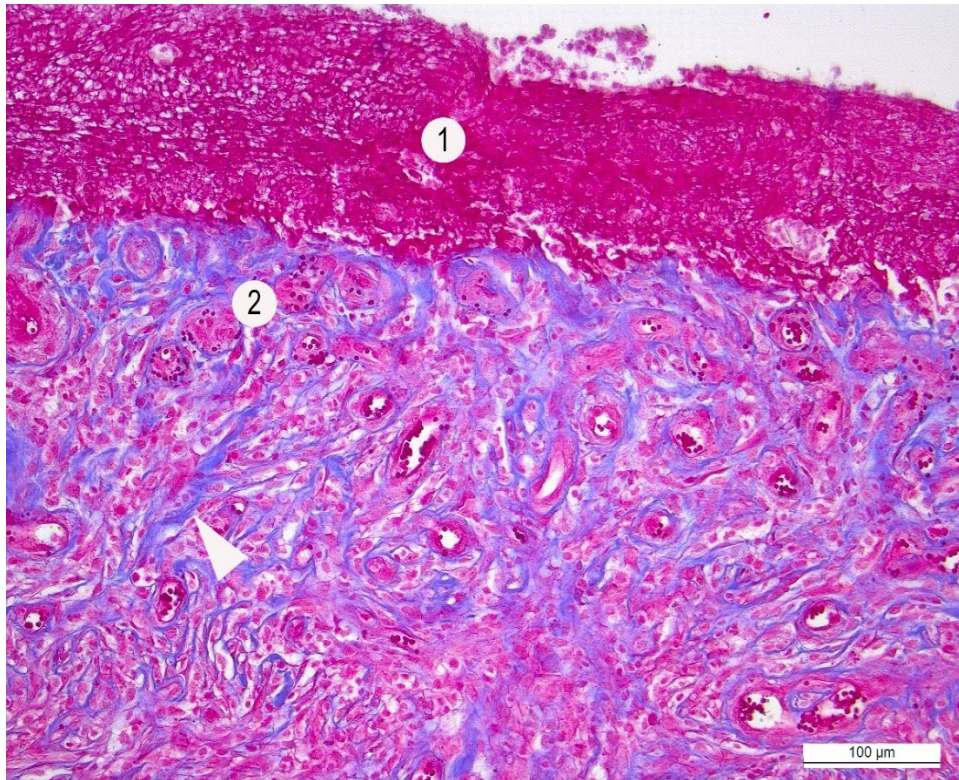


Рис. 3.51. Фібробластичний тип саркоїду. Клітинний детрит (1), поверхня новоутворення з яскраво вираженими ознаками грануляції (2), колаген I і III типу. Фарбування азаном за Гейденгайном. x 200

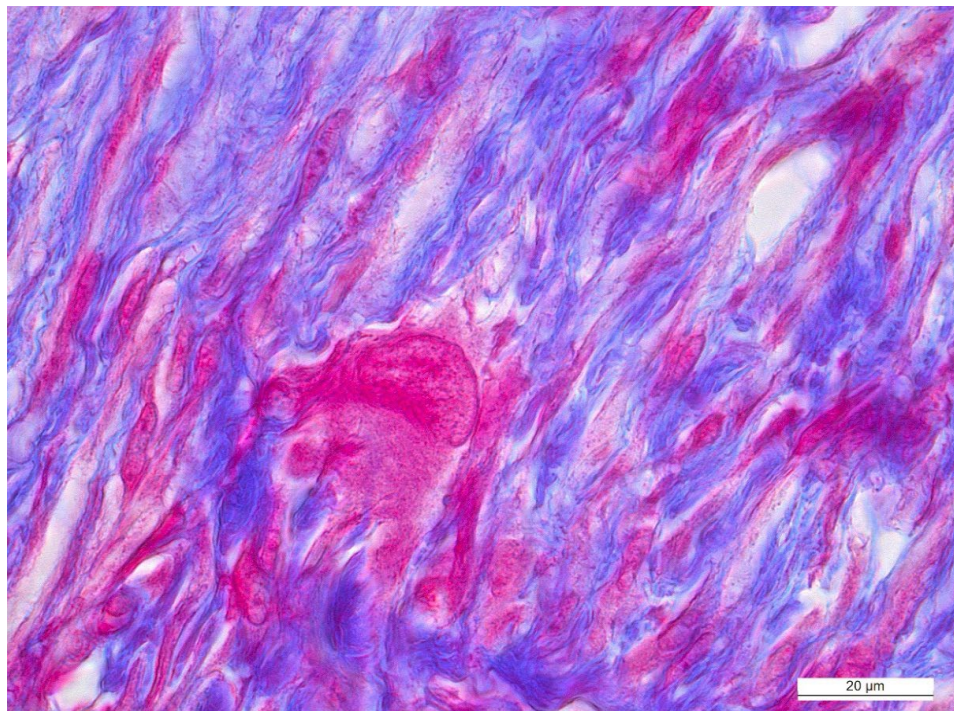


Рис. 3.52. Фібробластичний саркоїд. Значно виражений клітинний атипізм, що проявляється в утворенні гігантських химерних клітин. Фарбування азаном за Гейденгайном. x 1000

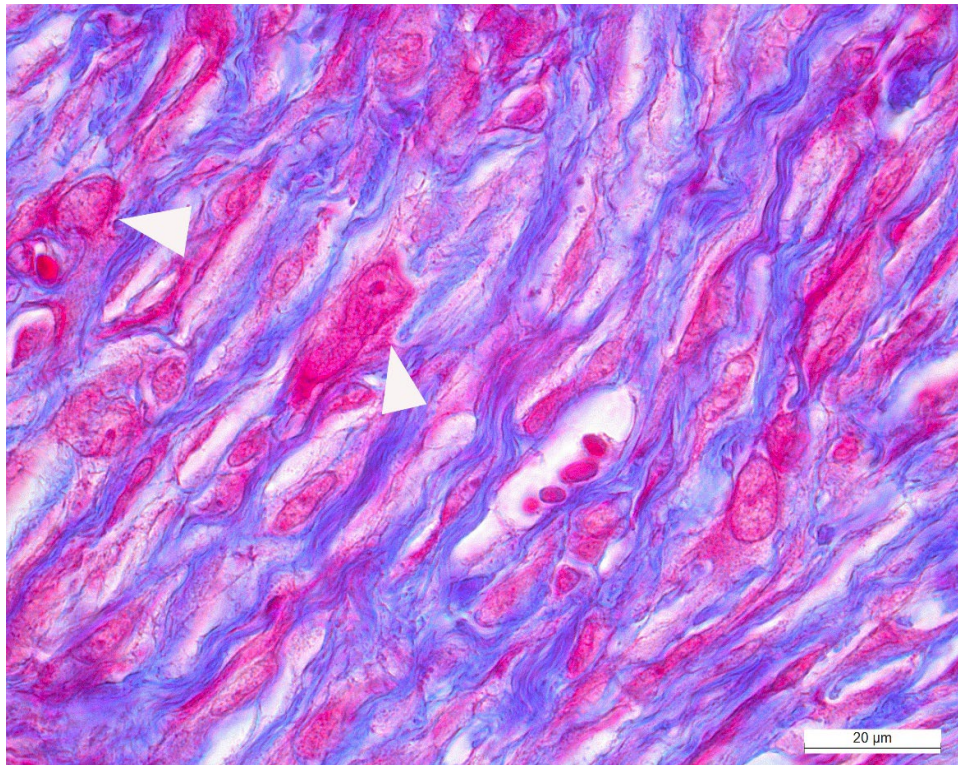


Рис. 3.53. Фібробластичний саркоїд. Атипові фібробласти з вираженим анізокаріозом та анізоцитозом (стрілки). Фарбування азаном за Гейденгайном. x 1000

#### 3.4. Гістохімічна характеристика фібробластичного типу саркоїду

Інтрадермально, крім грубих колагенових волокон I типу (зрілий колаген), у фібробластичному саркоїді виявляли тонші волокна, які при фарбуванні за методом Гоморі PAMS забарвлювалися у чорний колір, що дало нам змогу ідентифікувати їх як ретикулярні волокна.

Значна кількість ретикулярних волокон характерна для дермального шару шкіри, де вони забезпечують її міцність (рис. 3.54). Наявність значної кількості ретикулярних волокон на поверхні новоутворення свідчить про незрілість тканини, оскільки значна їх кількість притаманна незрілим тканинам, тобто ретикулярні волокна першими утворюють каркас та виконують підтримувальну функцію (рис. 3.55). З подальшою диференціацією тканини вони заміщуються колагеновими волокнами I типу.

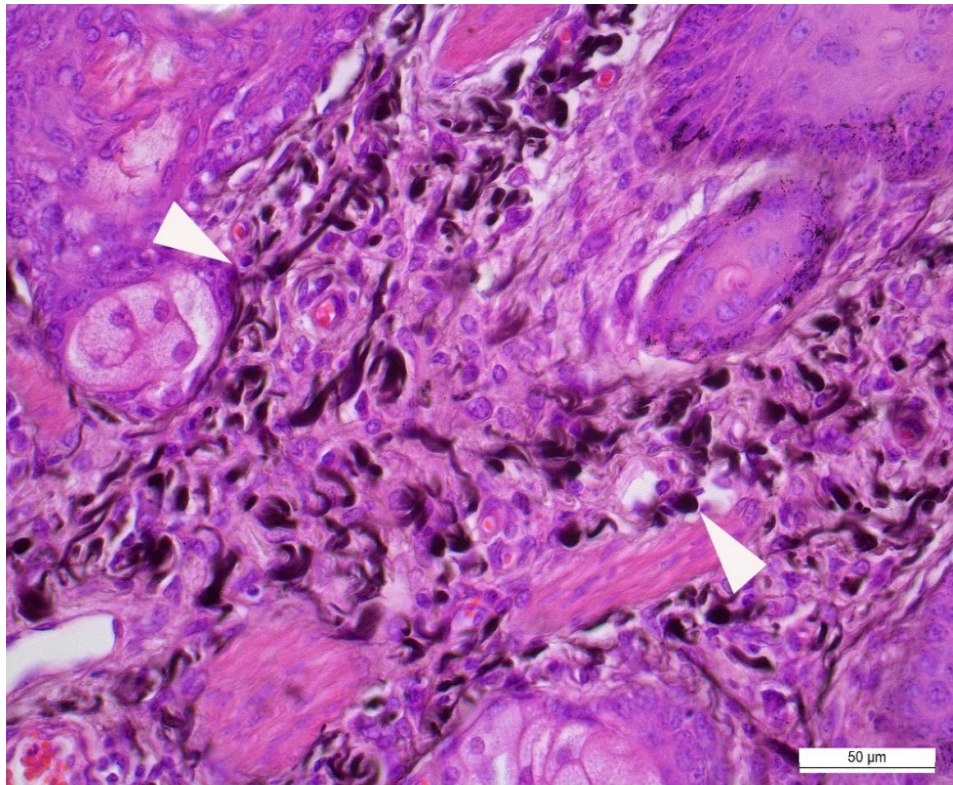


Рис. 3.54. Фібробластичний саркоїд. Поперечний переріз ретикулярних волокон у дермальному шарі (стрілки). Фарбування за Гоморі (PAMS). x 400

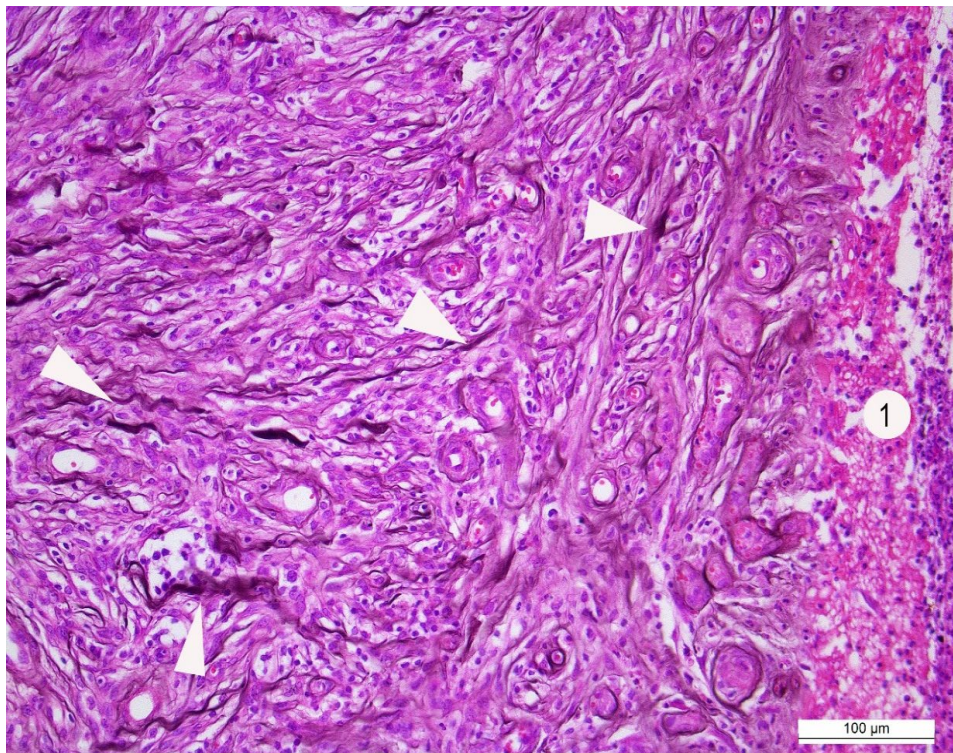


Рис. 3.55. Фібробластичний саркоїд. Поверхня новоутворення з яскраво вираженими ознаками грануляційної тканини (1). Значна кількість ретикулярних волокон (стрілки). Фарбування за Гоморі (PAMS). x 200

Велику кількість аргірофільних волокон виявляли в перивазальних просторах новоутворення (рис. 3.56).

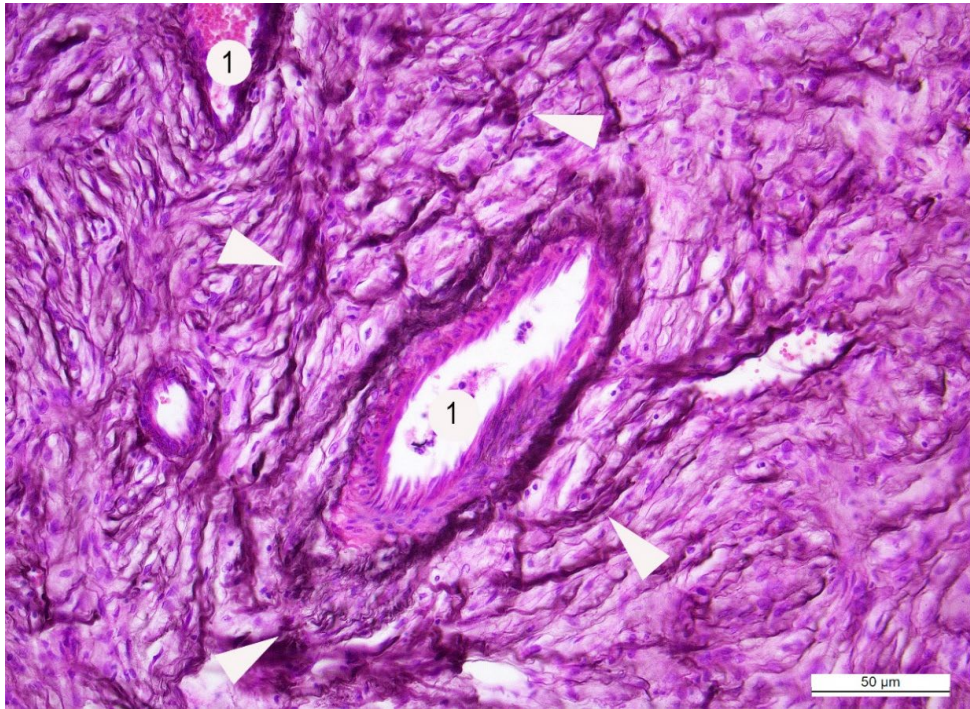


Рис. 3.56. Фібробластичний саркоїд. Поперечний переріз судини (1), значна кількість перивазальних ретикулярних волокон у тумурозному утворенні (стрілки). Фарбування за Гоморі (PAMS). х 400

Масивні аргірофільні волокна також зустрічались у стромі новоутворення, здебільшого орієнтувались перпендикулярно до епідермісу (рис. 3.57). Деякі волокна набували специфічних форм у вигляді довгих спіралей (рис. 3.58).

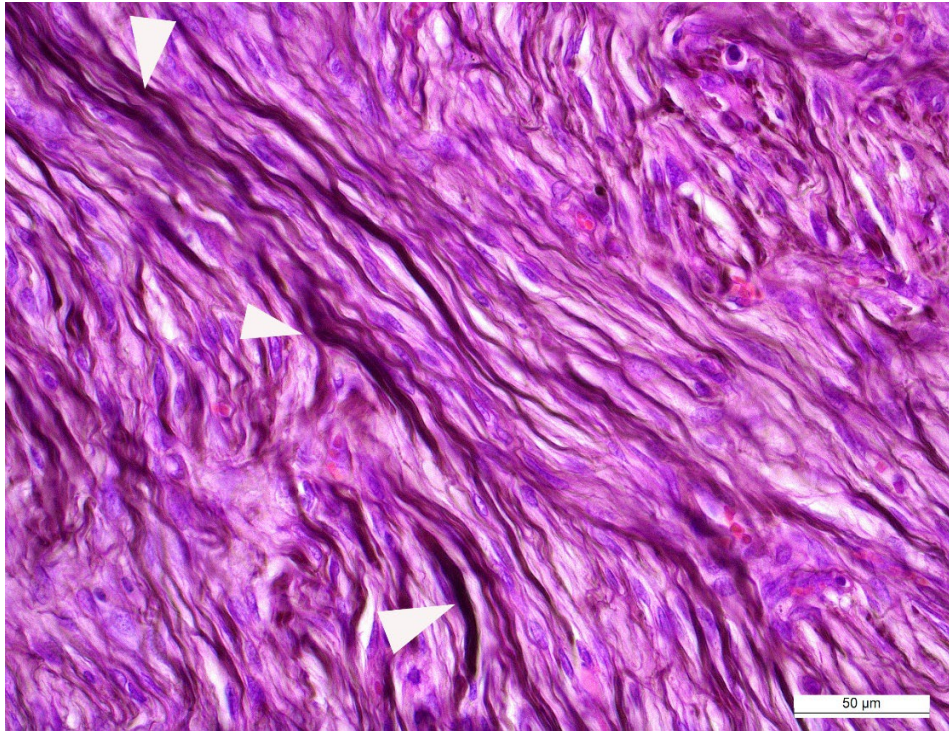


Рис. 3.57. Фібробластичний тип саркоїду. Поздовжній переріз грубих ретикулярних волокон (стрілки). Фарбування за Гоморі (PAMS). x 400

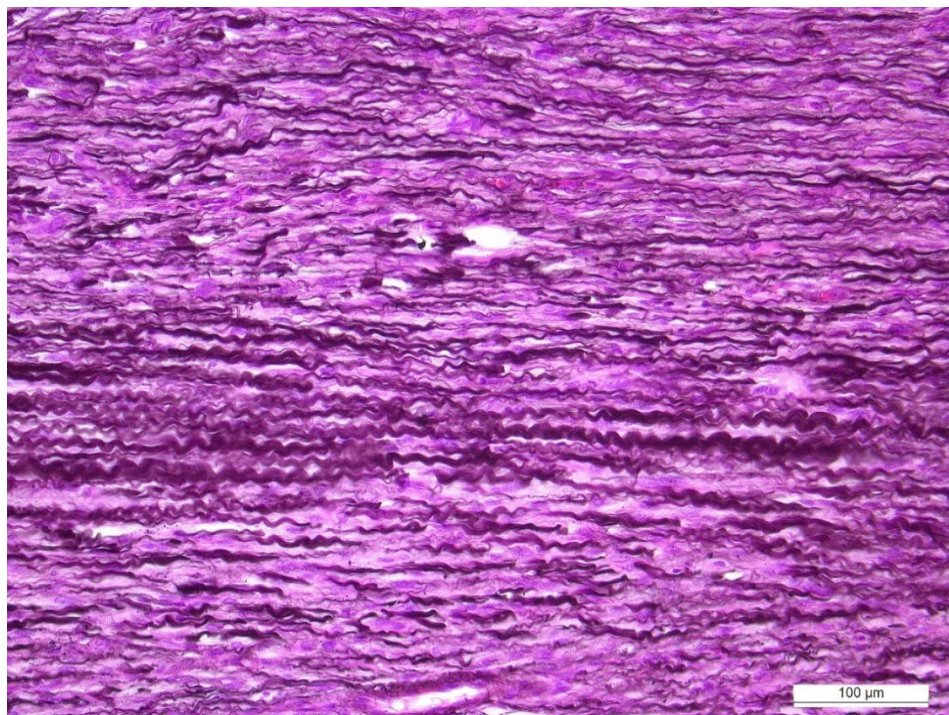


Рис. 3.58. Фібробластичний тип саркоїду. Поздовжній переріз масивних хвилеподібних ретикулярних волокон у тумурозному утворенні. Фарбування за Гоморі (PAMS). x 200

Наявність у фібробластичному саркоїді значної кількості поліцукоридів та глікопротеїдів у колагені III типу підтверджувалось інтенсивною PAS-реакцією (рис. 3.59, 3.60). У глибоких шарах туморозної тканини ми спостерігали меншу інтенсивність забарвлення з реактивом Шифа. Також відмічали зменшення кількості аргірофільних волокон. Це, на нашу думку, зумовлено формуванням у глибоких шарах новоутворення колагену I типу з повним заміщенням та трансформацією колагену III типу. У поверхневих тканинах відмічено збільшення колагену III типу, що пов'язано з інтенсивним синтезом фібробластиками незрілої сполучної тканини.

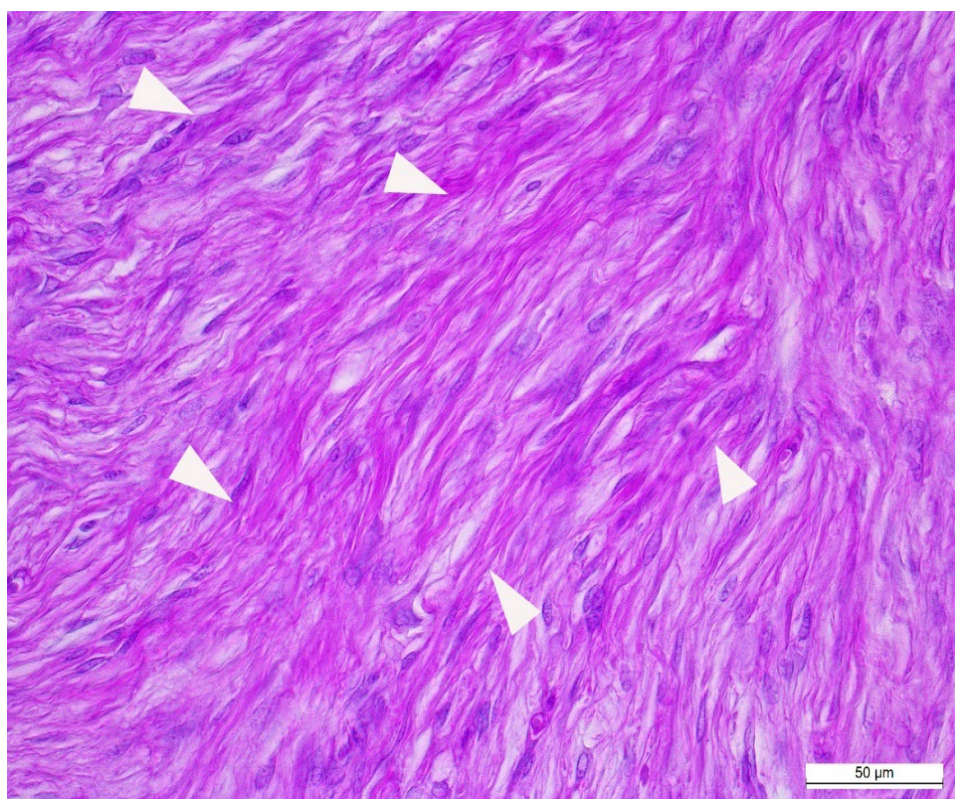


Рис. 3.59. Фібробластичний тип саркоїду. Поперечний переріз PAS-позитивних колагенових волокон III типу (стрілки). PAS-реакція. x 400

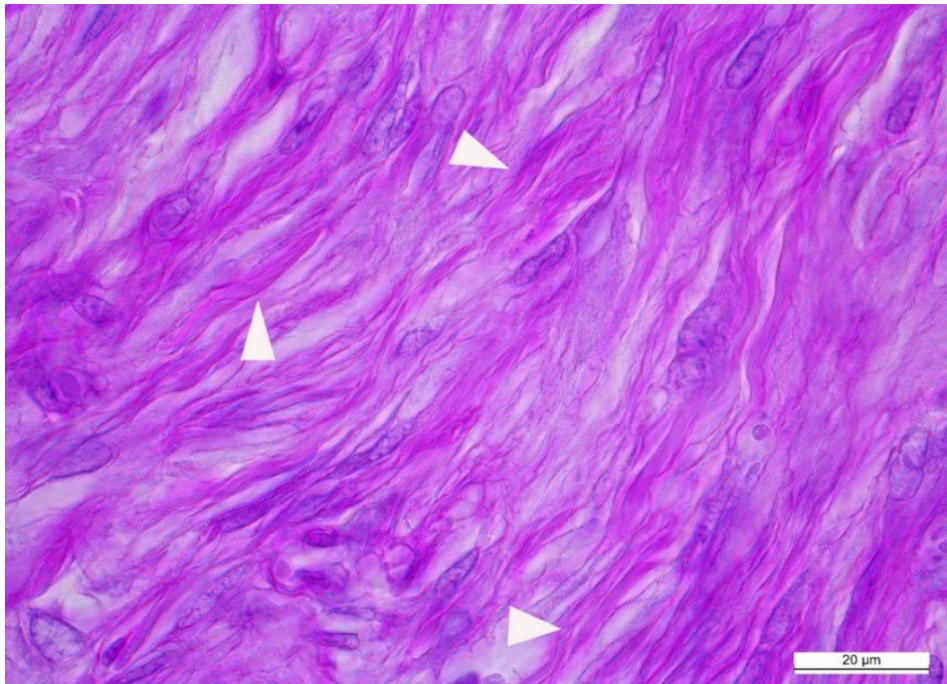


Рис. 3.60. Фібробластичний тип саркоїду. Значна кількість PAS-позитивних колагенових волокон III типу (стрілки). PAS-реакція. x 1000

Наявність значної кількості клітин з атиповим ядром, на нашу думку, є елементом амітотичного поділу клітини з утворенням синпластів та полікаріоцитів (рис. 3.61, 3.62).

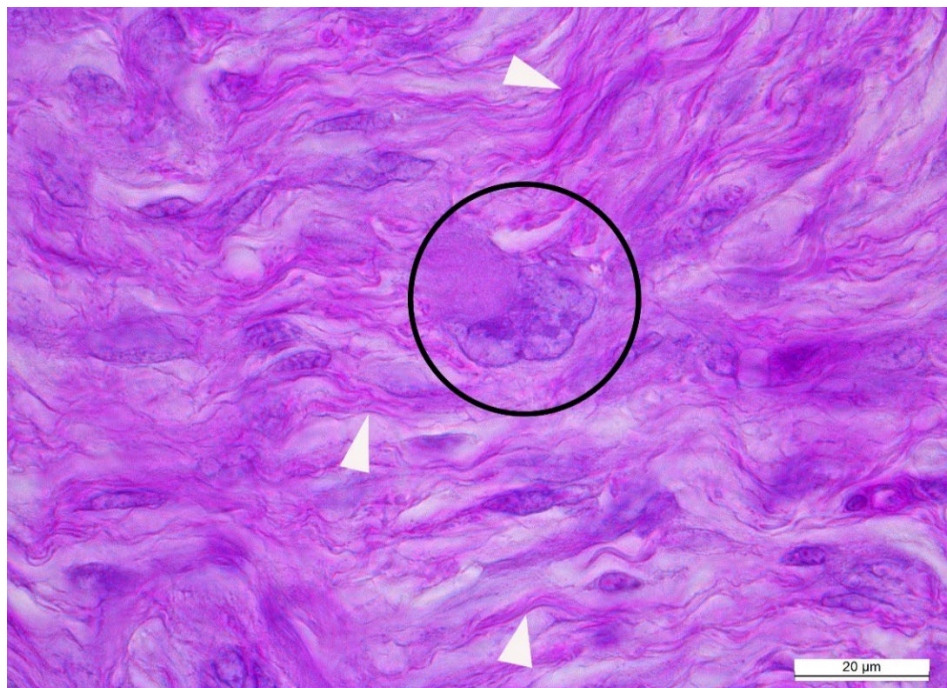


Рис. 3.61. Фібробластичний саркоїд. Наявність гігантських химерних багатоядерних клітин (в колі) серед чисельної кількості фібробластів. Колагенові волокна III типу (стрілки). PAS-реакція. x 1000



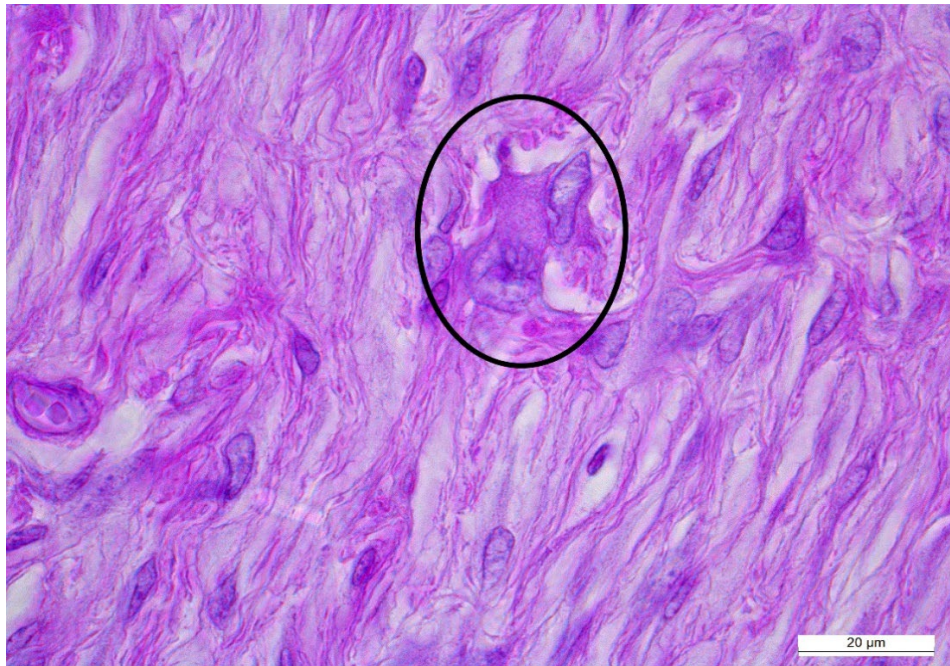


Рис. 3.62. Фібробластичний тип саркоїду. Гігантські химерні ядра (у колі) серед чисельної кількості фібробластів. PAS-реакція. x 1000

Це явище моноцитогенезу проявилось у збільшенні ядер до гігантського розміру, його перешнуруванням, в результаті якого утворилися полікаріоцити. Після плазматомії на місці цієї клітини утворюється більш або менш значна клітинна генерація. Велика кількість гантелеподібних ядер вказує, що амітотичний цикл відіграє значну роль у проліферації фібробластичної тканини.

При забарвленні альціановим синім ми виявили значну перивазальну афінність до сполучнотканинних елементів, що здебільшого оточують різного калібру судини (рис. 3.63–3.65). Також відзначалася незначна реакція в тумурозних елементах новоутворення (рис. 3.66). Наявність кислих глікозаміногліканів та протеогліканів у навколосудинних просторах може вказувати на важливу трофічну функцію кислих глікозаміногліканів, особливо їх іонообмінну активність як поліаніонів. Завдяки цим властивостям забезпечується транспорт води, солей, амінокислот та ліпідів. Особливо це виражено в безсудинних брадитрофічних тканинах, до яких також належать судини – їх стінка. Важливу роль кислі глікозаміноглікани та протеоглікани відіграють у репаративній функції сполучної тканини, в регулюванні процесів росту та диференціюванні клітин, а також у фібрилогенезі.

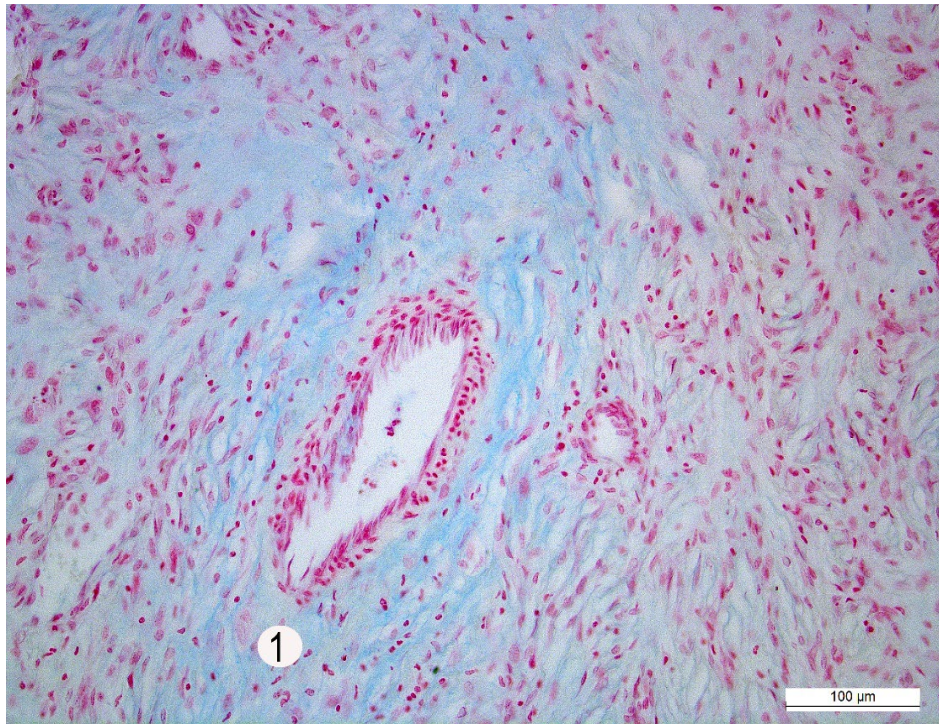


Рис. 3.63. Фібробластичний тип саркоїду. Локалізація кислих глікозаміногліканів та протеогліканів у перивазальних просторах (1). Фарбування за Сідменом. x 200

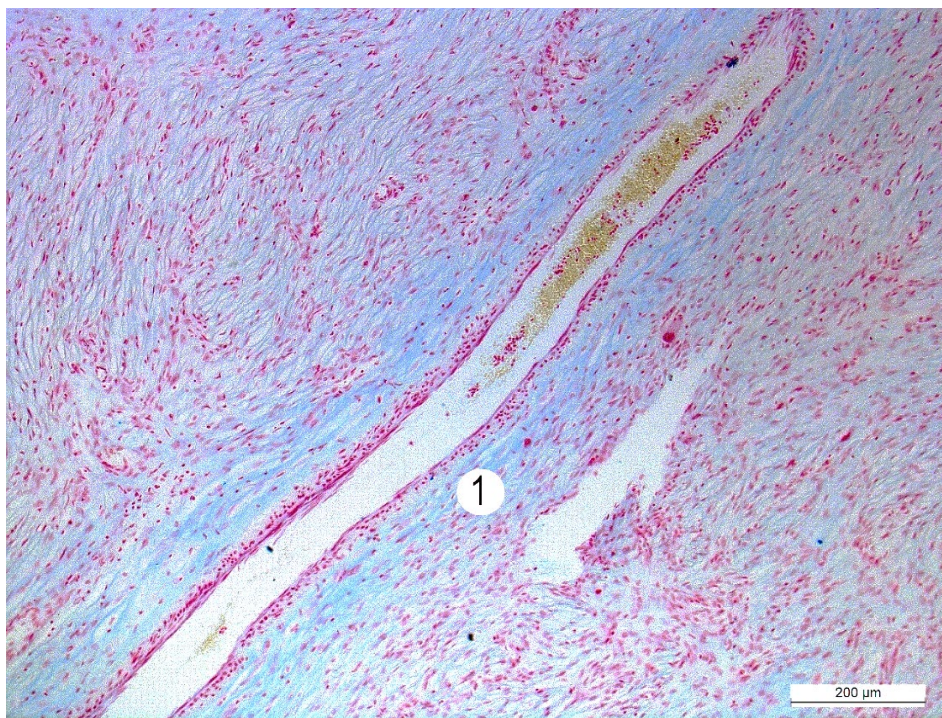


Рис. 3.64. Фібробластичний тип саркоїду. Значна перивазальна афінність до сполучнотканинних елементів (1). Фарбування за Сідменом. x 100

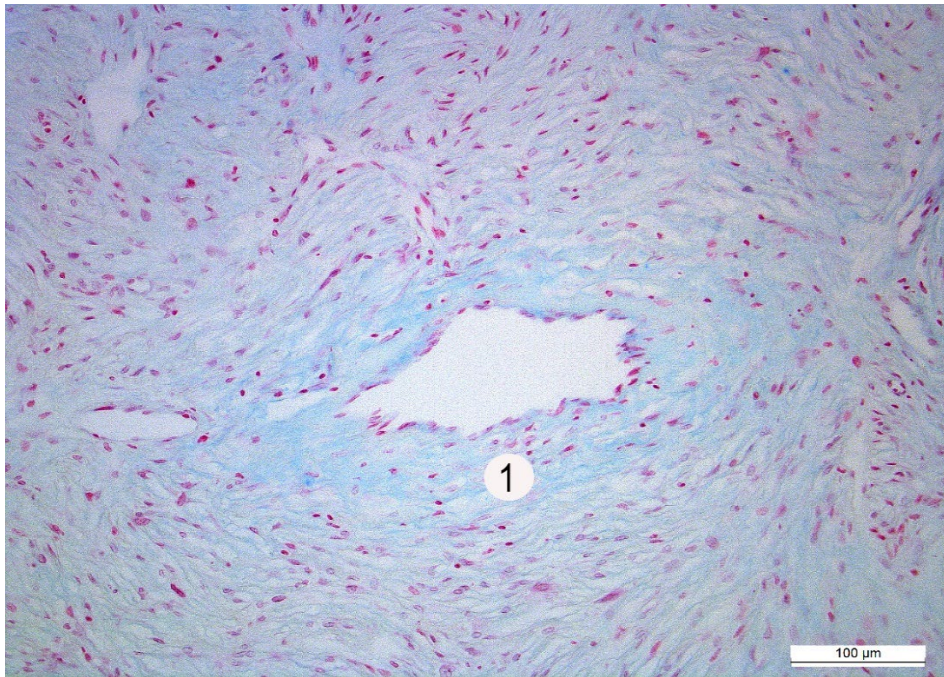


Рис. 3.65. Фібробластичний тип саркоїду. Дифузний характер локалізації кислих глікозаміногліканів та протеогліканів у перивазальних просторах. Фарбування за Східменом. х 200

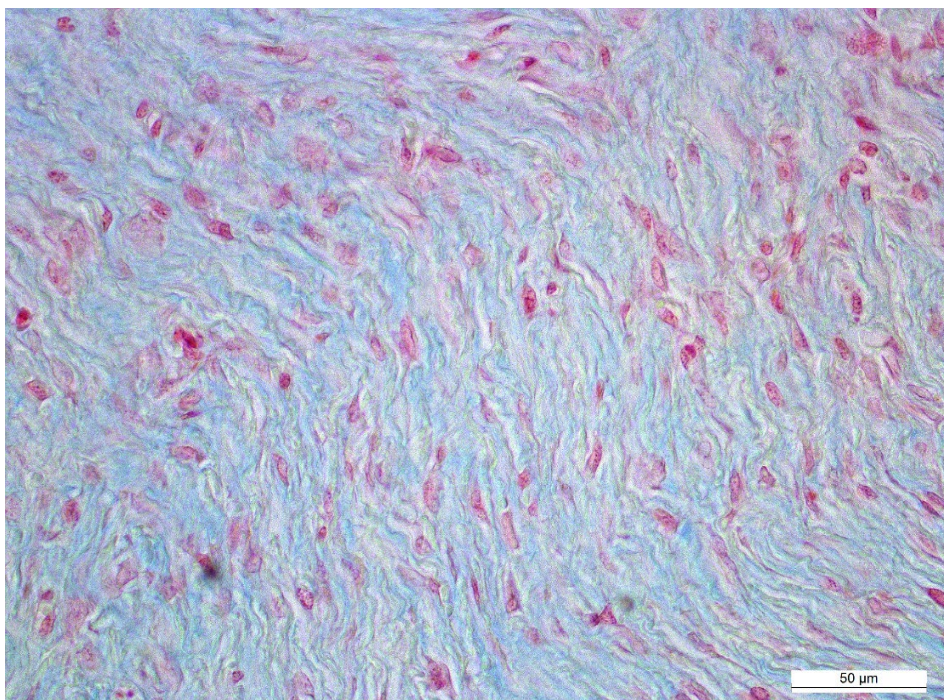


Рис. 3.66. Фібробластичний тип саркоїду. Накопичення кислих глікозаміногліканів та протеогліканів у глибоких шарах туморозної тканини. Реакція за Східменом. х 400

За результатами проведених гістологічних та гістохімічних досліджень ми встановили найбільш характерні морфологічні ознаки фібробластичного типу саркоїду, а саме: повну відсутність у тумурозній тканині еластичних волокон, що підтвердилось застосуванням методу резорцин-фуксину за Вейгертом. Наявність значної кількості колагену I типу підтвердилася застосуванням методу Ван-Гізона та, меншою мірою, ретикулярних волокон у глибоких шарах новоутворення. PAS-реакція дала можливість виявити велику кількість поліцукоридів та глікопротеїдів у колагені III типу, що ще раз підтверджує його наявність у саркоїді. Візуалізація ретикулярних волокон у поверхневих шарах новоутворення, що контактує з навколишнім середовищем свідчить про трансформацію та метаблізю фібробластичного саркоїду під впливом чинників зовнішнього середовища (ультрафіолет, температура, механічне подразнення). Ретикулярні волокна – це перехідний тип колагенових волокон III типу, що характерний для тканин, які формуються. Через певний час відбувається заміщення та трансформація даного типу волокон з утворенням переважно колагену I типу.

Аналізуючи мікроскопічні зміни у досліджених випадках саркоїду коней, можемо відмітити закономірність проліферації дермальних фібробластів. Виявлені макроскопічні та мікроскопічні ознаки за фібробластичного типу саркоїду характеризувалися як гіперкератозом, так і повною ульцирацією епідермісу з масивною інфільтрацією поліморфноядерними клітинними елементами, субдермальною та інтрадермальною проліферацією грубими колагеновими волокнами, які утворювали довгі, закручені у вигляді муарів структури, розширенням судин та значною васкуляризацією. Епідермальна виразка, зазвичай, була характерною для I типу фібробластичного саркоїду, при якому відзначали розростання масивного новоутворення на ніжці, із захопленням як поверхневих, так і глибоких шарів шкіри.

### 3.5. Застосування методу напівтонких зрізів для вивчення тонкої структурної організації фібробластичного типу саркоїду

У напівтонких зрізах, зафарбованих метиленовим синім, у структурі саркоїду чітко візуалізувались видовженої форми веретеноподібні фіброцити з розгалуженими відростками різних розмірів, що контактують між собою та з округлими ядрами фібробласти. Клітинна мембрана фібробластів та фіброцитів добре контурована, ядра з чітко вираженим одним або двома ядерцями (рис. 3.67). Крім того, встановлено, що фібробластичний тип саркоїду має добре виражену васкуляризацію, представлену різного розміру артеріолами, венулами та капілярами (рис. 3.68, 3.69). Фіброцити містили видовжене ядро із незначними інвагінаціями. При дофарбовуванні зрізів саркоїду кислим фуксином чітко видно, що основну масу новоутворення займали колагенові волокна, які забарвлювалися у рожевий колір (рис. 3.70–3.73).

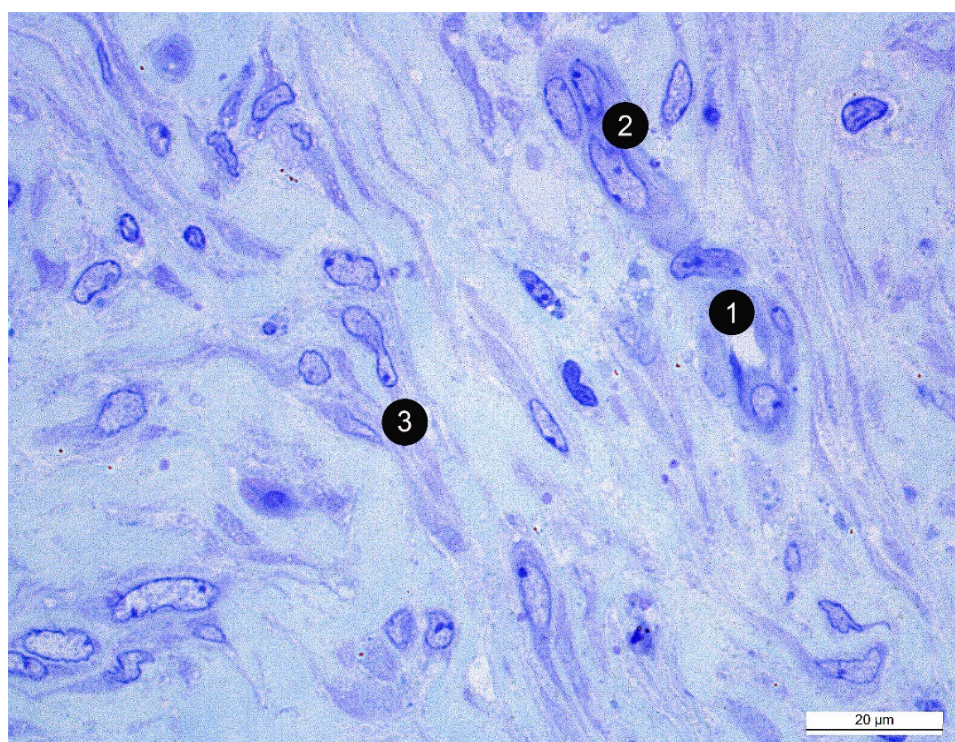


Рис. 3.67. Напівтонкий зріз. Тонка морфологічна організація фібробластичного типу саркоїду коней: судини (1), фібробласти (2), фіброцити (3). Фарбування метиленовим синім. x 1000

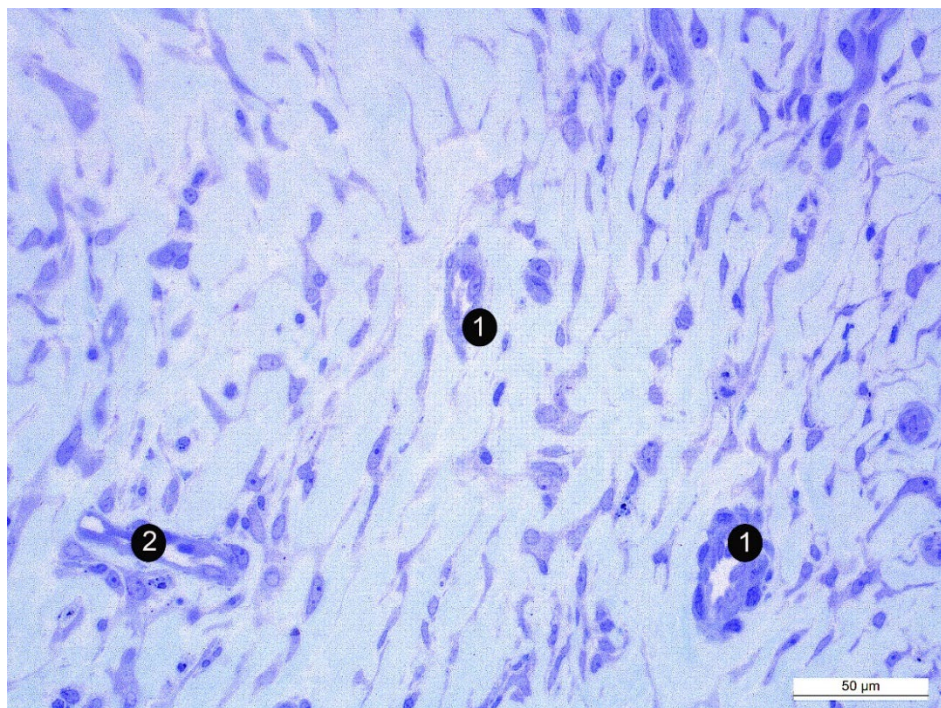


Рис. 3.68. Напівтонкий зріз. Тонка морфологічна організація фібробластичного типу саркоїду коней: значна васкуляризація тканин тумурозного утворення. Артеріоли (1), венули (2). Фарбування метиленовим синім. x 1000

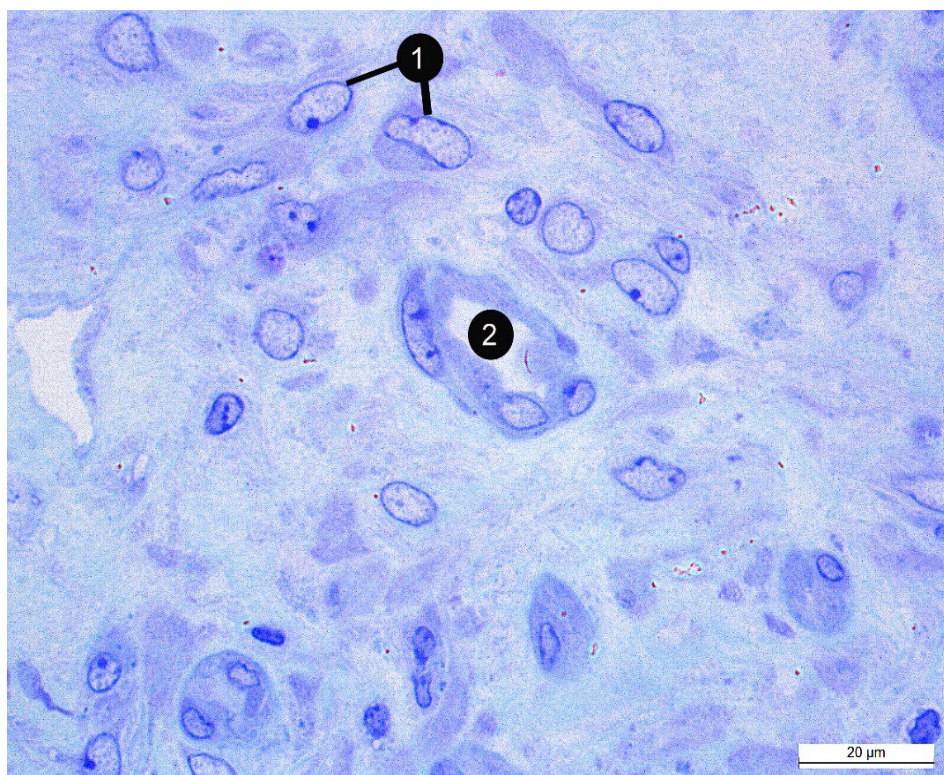


Рис. 3.69. Напівтонкий зріз. Тонка морфологічна організація фібробластичного типу саркоїду коней: фібробласти (1), капіляр (2). Фарбування метиленовим синім. x 1000

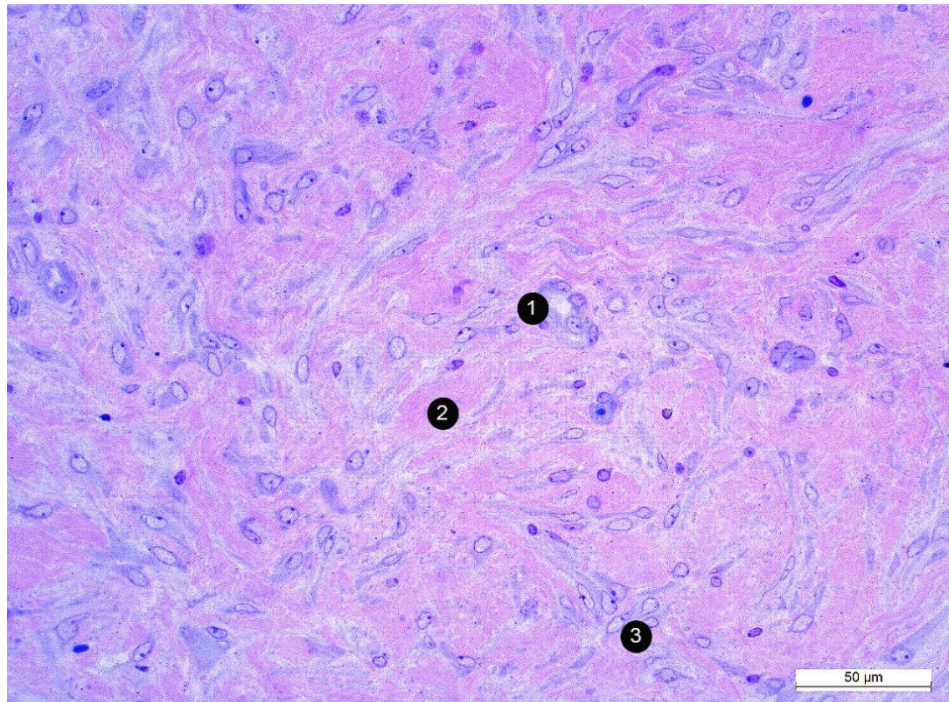


Рис. 3.70. Тонка морфологічна організація фібробластичного саркоїду коней: значна васкуляризація тканин тумурозного утворення (1), колагенові волокна, забарвлені в рожевий колір (2), фібробласти (3). Метиленовий синій із дофарбовуванням кислим фуксином. х 400

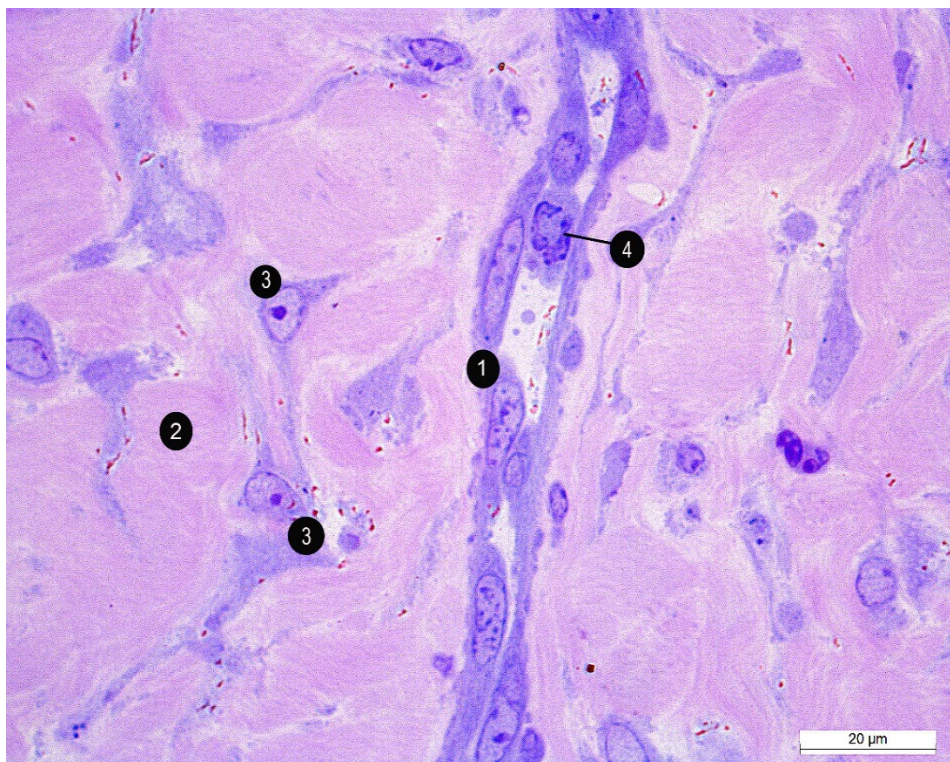


Рис. 3.71. Тонка морфологічна організація фібробластичного саркоїду коней: ендотеліоцити (1), колагенові волокна, забарвлені в рожевий колір (2), фібробласти (3), лімфоцит (4). Метиленовий синій із дофарбовуванням кислим фуксином. х 1000

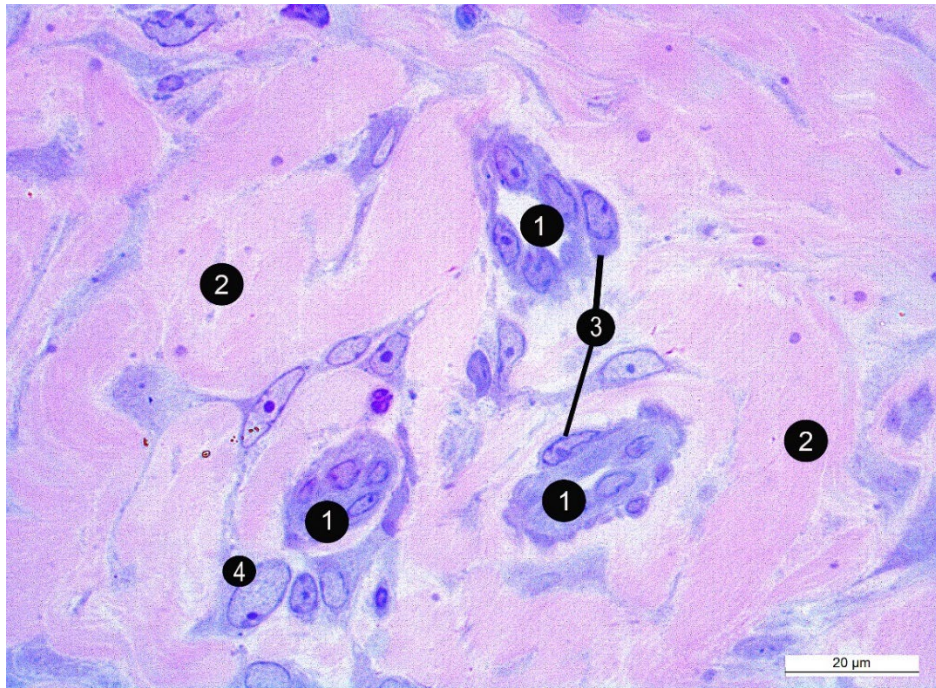


Рис. 3.72. Тонка морфологічна організація фібробластичного саркоїду коней: значна васкуляризація тканин туморозного утворення (1), колагенові волокна, забарвлені в рожевий колір (2), перицит (3), фібробласт (4). Метиленовий синій із дофарбовуванням кислим фуксином. x 1000

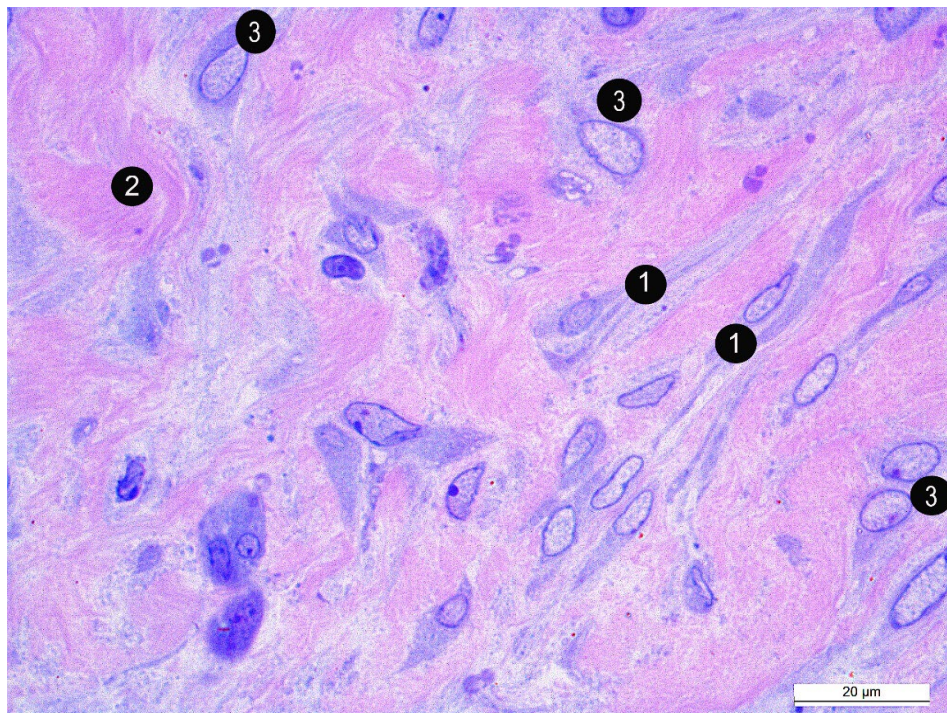


Рис. 3.73. Саркоїд. Напівтонкий зріз. Основна маса новоутворення представлена колагеновими волокнами (2), різними за формою та розмірами фібробластами (3) та фіброцитами (1). Фарбування метиленовим синім із дофарбовуванням кислим фуксином. x 1000



За результатами морфометричних досліджень, проведених на напівтонких зрізах товщиною 1 мкм, ми встановили, що середній об'єм ядер фібробластів у фібробластичному саркоїді становив  $178,294 \pm 15,15$  мкм, об'єм ядерця  $2,873 \pm 0,51$ . Співвідношення об'єму ядра до ядерця складало 62,058 (табл. 3.5). Ядерце є органеллою і специфічною ділянкою ядра клітини, де відбувається збір рибосом. Функціональна активність ядерця тісно пов'язана з синтезом рибосомальної РНК і об'єктивно відображає метаболізм клітини в цілому. Ядерно-ядерцеве відношення є важливим показником активності білоксинтезуючих систем клітини. Тенденції до зниження ядерно-ядерцевого відношення у фібробластах фібробластичного саркоїду ми не виявили.

Таблиця 3.5.

**Показники об'єму ядра та ядерця фібробластів, їх співвідношення у  
фібробластичному саркоїді (n=5)**

Довжина ядра, мкм	Ширина ядра, мкм	Ядерце, d, мкм	Об'єм ядерця, мкм	Об'єм ядра, мкм	$\frac{V_{\text{ядра}}}{V_{\text{ядерця}}}$
$11,513 \pm 0,49$	$5,381 \pm 0,18$	$1,685 \pm 0,085$	$2,873 \pm 0,51$	$178,294 \pm 15,15$	$62,058 \pm 3,24$

Застосовуючи метод напівтонких зрізів, вдалося виявити тонку структурну організацію як тканини самого саркоїду, так і прослідкувати неоангіогенез. Світлооптично простежувалася значна адгезія та крайове стояння формених елементів до люмінальної поверхні ендотеліальних клітин новосформованих судин. Чітко візуалізувалися капіляри із закритим просвітом та значна кількість грубих колагенових волокон, що утворювали стромальний компонент даної пухлини. Більшість клітинних елементів належала до клітин фібробластичного ряду, що проявлялось у наявності великих округлих ядер з полігональною цитоплазмою. Також відмічено, що більшість клітин фібробластичного ряду мали ядра з чисельними інвагінаціями каріоплазми, що може вказувати на їх високу функціональну активність. Більшість судин належала до капілярів венозного типу.

Результати досліджень опубліковано у науковій праці:

Портенко М., Щербентовська О. (2022, 2023). [98, 99, 101].

### 3.6. Імуногістохімічне типізування саркоїду коней

Відомо, що кожна клітина має певну просторову внутрішню та зовнішню форми, які є достатньо динамічними залежно від їх функціонального навантаження. Так, епітеліальні клітини у своєму скелеті в основному використовують білок цитокератин, а мезенхімальні клітини – віментин. Для визначення типу білків цитоскелета, які переважають у саркоїді проводили імуногістохімічне типізування, де встановлено, що у всіх випадках саркоїду відзначали інтенсивну дифузну цитоплазматичну експресію віментину. Як видно на рис. 3.74–3.77, фібробласти при саркоїді інтенсивно експресують віментин, що підтверджує його мезодермальне походження. При епітеліально-мезенхімальному переході цитокератинпозитивні епітеліальні клітини починають експресувати віментин, індукуючи стовбурові клітини та стимулюючи рецидив пухлин.

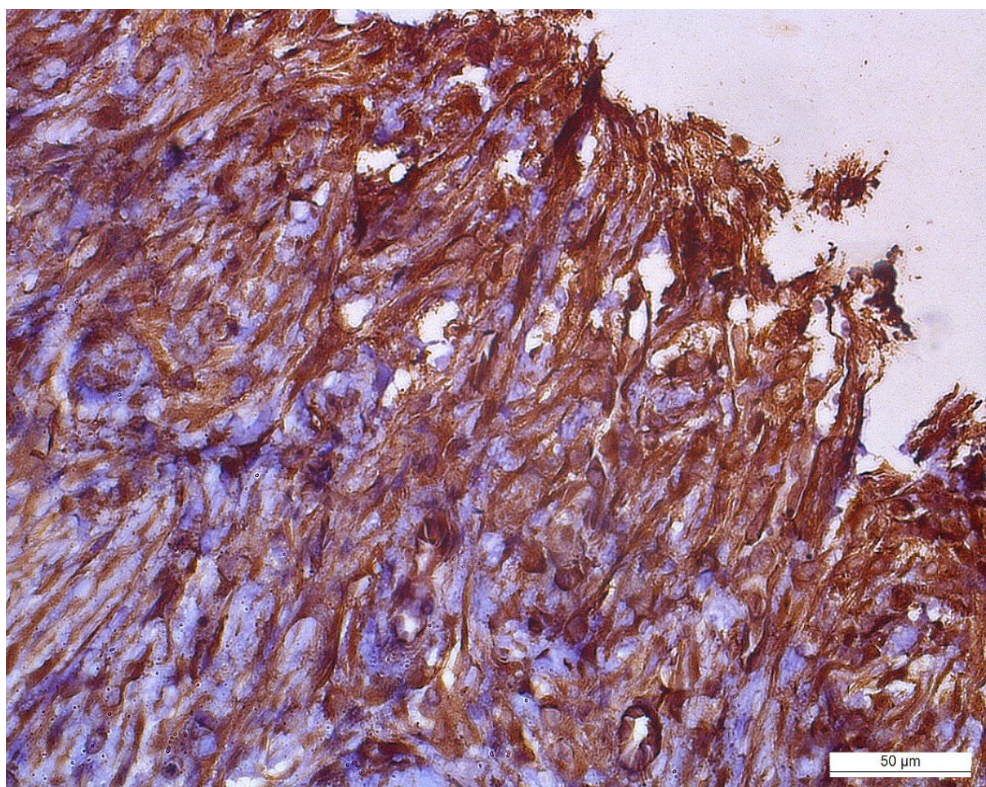


Рис. 3.74. Фібробластичний тип саркоїду коней. Позитивна імуногістохімічна реакція на віментин. Значна експресія фібробластами віментину. x 400

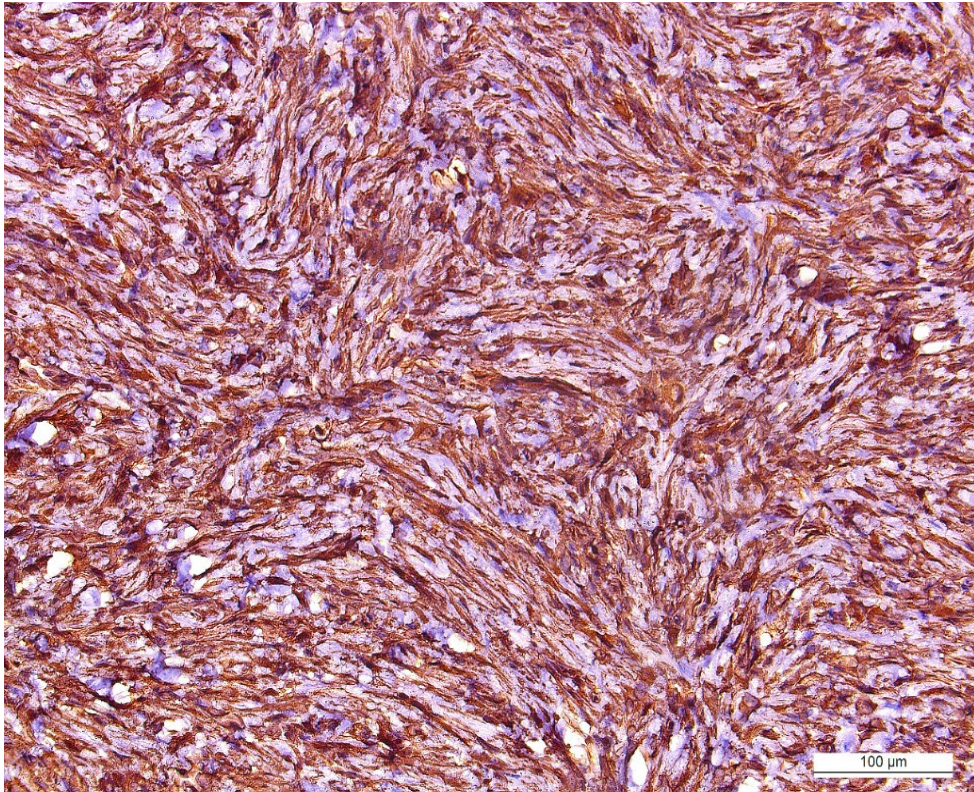


Рис. 3.75. Фібробластичний тип саркоїду коней. Позитивна імуногістохімічна реакція на віментин. Значна експресія фібробластами віментину. x 200

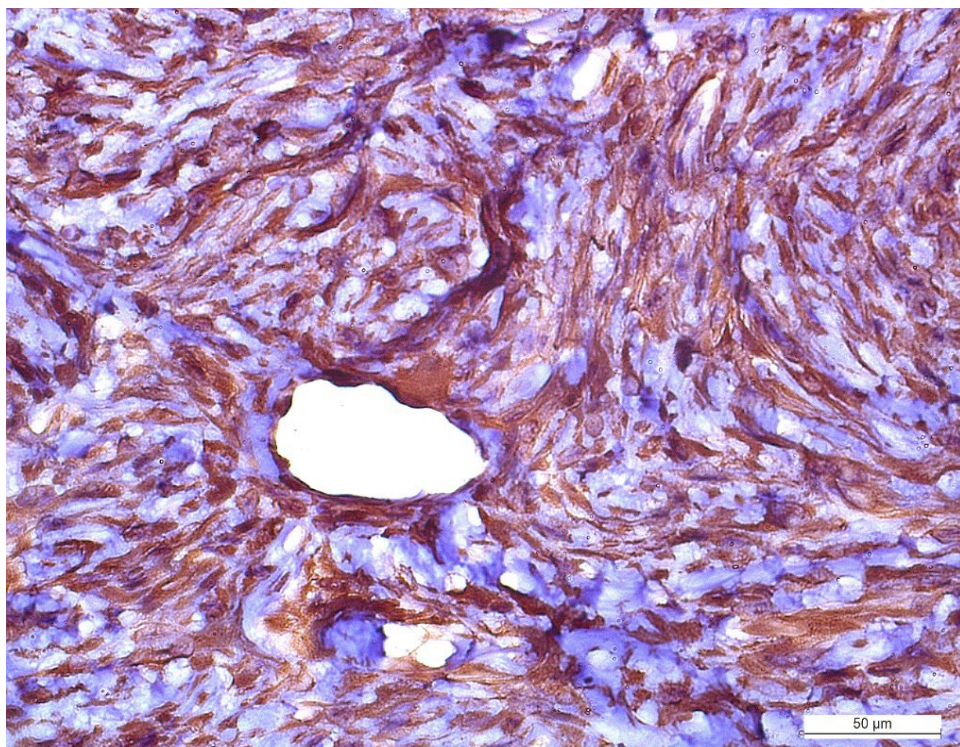


Рис. 3.76. Фібробластичний тип саркоїду коней. Позитивна імуногістохімічна реакція на віментин. Значна експресія фібробластами віментину. x 400

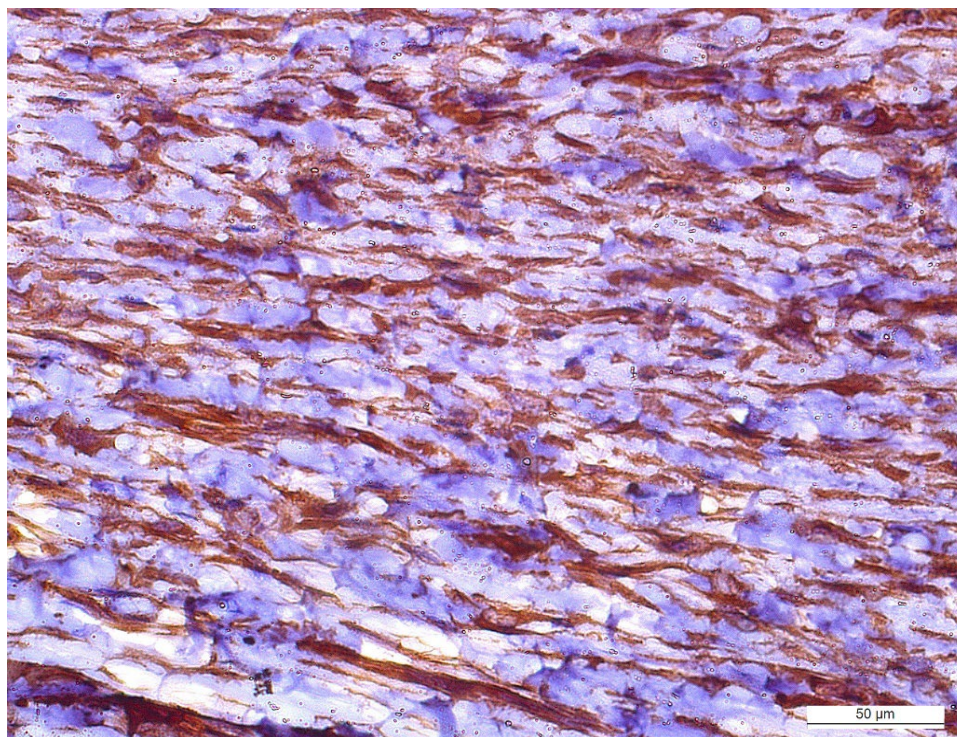


Рис. 3.77. Фібробластичний тип саркоїду коней. Позитивна імуногістохімічна реакція на віментин. х 400

Універсальним маркером для оцінки проліферативної активності є білок Кі- 67, який є протеїном із коротким циклом існування. Саме тому антитіла до Кі- 67 виявляють тільки клітини, що діляться. Зазвичай у фазі  $G_0$  клітинного циклу білок не виявляється, як і на початку  $G_1$ -фази. Його рівень поступово наростає протягом S-фази і досягає максимуму під час мітозу.

За результатами проведених морфометричних досліджень встановлено, що у невеликих за розмірами прихованих саркоїдах ( $n=5$ ) кількість Кі-67+ клітин незначна і становила  $8,9 \pm 0,6$  % (табл. 3.6), мітотичний індекс дорівнював  $3,3 \pm 0,4$ . Розміщувалися Кі-67+ клітини, зазвичай, хаотично в субдермальному та дермальному шарі новоутворення (рис. 3.78, 3.79). При імуногістохімічному дослідженні верукозного типу саркоїду в коней ( $n=12$ ) виявляли достатньо високий рівень експресії Кі-67, що становив  $23,2 \pm 2,3$  %, мітотичний індекс –  $9,7 \pm 1,3$ , що вказує на високий ризик рецидиву та злоякісність новоутворення (рис. 3.80). На рисунку 3.81 чітко видно клітини, які перебувають в активній фазі клітинного циклу, інтенсивно забарвлені в коричневий колір як ядра, так і цитоплазма. Саме

такі активно проліферуючі клітини новоутворення представляють «фракцію росту» пухлини.

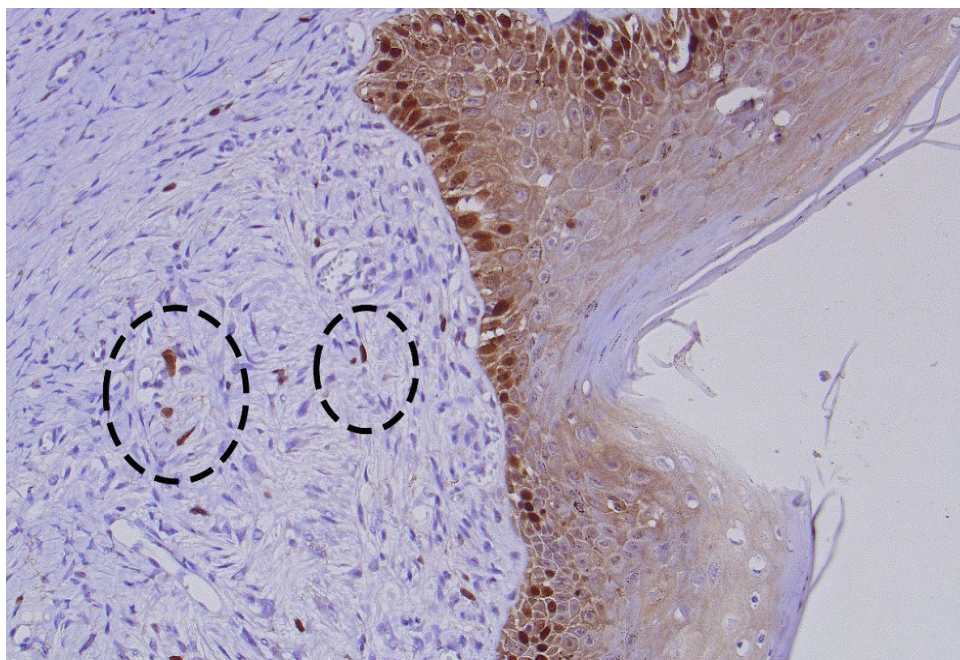


Рис. 3.78. Імуногістохімічне типізування проліферативної активності сполучнотканинних елементів прихованого саркоїду коней: низька мітотична активність фібробластів. Маркер Ki-67. x 200

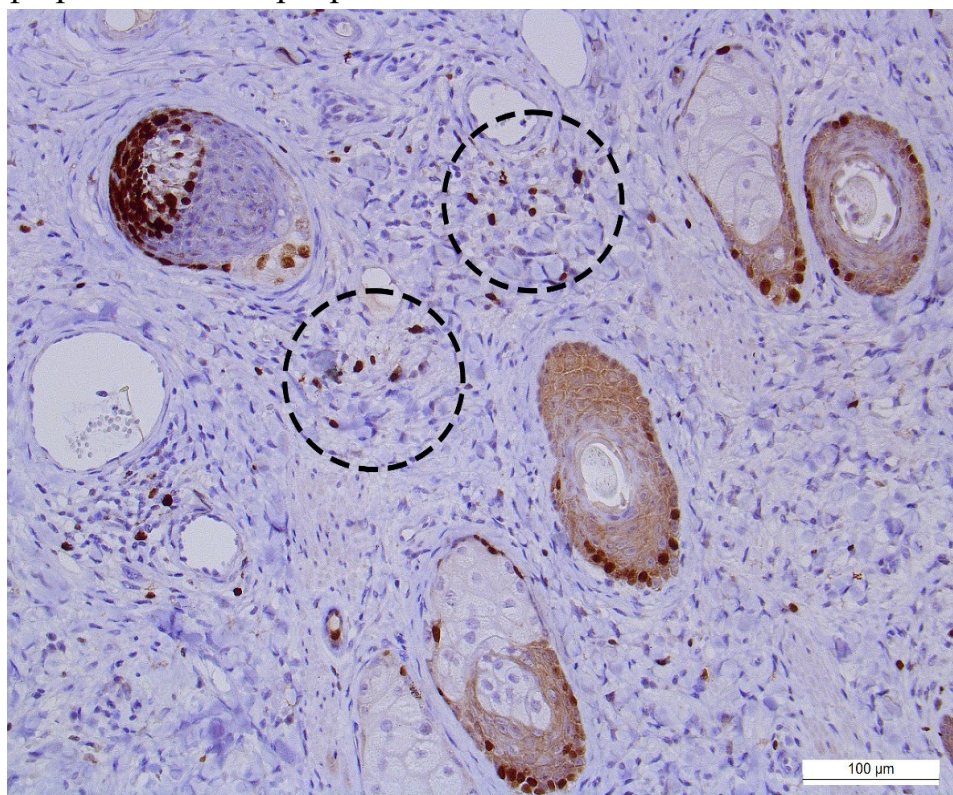


Рис. 3.79. Імуногістохімічне типізування проліферативної активності сполучнотканинних елементів прихованого саркоїду коней: низька мітотична активність фібробластів у дермі. Маркер Ki-67. x 200

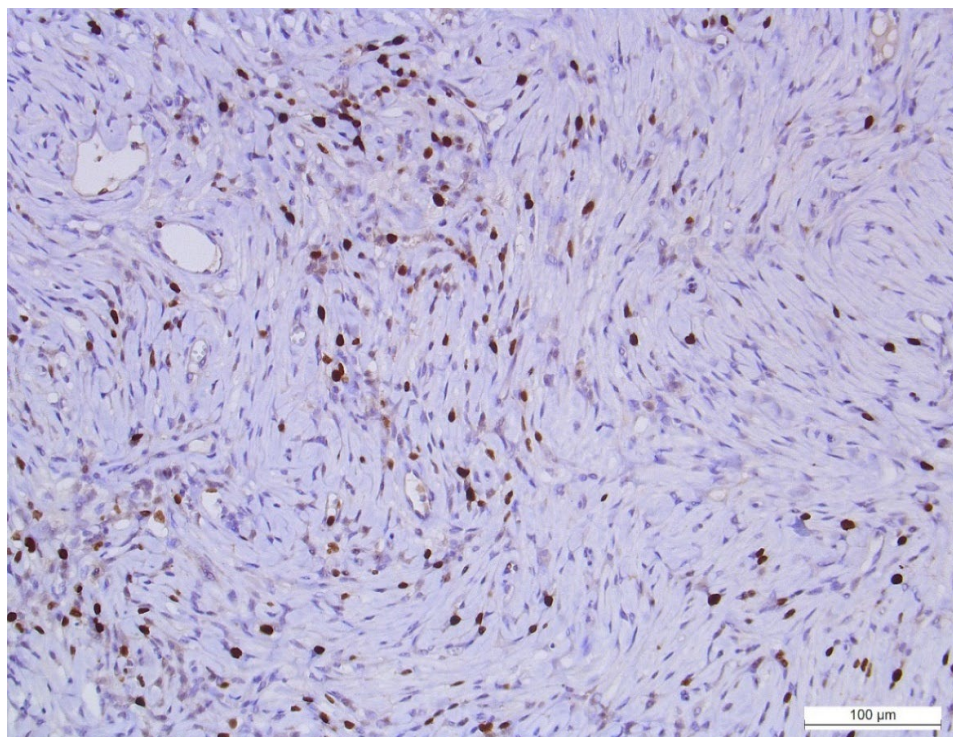


Рис. 3.80. Імуногістохімічне типізування проліферативної активності сполучнотканинних елементів верукозного типу саркоїду коней: висока мітотична активність фібробластів у дермі. Маркер Ki-67. x 200

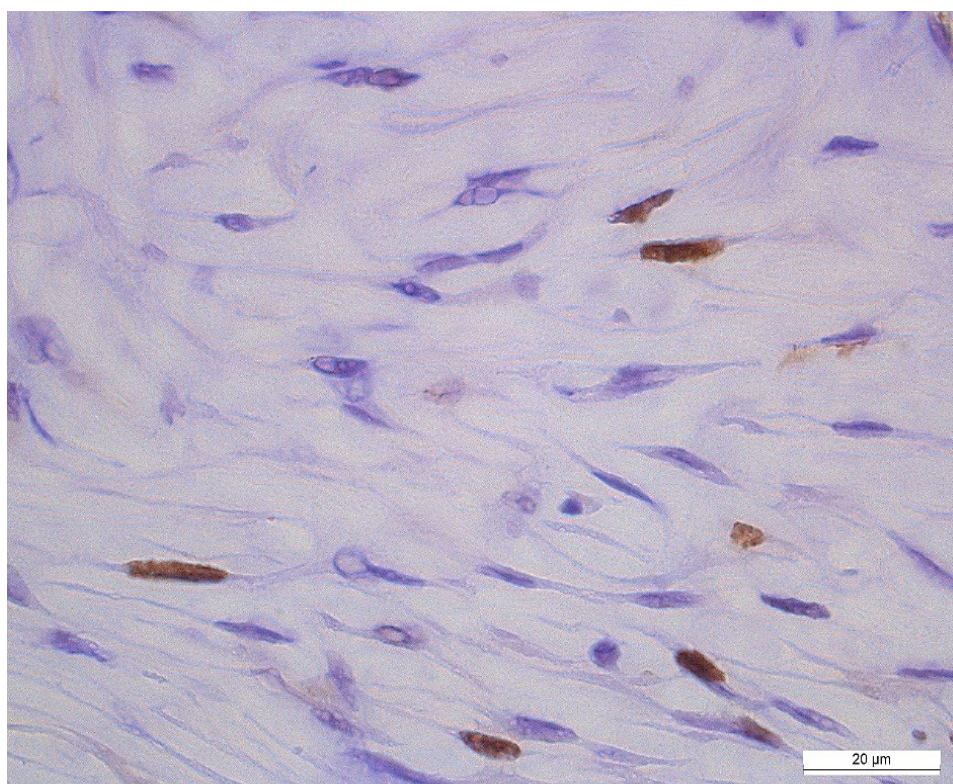


Рис. 3.81. Імуногістохімічне типізування проліферативної активності сполучнотканинних елементів верукозного типу саркоїду коней: інтенсивна мітотична активність фібробластів; маркер Ki-67. x 1000

Частка позитивних клітин Ki-67 у фібробластичному саркоїді коней становила  $36,4 \pm 1,8$  %, а мітотичний індекс складав  $12,2 \pm 3,2$  % (табл. 3.6), (рис. 3.82). Негативних випадків щодо експресії Ki-67 у фібробластичних саркоїдах ми не виявили.

Таблиця 3.6

**Середні значення індексів проліферативної активності саркоїду коней**

Назва показника	Досліджувані групи коней за типами і розмірами саркоїду		
	Прихований n=5 (d до 2 см)	Верукозний n=12 (d від 2 до 5 см)	Фібробластичний n=7 (d 5 і більше см)
Ki-67,%	$8,9 \pm 0,6$	$23,2 \pm 2,3$	$36,4 \pm 1,8$
Мітотичний індекс, ‰	$3,3 \pm 0,4$	$9,7 \pm 1,3$	$12,2 \pm 3,2$

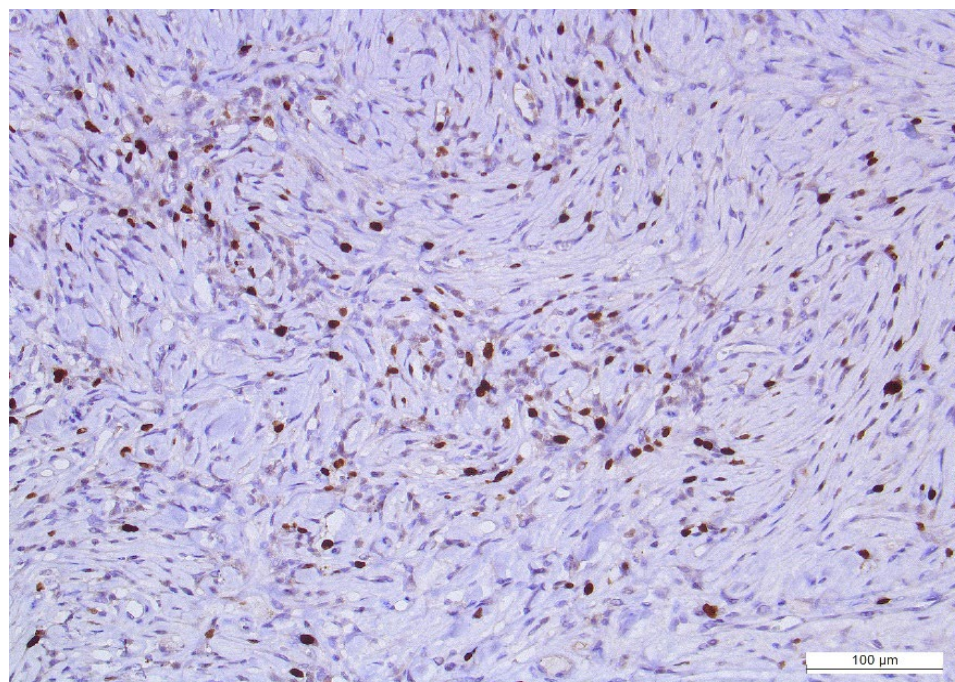


Рис. 3.82. Імуногістохімічне типізування проліферативної активності сполучнотканинних елементів фібробластичного типу саркоїду коней: інтенсивна мітотична активність фібробластів; маркер Ki-67. x 200

Отже, результати наших досліджень підтверджують думки інших вчених, які вважали тканинний Ki-67 цінним біомаркером при фенотипізуванні новоутворень, а проліферативну активність важливим чинником у механізмах злоякісної

трансформації клітин, що визначало швидкість росту новоутворень та ризик метастазування.

Результати досліджень опубліковано у науковій праці:

Портенко М., Щербентовська О., Бліщ Г. (2023). [99].

### **3.7. Електронно-мікроскопічне дослідження фібробластичного типу саркоїду коней**

При ультраструктурному дослідженні встановлено, що основну масу тумурозного утворення складала фібробласти, фіброцити, колагенові волокна та значна кількість капілярів. У малігнізованих фібробластах проглядалася розгалужена мережа гранулярного ендоплазматичного ретикулума, широкі цистерни з вираженою вакуолізацією та дрібнозернистою масою (рис. 3.83). У цитоплазматичному матриксі наявна значна кількість рибосом, траплялися поодинокі пероксисоми та мітохондрії. Високою електронно-оптичною щільністю характеризувалася зовнішня та внутрішня ядерні мембрани, чітко проглядався простір між ними. Гетерохроматин з високою електронною щільністю, в ядерцях добре виражені фібрилярні центри (рис. 3.83).

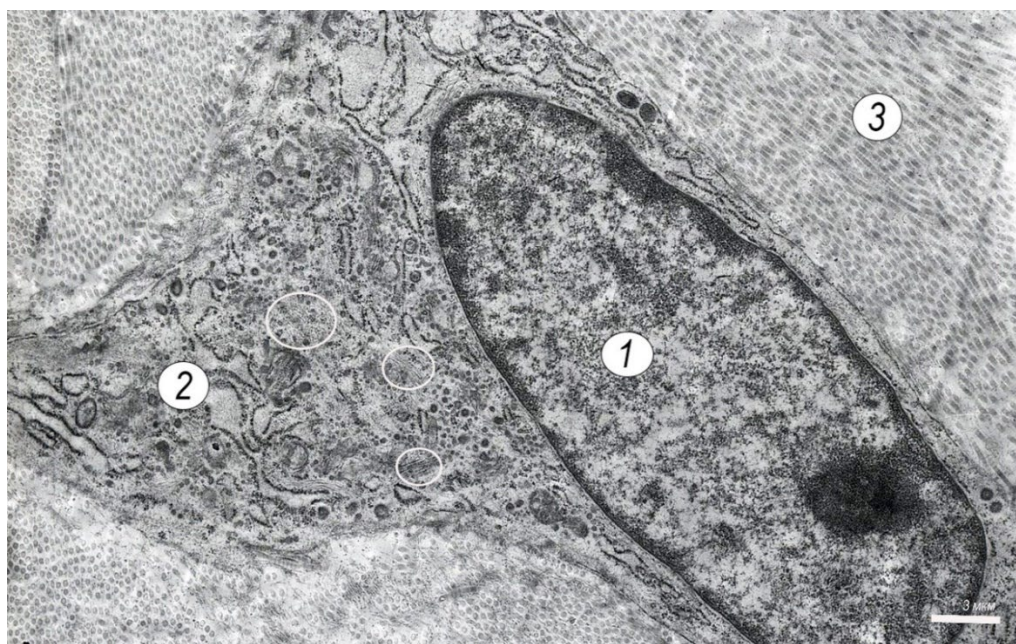


Рис. 3.83. Фібробласт: ядро із значною кількістю еухроматину (1), ендоплазматичний ретикулум із рибосомами (2), поздовжні колагенові волокна (3), тонкі філаменти у цитоплазматичному матриксі (у колі). x 8000



У цитоплазматичному матриксі наявні тонкі філаменти. Колагенові волокна представлені значною кількістю колагенових фібрил з періодичним чергуванням більш щільного та менш щільного матриксу, що нагадувало поперечну посмугованість (рис. 3.84).

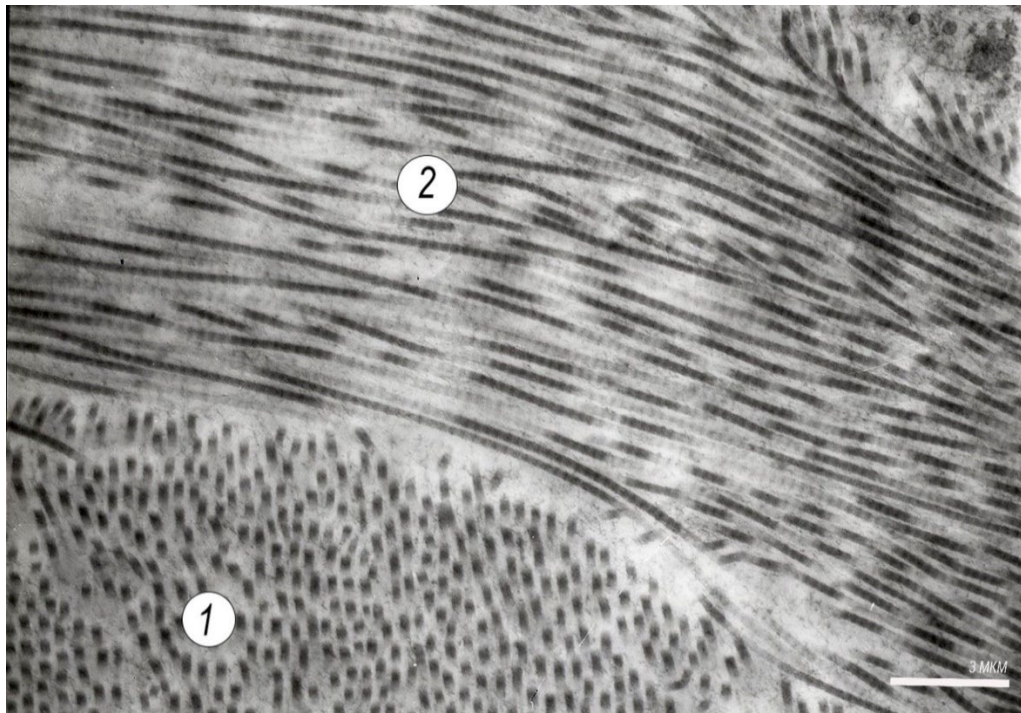


Рис. 3.84. Колагенові волокна: поперечний переріз (1), поздовжнє розміщення (2).  
x 14000

На електронограмі (рис. 3.85) представлений фіброцит з чисельними інвагінаціями ядра, ядерце значних розмірів із вираженим фібрилярним центром, що вказує на його високу функціональну активність. У каріоплазмі фібробласта візуалізувалося різке розширення цистерн комплексу Гольджі із накопиченням осміювальної маси (рис. 3.85). У цитоплазматичному матриксі наявна значна кількість колагенових фібрил, округлих та овальних мітохондрій із дефрагментованими кристами. У безпосередній близькості до фібробластів та фіброцитів розміщувалися колагенові волокна (рис. 3.85). Поряд з фібробластами та фіброцитами розміщувалися капіляри з електронно-щільними ендотеліальними клітинами (рис. 3.86). Окремі ядра утворювали чисельні інвагінації та містили електронно-щільний гетерохроматин, ядерця не виражені. Перикаріон ендотеліальних клітин містив значну кількість мітохондрій, добре розвинутий комплекс Гольджі, гранулярний та агранулярний ендоплазматичний ретикулум,

полісоми, рибосоми та мікрофіламенти (рис. 3.86). Маргінальна частина клітин з нерівними краями, з вираженими псевдоподіями, заповнена везикулами. Просвіт капілярів помірної електронної щільності.

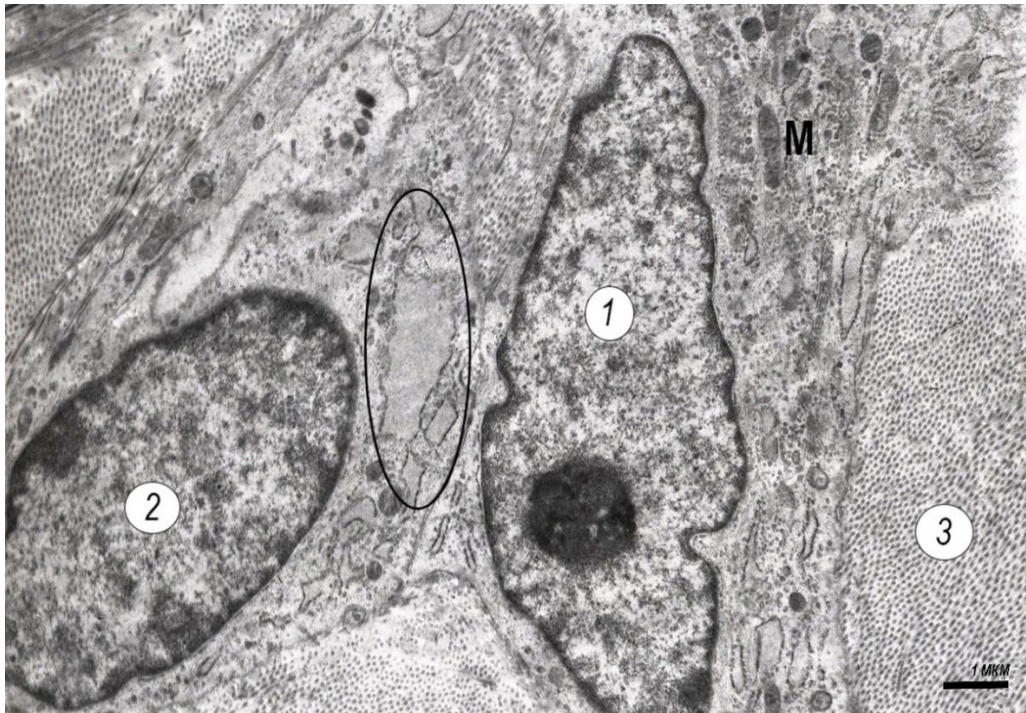


Рис. 3.85. Фібробластичний саркоїд: фіброцит (1), фібробласт (2), поперечний зріз колагенових волокон, різке розширення цистерн комплексу Гольджі (в колі), мітохондрії (М). х 6000

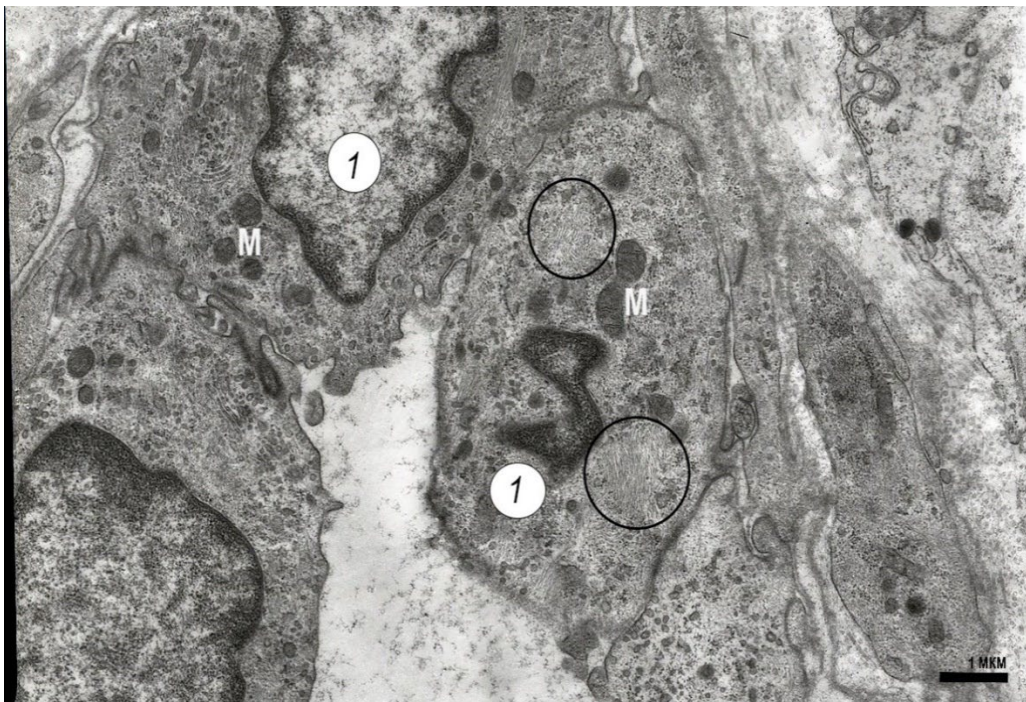


Рис. 3.86. Капіляр: ендотеліальні клітини (1), мітохондрії (М), мікрофіламенти (в колі). х 8000

У венозному відділі кровоносного капіляра прослідковувалась наявність світлих та темних ендотеліоцитів (рис. 3.87). Цитоплазма світлих ендотеліоцитів містила мікрофіламенти, поодинокі мітохондрії, вільні рибосоми, пероксисоми та везикули різного калібру. Плазмолема утворювала незначні псевдоподії. Просвіт капіляра помірної електронної щільності (рис. 3.87).

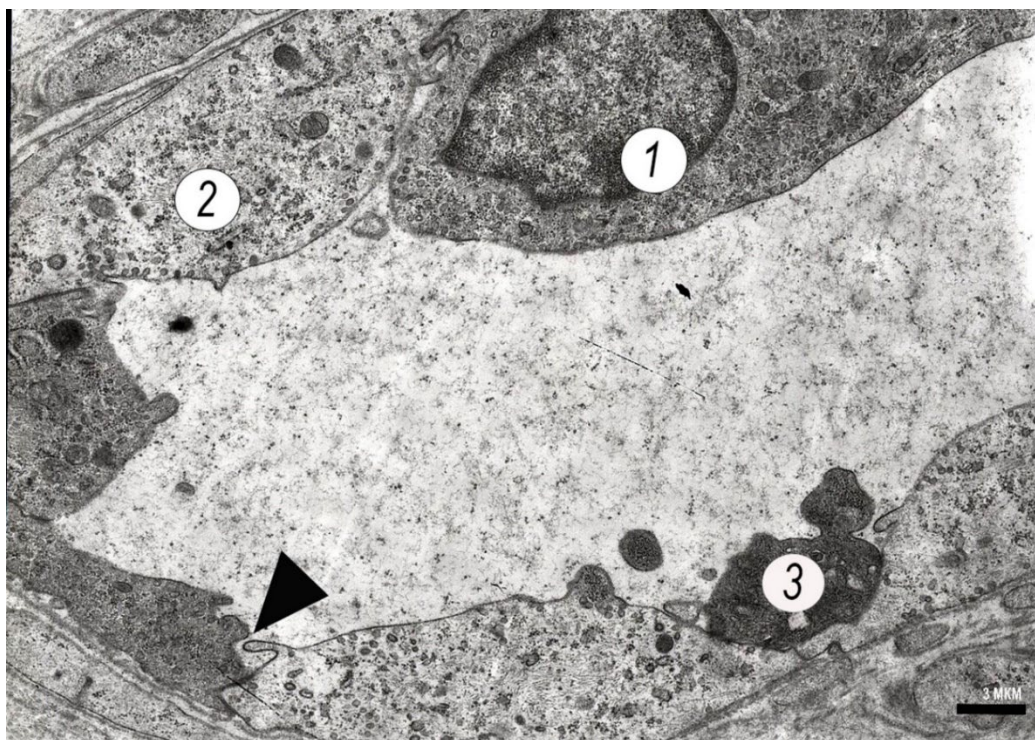


Рис. 3.87. Капіляр: темний ендотеліоцит (1), світлий ендотеліоцит (2), тромбоцит (3), псевдоподії (стрілка) x 8000

Серед клітинного пулу виявляли також і сегментоядерні нейтрофільні гранулоцити з типовим сегментованим ядром (рис. 3.88). Гетерохроматин у ядрах розташовувався перинуклеарно, еухроматин меншою мірою займав центральне положення з чітко вираженими інтрацитоплазматичними гранулами різної форми.

У венулах ендотеліоцити помірної електронної щільності, ядра з чіткими інвагінаціями поверхонь, перикаріон містив значну кількість мітохондрій, полісом та рибосом. Ядерні пори відкриті. Простір між перинуклеарною цистерною не візуалізувався (рис. 3.89).

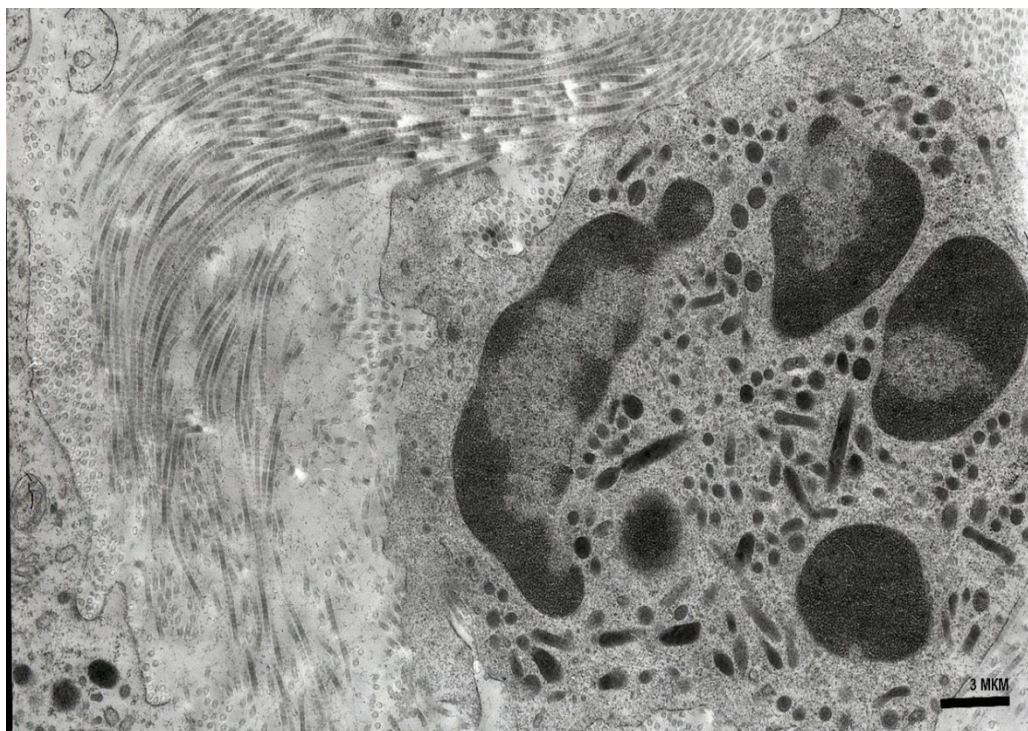


Рис. 3.88. Сегментоядерний нейтрофільний гранулоцит. x 8000



Рис. 3.89. Венула: ядра ендотеліоцитів з вираженими інвагінаціями та відкритими ядерними порами (стрілки), мітохондрії (М) x 6000

У більшості капілярів (рис. 3.90) проглядалися як світлі, так і темні ендотеліоцити з чіткою перинуклеарною цистерною, цитоплазма із значною

кількістю полісом, рибосом та лізосом. Більшу частину ядра займав еухроматин. Поблизу капілярів розміщувалися фіброblastи з гантелеподібними ядрами, відкритими ядерними порами, вираженою перинуклеарною цистерною, апаратом Гольджі, цистерни якого розширені (рис. 3.90).

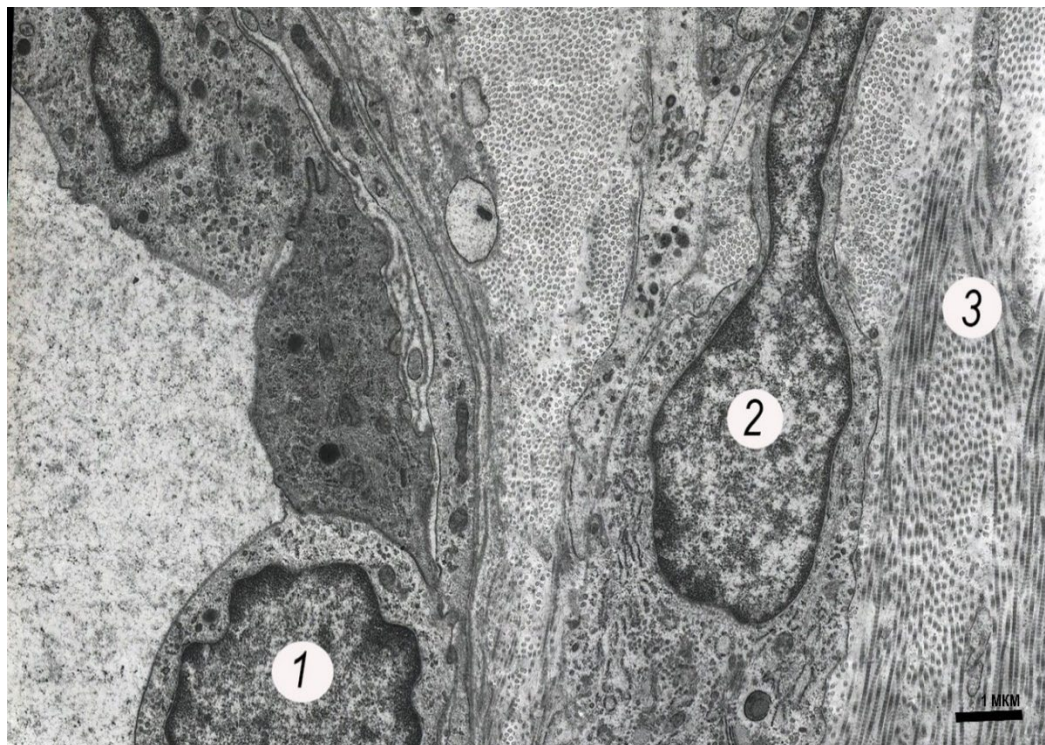


Рис. 3.90. Капіляр: ендотеліоцит (1), фіброblast з гантелеподібним ядром (2), колагенові волокна (3). x 6000

Фіброblastичний тип саркоїду у всіх досліджуваних нами випадках характеризувався тим, що основний пул новоутворення формували фіброblastи та фіброцити, між якими формувалася сітка капілярів. В окремих капілярах ендотеліоцити були округлої форми з овальними ядрами, хроматин розміщувався компактно, деякі клітини були без ядер (рис. 3.91). У цитоплазмі візуалізувалися чисельні мітохондрії, рибосоми, пероксисоми (рис. 3.91). Простір капіляра заповнений масами помірної електронної щільності. Окремі капіляри, в яких ендотеліоцити не містили ядер, містили значну кількість дрібних мітохондрій, везикул та міофіламентів. Гранули розміщені в цитозолі. Міжклітинні простори вузькі, а самі клітини набували видовженої форми. Міжклітинні контакти

перекривались у вигляді складного короткого стикування. Плазмолема містила незначні псевдоподії (рис. 3.92).

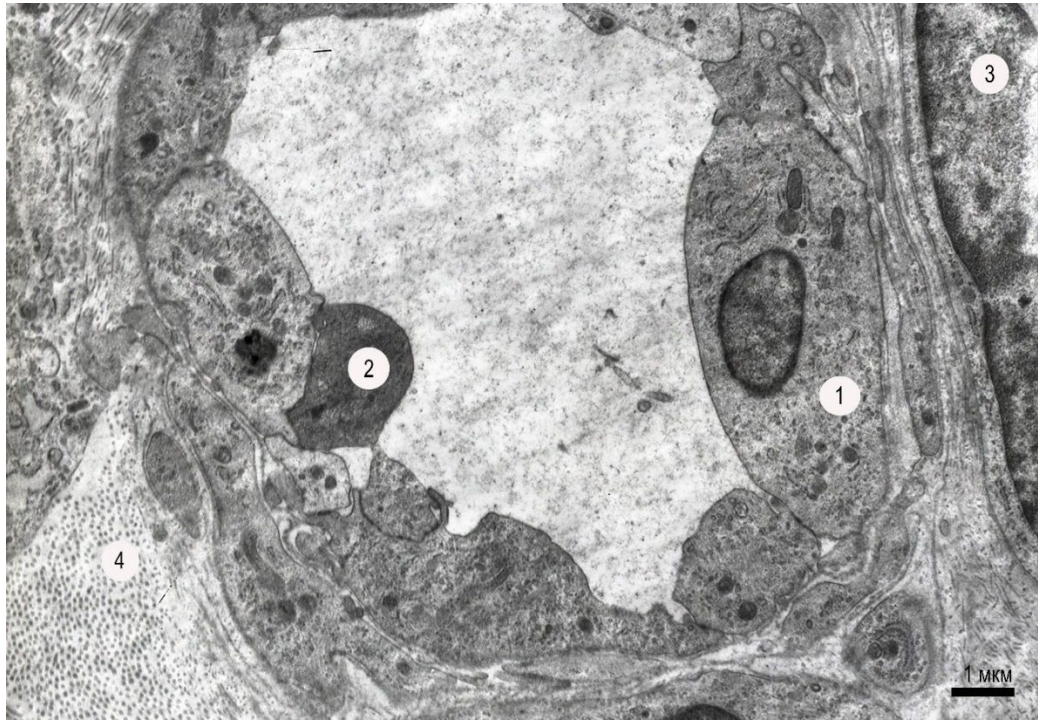


Рис. 3.91. Капіляр: ендотеліоцит (1), тромбоцит (2), фрагмент перицита (3), поперечний переріз колагенових волокон (4) x 6000

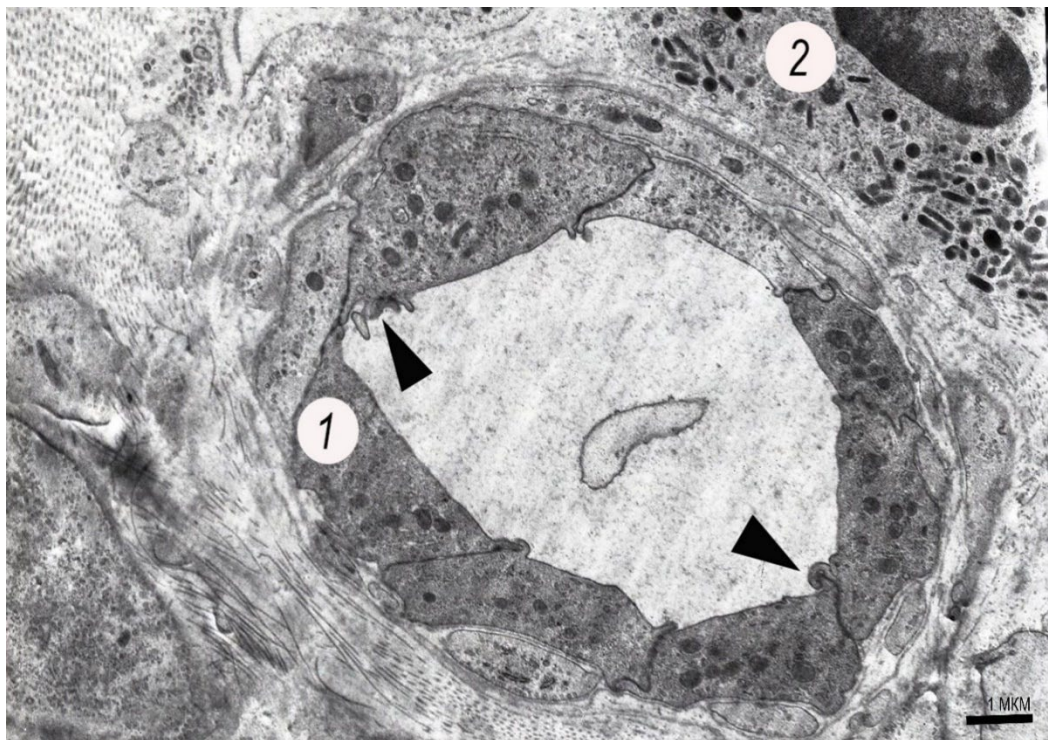


Рис. 3.92. Капіляр: ендотеліоцит із значною кількістю мітохондрій в цитоплазмі (1), сегментоядерний нейтрофільний гранулоцит (2), псевдоподії (стрілки) x6000

У колагеновому матриксі новоутворення розміщувалися фіброцити з яскраво вираженим ядрецем із фібрилярними центрами, ядерні пори відкриті, перинуклеарна цистерна виражена. У цитоплазмі візуалізувалася значна кількість розширених цистерн комплексу Гольджі, поодинокі мітохондрії (рис. 3.93). У перикаріоні проглядався гранулярний ретикулум.

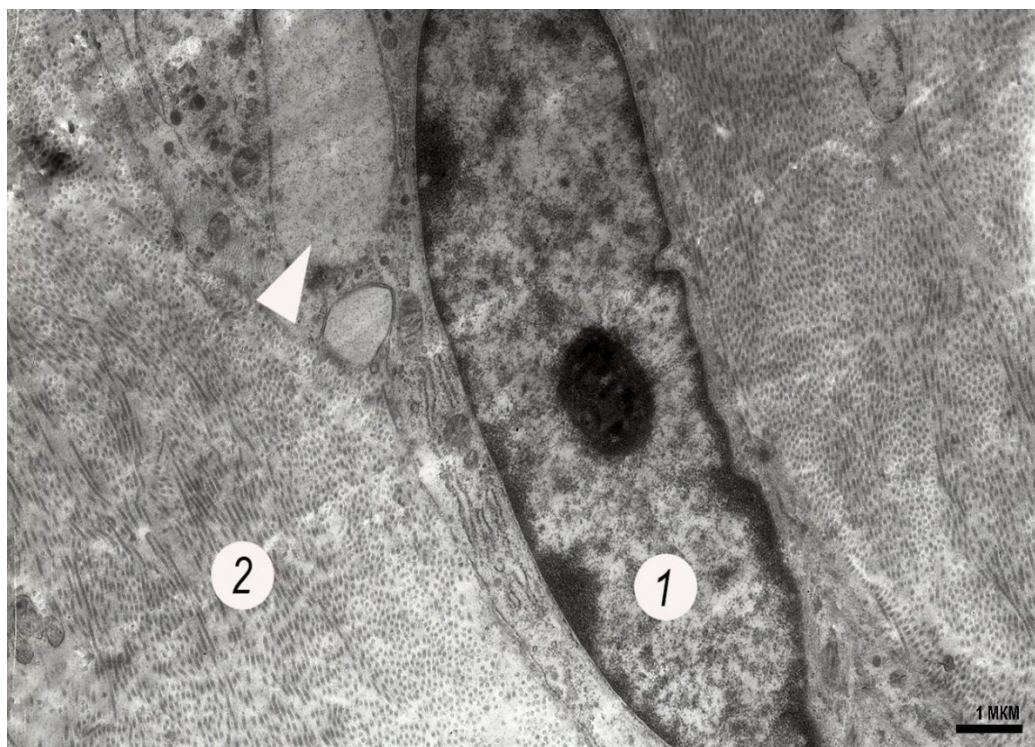


Рис. 3.93. Фіброцит: ядро з ядрецем із вираженими фібрилярними центрами, колагенові волокна (2), розширені цистерни комплексу Гольджі (стрілка) x 6000

Ядра фібробластів дещо округлі, також містили ядрця з високою електронною щільністю та вираженими фібрилярними центрами, гетерохроматин не виражений. Більшу масу ядра займав еухроматин (рис. 3.94). Перинуклеарна цистерна виражена, ядерні пори відкриті. Каріолема з незначними інвагінаціями. У цитоплазмі проглядалися розширені цистерни комплексу Гольджі, рибосоми, поодинокі мітохондрії, пероксисоми, чисельні везикули (рис. 3.94).

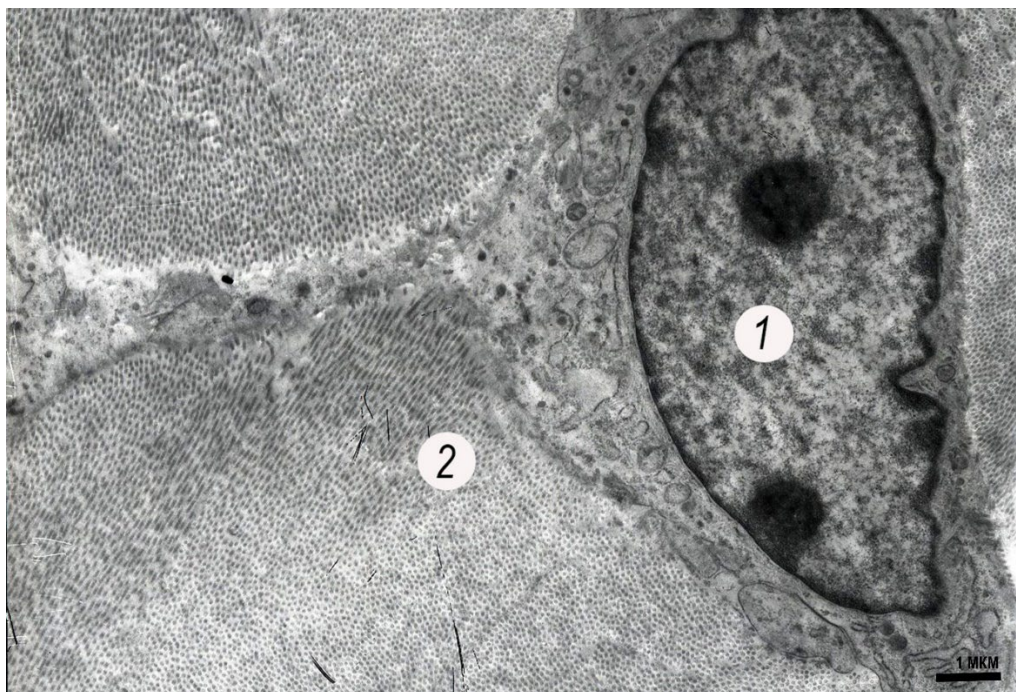


Рис. 3.94. Фібробласт: ядро з електронно-щільними ядерцями (1), колагенові волокна (2). x 6000

На електроннограмах у деяких ядрах фіброцитів виявляли електронно-щільні округлі утворення (рис. 3.95). Перинуклеарна цистерна не виражена. У цитоплазмі візуалізувалися мікрофіламенти, відкриті ядерні пори, мікрофіламенти. У перикаріоні відзначали розширені цистерни комплексу Гольджі, у яких також виявляли електронно-щільні включення (рис. 3.96, 3.97).

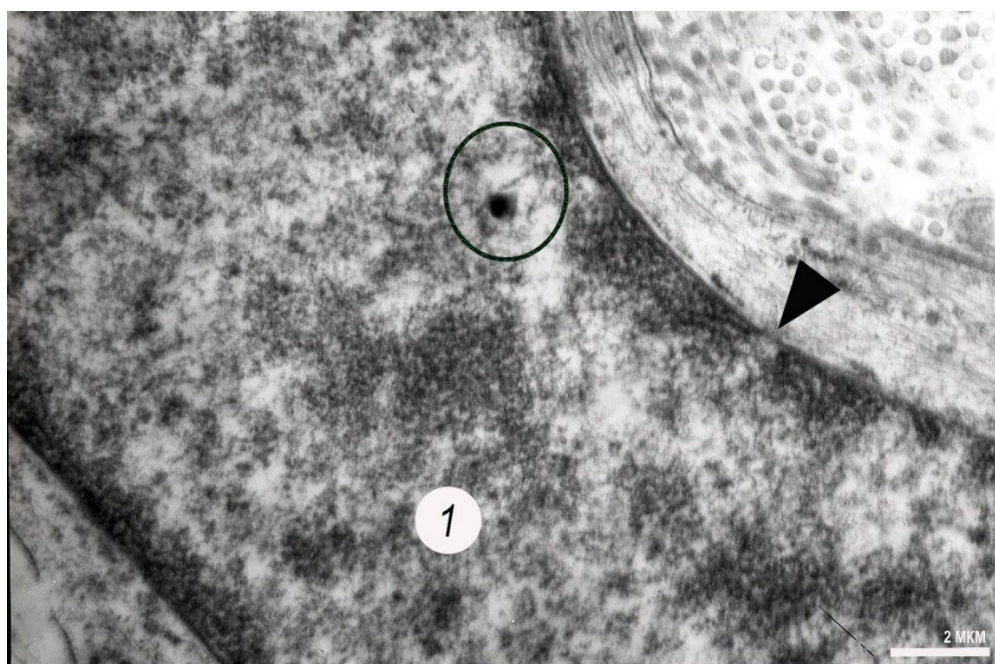


Рис. 3.95. Ядро фібробласта (1), відкриті ядерні пори (стрілка), електронно-щільне кругле утворення (в колі) x 18 000



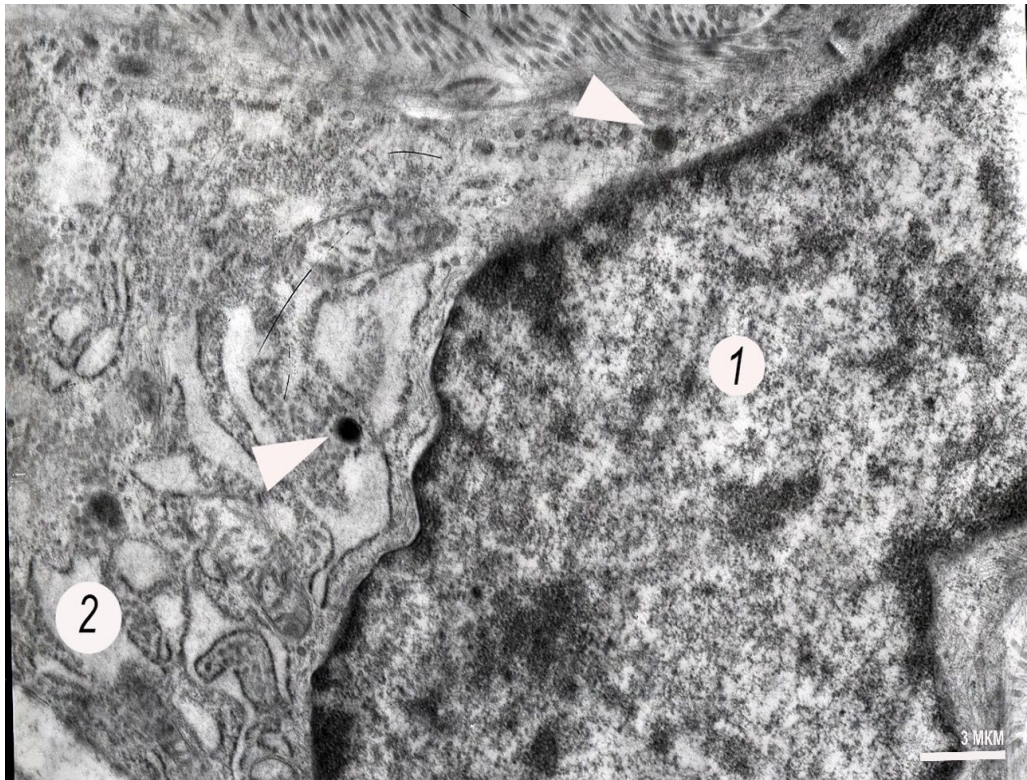


Рис. 3.96. Ядро фібробласта (1), розширені цистерни комплексу Гольджі (2), електронно-щільне кругле утворення (стрілка) x 10 000



Рис. 3.97. Ядро фібробласта (1), комплекс Гольджі з електронно-щільним круглим утворенням (стрілка) x 14 000



Рис. 3.98. Капіляр: перицит (1), ендотеліальні клітини (2), псевдоподії (стрілка). х 8000

Отже, у результаті електронно-мікроскопічного дослідження саркоїду встановлено, що основний клітинний пул новоутворення представлений фібробластими різного ступеня диференціювання, переважно незрілими, із високою активністю, на що вказувала значна кількість розширених цистерн комплексу Гольджі, розгалужений гранулярний ендоплазматичний ретикулум та ядра зі значною кількістю інвагінацій, відкритих пор і міофіламентів у перинуклеарному та інтрацитоплазматичному просторі. Ядра фіброblastів, здебільшого, округлої неправильної форми, подекуди траплялись внутрішньоядерні сферичні електронно-щільні утворення. Ядерця з вираженими фібрилярними центрами, електронно-щільні. Місцями наявні декілька ядерць. Між колагеновим матриксом, фібробластими та фіброцитами відзначали активне формування значної кількості капілярів, про що свідчить велика кількість ендотеліоцитів із псевдоподіями на маргінальній частині цитоплазми та на базальній поверхні. Це вказує на їх ембріональний тип. Ендотеліоцити містили великі округлі ядра, в цитоплазмі – значну кількість мітохондрій.

Крім того, встановлено високу тромбоцитарну активність, що проявлялась адгезією клітин до маргінальної частини цитоплазми ендотеліоцитів. Зазначимо, що більшість капілярів належала до венозного типу, про що свідчить висота ендотеліоцитів, наявність значної кількості мітохондрій та великої кількості везикул. Також у цитоплазмі виявлено достатньо філаментів.

Результати досліджень опубліковано у науковій праці:  
Портенко М., Щербентовська О., Костинюк А. (2023). [100].

### **3.8. Висновок до розділу 3**

Узагальнюючи результати досліджень, описані у 3 розділі, можемо сказати, що кількість коней із саркоїдом у західних областях України стрімко збільшується. Імовірно, це пов'язано з утриманням тварин у конюшнях, які розташовуються поблизу ферм з ВРХ, спільним використанням спорядження від коней із саркоїдом та здоровими тваринами, відсутністю аліментарних методів боротьби з ектопаразитами та кровосисними комахами в денниках, збільшенням кількості коней, які перетримуються у карантині перед транзитом до країн Європи. За результатами ретроспективного дослідження, проведеного упродовж 2019 – 2023 років, досліджено 2552 коней, з яких у 328 тварин клінічно діагностовано саркоїд. Встановлено, що найбільшу кількість випадків саркоїду коней фіксували у Львівській області – 15,28 %, Рівненській – 14,06 %, Тернопільській – 10,48 % та Івано-Франківській – 9,63 %. Найпоширенішим клінічним типом саркоїду був плоский – 32 %, верукозний – 24,08 %, фібробластичний – 20,7 % та змішаний – 14,02 %.

За клінічними проявами виділяли прихований або плоский саркоїд, який утворював обмежені та чіткі ділянки алопецій, що, зазвичай, тривалий час залишалися незмінними, окремі збільшувались. Нодулярний або вузликовий саркоїд локалізувався повністю підшкірно, формуючи різних розмірів сферичні вузли, які в одних випадках були рухомі, в інших – вросли в дерму. Верукозний саркоїд вирізнявся вираженим потовщенням шкіри, гіперкератозом та ураженням

глибших шарів дерми. Агресивний характер новоутворення відзначали у фібробластичному саркоїді, зазвичай, з утворенням масивних виразкових поверхонь, уражень як шкіри, так і підшкірної клітковини. Змішаний тип саркоїду поєднував у собі нодулярний, верукозний та фібробластичний із переважанням, зазвичай верукозного або фібробластичного типу пухлини. Злоякісний саркоїд рідко зустрічався і характеризувався утворенням вузлів і виразкових мас незрілої фібробластної тканини по ходу лімфатичних судин.

Застосувавши гістологічний, гістохімічний та імуногістохімічний методи досліджень, вдалось довести, що усі клінічні типи саркоїду на світлооптичному рівні побудовані з клітин фібробластичного ряду та відрізнялися виключно кількістю стромальних елементів та інвазивністю росту, що свідчить про стадійність розвитку новоутворення. Встановлено інтенсивний синтез фібробластами незрілої сполучної тканини у поверхневих шарах саркоїду, що підтверджено синтезом значної кількості колагену III типу, тоді як у глибоких шарах новоутворення зменшувалася кількість аргірофільних волокон, що зумовлено формуванням колагену I типу з повним заміщенням та трансформацією колагену III типу.

Дослідили явище моноцитогенезу в фібробластичному типі саркоїду, що супроводжувалось утворенням полікаріоцитів. Встановили наявність кислих глікозаміногліканів та протеогліканів у навколосудинних просторах саркоїду, які відіграють ключову роль у регулюванні процесів росту та диференціюванні клітин, а також у фібрилогенезі.

Застосовувавши метод напівтонких зрізів нам вдалося виявити тонку структурну організацію як тканини самого саркоїду, так і прослідкувати пухлинний неоангіогенез. Активно проліферуючі клітини новоутворення, які представляли «фракцію росту» саркоїду, зафіксували за допомогою імуногістохімічного маркера проліферації Ki-67, який у фібробластичному типі саркоїду був найвищий і становив  $23,2 \pm 2,3$  %, мітотичний індекс при цьому складав  $9,7 \pm 1,3$ . Це вказувало на високий ризик рецидиву та злоякісність такого типу новоутворення.

Ультраструктурним дослідженням встановлено функціональну неоднорідність мікросудин, де більшість капілярів мали широкі просвіти, ендотеліоцити диференціювались на юні (світла цитоплазма), зрілі (сіра) та старі (темна цитоплазма). У цитоплазмі присутня значна кількість везикул, зосереджена по люмінальному краю, що вказувало на явно венозний тип капілярів. Також ми виявили значну кількість адгезованих до люмінальної поверхні ендотеліоцитів тромбоцитів, що вказує на інтенсивний ангиогенез у тумурозній тканині.

## РОЗДІЛ 4

### УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Велика кількість досліджень, проведених за останні роки, свідчить про те, що саркоїд є доброякісною пухлиною шкіри, проте впливає на добробут тварини та їх цінність. Ця пухлина стала терапевтичним викликом для ветеринарних лікарів-практиків, оскільки локалізується в різних місцях і викликає дискомфорт у коней. До того ж, часто нема можливості провести хірургічні маніпуляції. Саркоїд не поширюється на внутрішні органи, тому уражені коні можуть абсолютно нормально жити, а після успішного лікування працювати або тренуватися. Учені десятиліттями намагаються знайти універсальне лікування, проте досягти значних успіхів не вдалося до сьогодні.

Незважаючи на те що саркоїд уражає коней будь-яких порід та відсутня чітка диференціація за статтю та віком, все ж була виявлена певна породна схильність до саркоїду в коней американський квотерхорс, аппалуза та арабські коні [4, 110, 111]. Broström et al. стверджують, що коні шведської напівкровки, ірландські кобили, французький сель є більш чутливими до розвитку саркоїду [17, 78].

Саркоїд може уражати коней у будь-якому віці. Найчастіше, за спостереженнями окремих учених, його виявляли у молодих коней до 7 років, що також узгоджується з нашими спостереженнями [109, 113, 127]. Щодо локалізації новоутворень на тілі коней, то в наших випадках саркоїд здебільшого виявляли у ділянці черевної стінки, паху та грудної клітки, що підтверджується результатами інших дослідників. Проте новоутворень на кінцівках ми не виявляли [17, 58]. Knottenbelt, D. C. вважав, що, незважаючи на генетичну сприйнятливність, жоден кінь не може вважатися повністю вільним від захворювання і необхідно проводити ретельнішу селекцію, уникаючи розведення двох уражених саркоїдом коней. Важливим фактором при передачі вірусу від хворих до здорових коней є їх спільне утримування, використання одного реманенту, збруї, прихваток, щіток, з якими працюють як на здорових, так і хворих конях. Особиста гігієна доглядача також має важливе значення у поширенні захворювання. Більшість дослідників вважають, що

слід уникати контакту коней з великою рогатою худобою, особливо коли відомі факти її ураження BPV [5, 58, 74, 118].

Утворення саркоїду також відоме як одне з основних віддалених ускладнень при загоєнні ран у коней [51, 52]. Автори припускають, що у здорових, генетично схильних коней BPV-1/BPV-2 може бути відповідальним за аномальну проліферацію фібробластів, з одного боку, а з іншого – за зміни в динаміці позаклітинного матриксу та його основних компонентів (наприклад, колагену). Ці зміни можуть спричинити зміну процесу загоєння ран і, отже, можуть бути важливим фактором у патогенезі саркоїду коней. Гіпотеза про те, що рак може бути «раною, яка не заживає», була підтверджена численними дослідженнями [112, 113] і вказує на те, що загоєння ран і пухлиногенез постійно схожі з точки зору гістологічних особливостей. Більшість авторів, які вивчали питання саркоїду коней, стверджують, що біопсія новоутворення призводить до різкого погіршення і стимулює інтенсивніший розвиток агресивних фібробластів.

Гістологічні зміни, які відзначали автори [65], схожі на ті, що виявляли ми у досліджених саркоїдах: щільну дермальну та гіподермальну проліферацію веретеноподібних фібробластів, які утворювали пучки, переплетені між собою у вигляді муарових структур. Зазвичай, імуногістохімічні дослідження допомагають в діагностиці саркоїду, хоча моделі експресії білків не вважаються високоспецифічними. Окремі автори відзначали, що фібробласти при саркоїді експресують віментин, проміжну нитку, що ідентифікує мезодермальне походження новоутворення, а також фіксували випадки позитивних реакцій білкового компоненту базальної пластинки епітеліальних клітин - ламініну, актину гладких м'язів і колагену IV типу [11, 27, 72]. Нашими дослідженнями встановлено, що у всіх трьох випадках фібробластичного саркоїду відбувалась інтенсивна експресія віментину, який пов'язаний з формуванням цитоскелета, регуляцією сигнальної трансдукції та клітинної адгезії [8, 25, 131, 132]. Наприклад, лабораторні дослідження, проведені на мишах, підтвердили, що відсутність віментину пов'язана з порушенням міграції кліти. Водночас його підвищена регуляція тісно пов'язана з епідермально-мезенхімальним переходом у культурах епітеліальних

клітин, що відіграє важливу роль у метастазуванні раку [25, 40]. Спостережувані відмінності в картині експресії віментину можуть вказувати на те, що саркоїдні клітини характеризуються більш високою експресією аналізованого гена. Ці результати можуть спонукати до висновку, що клітини саркоїду мають вищу здатність до міграції, ніж фібробласти.

Наші гістологічні та імуногістохімічні дослідження саркоїдів показали, що фібробласти становили основну клітинну популяцію новоутворення, решта складалася з фіброцитів. У напівтонких зразках тканин саркоїду є підвищений вміст колагену, який хаотично та дезорганізовано розміщувався в дермі. У своїх дослідженнях Williams et al. [124] зазначають, що при нормальному загоєнні асептичної рани шкіри виявляють переважно колаген III типу з великою кількістю міофібробластів. У наших дослідженнях, при застосуванні методу гістохімічного виявлення колагену, також було встановлено, що структуру саркоїду переважно формують колагенові волокна I типу, проте виявлено і значну кількість колагену III типу в поверхневих шарах новоутворення.

Проаналізувавши результати наших досліджень, а також висновки інших вчених, можемо переконливо свідчити, що саркоїдні пухлини насправді походять з мезенхімальних клітин. Розвиток цього новоутворення може бути результатом стимульованої фібробластами проліферації верхніх епітеліальних клітин, фібробластів у дермі та гіподермі, що призводить до проліферації та вироблення більшої кількості молодого колагену [81, 93].

Сьогодні вже відомо, що практично усі пухлини мають своє власне кровопостачання. Раніше вважалося, що судинна система пухлини є більш розвинутою, ніж у нормальних тканинах. Це хибне уявлення виникало через те, що судини новоутворень були здебільшого великих розмірів і, отже, більш помітні, ніж менші, але функціонально ефективніші кровоносні судини нормальних тканин. На початку 1970-х років стало зрозуміло, що загальний кровотік у пухлинах був значно нижчим, ніж у нормальних тканинах, і що пухлини повинні були індукувати судинне кровопостачання, щоб вирости з маленьких розмірів до великих. Також припускалося, що пухлини індукують свою новоутворену судинну систему шляхом



секреції ангіогенних факторів, але ідентичність цих факторів тільки починали досліджувати. Через кілька наступних років заговорили про молекулярну основу ангіогенезу і, зокрема, про роль ангіогенного фактора, тобто фактора проникності судин – чинника росту ендотелію судин. У своїх дослідженнях [72] висунув гіпотезу про те, що фактор росту ендотелію судин може відігравати ключову роль у розвитку саркоїду, змінюючи гомеостаз позаклітинного матриксу через популяцію фібробластів, що призводив до порушення деградації та їх надмірного накопичення у позаклітинному матриксі [72, 116]. Надмірне та прогресуюче відкладення сполучної тканини (колагену) при саркоїді стало не лише результатом підвищеного синтезу фібробластами, але також спричиняло деградацію матриксу через змінену експресію матриксної металопротеїнази та тканинного інгібітора металопротеїнази [7].

На сьогодні встановлено, що клітини новоутворення співіснують у складному середовищі із стромальними клітинами, а їх ріст і поширення залежать від тісної та пластичної взаємодії з компонентами мікрооточення пухлини (ММЕ), включно з тромбоцитами та ендотеліальними клітинами (ЕК) пухлини. Тромбоцити проникають у мікрооточення пухлини для безпосередньої взаємодії з клітинами пухлин та можуть активувати ті самі проліферативні шляхи, які активуються через онкогенні мутації, сприяючи таким чином ініціації та прогресуванню захворювання.

У 1998 році зробили припущення, що підвищена адгезія тромбоцитів до судинної мережі пухлини та наступна активація тромбоцитів регулюються стимулами пухлинних клітин і можуть різнитися для кожного типу пухлини. Однак вони припустили, що кількість тромбоцитів, які прилипають і (частково) активуються, має вирішальне значення для визначення цих впливів на ангіогенез пухлини, і що неоднорідність популяції тромбоцитів і різниця в їх кількості можуть спричиняти різні впливи на судинну систему пухлини [50, 54].

Деякі ракові клітини експресують тканинний фактор (ТФ) на своїх клітинних мембранах. Він активує плазматичний каскад коагуляції та, нарешті, генерує тромбін, який, у свою чергу, індукує активацію тромбоцитів [26, 73]. Окрім

активації коагуляційного каскаду та тромбоцитів, тромбін має ключове значення майже для кожного етапу метастатичного каскаду. Тромбін сприяє проліферації пухлинних клітин і росту пухлини, наприклад, шляхом активації PAR-1 і фібриногену [92]. У мікрооточенні пухлини тромбін-стимульовані фібробласти та макрофаги виділяють моноцитарний хемотаксичний білок, який сприяє інвазії протуморогенних мієлоїдних клітин [114]. Тромбін також має декілька впливів на ендотеліальні клітини, які підтримують ангиогенез, наприклад, шляхом посилення мітогенної активності VEGF на ендотеліальних клітинах. Крім того, тромбін пригнічує апоптоз та індукує проліферацію й диференціювання судинних клітин-попередників. Стимульовані тромбіном ендотеліальні клітини виявляють округлу морфологію і втрату спайок, що полегшує трансендотеліальну міграцію пухлинних клітин [112, 114].

У результаті наших досліджень фібробластичного типу саркоїду виявлено функціональну неоднорідність ендотелію в межах однієї мікросудини, тобто в капілярах простежувалося три види ендотеліальних клітин: клітини з більш світлою цитоплазмою – юні, клітини з сірою цитоплазмою – зрілі та клітини з темною цитоплазмою – старі. Більшість ендотеліоцитів у капілярах плоскі, повністю відсутні м'язові елементи. Базальний шар місцями переривався. Подекуди візуалізувалися міжклітинні щілини – перфорації. Значно виражений фібрилярний компонент у вигляді тонких філаментів у цитоплазмі ендотеліоцитів. Переважна більшість капілярів мала широкі просвіти, в цитоплазмі наявна значна кількість везикул, більшість яких зосереджена по люмінальному краю. Усі ці факти вказують на явно венозний тип капілярів, тому більшість виявлених капілярів належить до дифузійного відділу системи мікроциркуляції. Відповідно, гемато-тканинний обмін у даному відділі найбільш виражений та пристосований. Також слід відзначити значну кількість світлих клітин та адгезованих до люмінальної поверхні ендотеліоцитів тромбоцитів, що вказує на інтенсивний ангиогенез у тумурозній тканині.

Тромбоцити мають здатність доставляти численні проангіогенні фактори до пухлини, включно з фактором росту ендотелію судин, тромбоцитарним фактором

росту, фактором росту фібробластів і ММР. Вони також здатні стимулювати експресію проангіогенних факторів пухлинними клітинами. Таким чином, тромбоцити сприяють неоваскуляризації, яка необхідна для забезпечення адекватного кровопостачання для доставки необхідних поживних речовин, видалення відходів і оксигенації пухлини [115]. У кровообігу тромбоцити допомагають циркулюючим пухлинним клітинам уникнути смертельної атаки імунної системи, створюючи частковий фізичний бар'єр для природних клітин-кілерів, утворюючи агрегати тромбоцитів і пухлинних клітин, а також перешкоджаючи розпізнаванню ракових клітин природними клітинами [26, 92, 103]. Ця здатність тромбоцитів захищати пухлинні клітини в циркуляції від імунного нагляду, імовірно, значною мірою сприяє метастатичному процесу. Крім того, шляхом активації шляхів тромбоцитарного трансформуючого фактора росту- $\beta$ /Smad і ядерного фактора  $\kappa$ B, тромбоцитарний трансформуючий фактор росту- $\beta$  сприяє інвазивному фенотипу переходу епітелію в мезенхіму в ракових клітинах і збільшує метастази. Тромбоцити також можуть сприяти метастазам, допомагаючи циркулюючим пухлинним клітинам прикріплюватися до ендотелію, даючи сигнали для створення передметастатичної ніші та полегшуючи екстравазацію у віддалену ділянку. Значна клітинна інфільтрація сегментоядерними нейтрофільними лейкоцитами може свідчити також про імунну реактивність.

Сьогодні вже добре відомо, що Ki-67 є негістоновим ядерним білком, який експресується проліферуючими клітинами при всіх активних фазах клітинного циклу. Підвищену експресію Ki-67 завжди спостерігають при запальних процесах та злоякісних станах. При саркоїді ризик рецидиву прямо пов'язаний з високою експресією фактора проліферації.

Одним із найважливіших принципів будови сполучної тканини на тканинному рівні організації є відповідність архітектоніки функціональним особливостям тканин, перш за все – механічній функції. Відомо, що такі біомеханічні властивості як міцність на розрив і модуль Юнга в окремих колагенових волокнах, виокремлених із різних тканин, різняться незначно. Відповідно, основною причиною механічних відмінностей є різні геометричні

способи укладання волокон та пучків, а також характер взаємодії колагену та інших компонентів. Основним фактором, що визначає архітекtonіку волокон, є сила і топографічний розподіл навантажень, які діють на тканину. Архітекtonіка розподілу фібрил визначається локальним механічним напруженням та змінюється залежно від напрямку лангеровських ліній найменшого розтягнення, глибини та розміщення в різних тканинах. Слід відзначити, що тенденція до спіралеподібного скручування фібрил у волокні – досить характерна особливість колагенових утворень формувати спіралі на всіх рівнях організації: спіральний поліпептидний ланцюг, трьохланцюгова суперспіраль молекули колагену, спіральне скручування молекул у первинному філаменті, а також філаментів у субфібрили та фібрили і, насамкінець, часте скручування фібрил у волокні і волокон у пучки. Така надмірна конструкція, вочевидь, необхідна для опорної функції сполучної тканини, що перебуває під значними біомеханічними навантаженнями. Виявлена нами спіралізація фібрил характерна саме для масивних фібробластичних саркоїдів, що звисали на ніжці. Відмічена перпендикулярність колагенових фібрил до базального шару епідермісу, так званий вигляд «штахетника» ми простежували в новоутвореннях, які локалізувалися на нижній частині черева дистально до землі. Таким чином, просторова орієнтація колагенових фібрил чітко спрямована на сили гравітаційного навантаження, що діють на масивні фібробластичні утворення.

За допомогою своїх довгих відростків фібробласт регулює складну тривимірну конструкцію взаємовідносин волокон і пучків. На це ж спрямована траєкторія руху клітини, яка визначається лініями «напруження», тобто біомеханічним навантаженням на щойно утворену тканину.

Мезенхімальні клітини після свого диференціювання в ембріогенезі у спеціалізовані сполучнотканинні клітини реалізують закладену в них генетичну програму на всіх етапах і рівнях структурної організації тканини. Оскільки на поверхні фібробластів є система рецепторів до колагену, між клітиною та волокнами в процесі конструювання існує зворотний зв'язок. При невідповідності специфічно розміщених рецепторів та невідповідності структури і біомеханічної функції міжклітинні утворення за допомогою рецепторного апарату сигналізують

про помилку, на яку реагує фібробласт, і шляхом секреції колагенази або прямої фіброклазії відновлюють правильну структуру. Таким чином відбувається зміна структур, що складаються з колагену III типу на волокна I типу. Так відбувається біомеханічна відповідність структури та функції. Отже, спеціалізовані тканини утворюються спеціалізованими клітинами. Відповідно, в умовах неоплазії неспеціалізовані фібробласти та їхні попередники не можуть забезпечити специфічну будову тканин, що утворюються та формують в багатьох випадках чудернацькі структури на взірець муарових. Відмічені нами муарові структури були характерні для масивних фібробластичних саркоїдів, які локалізувалися на внутрішній поверхні стегна. Клітини з порушеним рецепторним апаратом не можуть чітко виконувати генетичну програму, тому виникає неузгодженість між біомеханічним навантаженням та структурною невідповідністю, що й призводить до утворення неправильних або хаотичних структур.

Неопластичні новоутворення в процесі своєї проліферації потребують значної кількості поживних речовин. Тому основне розмноження тумурозних клітин відбувається вздовж кровоносних судин великого діаметра. Новоутворення з активним проліферативним ростом виділяють пухлинний фактор, який досліджував у своїх роботах Фолькман. Цей фактор індукує неоангіогенез. Гемокапіляри у новоутвореннях значних розмірів, та й загалом у новоутвореннях, значно відрізняються своєю морфологією від звиклих капілярів. Слід зазначити, що судинна стінка у новоутворених судинах має примітивну будову і здебільшого побудована з одного ендотеліального шару без утворення медії. Ендотеліоцити мають плоску форму, значні ядра, чисельні випинання на люмінальній та базальній поверхнях. Базальна мембрана не утворює суцільного шару, а є переривчаста та містить пори. У глибоких шарах новоутворення створюються гіпоксичні умови, що є передумовою для індукування росту ендотеліоцитів, що різко стимулює неоангіогенез. З вищеприписаного випливає, що для гематотканинного обміну в тумурозному утворенні формуються головню гемокапіляри, побудовані за типом капілярних венул, де бар'єр формується лише шаром ендотелію та базальної мембрани з окремими перицитами [54, 55]. Даний відділ можна характеризувати як

дифузійний відділ системи мікроциркуляції. Колекторна або ємнісна функція венозного відділу відображається у співвідношенні величини просвіту венозних мікросудин і товщини їх стінок. Наростаюча перевага величини просвіту над товщиною стінки ілюструє значні пристосувальні можливості цього відділу. Це є основою трофічного забезпечення клітинного пулу новоутворення, що збільшується в геометричній прогресії [55].

Виявлені гігантські химерні клітини, що нагадують полікаріоцити, на нашу думку, є особливим різновидом амітотичного поділу – сегрегацією. Ця форматакож має назву брунькування. Сегрегація проявляється в тому, що від основної маси каріоплазми, яка досягає значної величини, одномоментно відшнуровуються ядра однакової або різної величини. Після кінцевого розчленування каріоплазми та плазмоцитозу утворюється клітинна генерація, що виникає моноцитогенетичним шляхом.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на основі комплексних методів досліджень уперше в Україні проведено ретроспективний аналіз поширення саркоїду коней у західних областях України (Львівській, Тернопільській, Івано-Франківській та Рівненській), охарактеризовано клініко-анатомічні форми, визначено його основні морфологічні структури.

1. За ретроспективних досліджень, проведених у період 2019–2023 років, встановлено, що із 2552 досліджених коней у 12,85 % клінічно діагностовано саркоїд. Відсоток тварин з саркоїдом у Львівській області становив 15,3 %, Тернопільській – 10,5 %, Івано-Франківській – 9,6 % та Рівненській – 14 %. Домінуючим типом новоутворення в коней був плоский саркоїд, що становив 32 % від усіх досліджуваних пухлин, верукозний займав 24,08 %, фібробластичний – 20,7 %, змішаний – 14,02 %, дещо менше нодулярний – 8,5 % і злоякісний – 0,6 %.

2. Породної приналежності коней щодо зараження саркоїдом ми не встановили. Більшість досліджуваних тварин були меринами – 63,7 %, кобили становили – 36,3%, віком від 2 до 7 років. Найбільшу локалізацію новоутворень фіксували на черевній стінці – 53 %, в ділянці паху – 15 %, грудній клітці – 27%, на голові та шиї, відповідно, 3 та 2 %.

3. За клінічними проявами верифіковано такі типи саркоїду: прихований – утворювалися чітко обмежені ділянки алопецій, які збільшувалися або залишалися незмінними; нодулярний саркоїд – характеризувався повністю підшкірною локалізацією з формуванням сферичних вузлів різного розміру; верукозний саркоїд – встановлено виражене потовщення шкіри, гіперкератоз та ураження глибших шарів дерми; фібробластичний – новоутворення великих розмірів, щільної консистенції з вираженою васкуляризацією, переважно виразковою поверхнею; змішаний саркоїд об'єднував у собі два або більше вищезгаданих типів; злоякісний саркоїд – великих розмірів, поширювався по ходу лімфатичних судин із утворенням вузлів і виразкових мас незрілої фібробластичної тканини.

4. Гістологічно встановлено, що різні клініко-анатомічні форми саркоїду побудовані з клітин фібробластичного ряду та різняться між собою виключно кількістю стромальних елементів та інвазивністю росту, крім плоского саркоїду.

5. Морфологічно встановлено, що найбільш злякисним типом саркоїду коней був фібробластичний з характерним інфільтративно-інвазивним ростом, значною кількістю мітозів –  $36,4 \pm 1,8$ , високою мітотичною активністю – 12,2 %, вираженим клітинним поліморфізмом, анізокаріозом, переважанням колагенових волокон I і III типу на поверхні новоутворення та грубих колагенових волокон I типу в його стромі. Значний ангиогенез у тумурозному утворенні вказував на його високу злякисність та інвазивність.

6. Гістохімічно у фібробластичному саркоїді виявлено значну кількість поліцукоридів та глікопротеїдів у колагені III типу. Це пов'язано з інтенсивним синтезом фібробластами незрілої сполучної тканини. Виявлення кислих глікозаміногліканів та протеогліканів у навколосудинних просторах вказує на трофічну функцію та їх іонообмінну активність. Значна кількість ретикулярних волокон у поверхневих шарах новоутворення свідчить про трансформацію та метаплазію фібробластичного саркоїду, особливо під впливом зовнішніх чинників.

7. Імуногістохімічно у всіх типах саркоїду встановлено інтенсивну дифузну цитоплазматичну експресію віментину, що вказує на його мезенхімальне походження.

8. Ультраструктурно встановлено, що основний пул новоутворення представлений фібробластами різного ступеня диференціювання. Більшість клітинних елементів мали розширені цистерни комплексу Гольджі, значний гранулярний ендоплазматичний ретикулум, містили в цитозолі велику кількість філаментів та ядер з розвинутим фібрилярним центром, що вказує на фібробластичний тип клітинних елементів.

9. Встановлено функціональну неоднорідність ендотелію в межах однієї мікросудини, а саме: присутність юних клітин з світлою цитоплазмою, зрілих із сірою цитоплазмою та старих з темною цитоплазмою, наявність міжклітинних перфорацій, виражений фібрилярний компонент у цитозолі ендотеліоцитів,



адгезованих до люмінальної поверхні ендотеліоцитів тромбоцитів, що вказує на інтенсивний ангиогенез.

## ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для ранньої діагностики саркоїду коней слід застосовувати комплекс методів: фізикальні, гістологічні та гістохімічні з метою верифікації та визначення приналежності новоутворень до тої чи іншої морфогенетичної групи тканин, імуногістохімічні – з використанням специфічних маркерів віментину та Ki-67.

2. При верифікації саркоїду коней виявлені нами особливості, а саме: PAS-позитивність, наявність значної кількості колагену I типу та менше колагену III типу, відсутність еластичних волокон у саркоїді – можна вважати однією з цінних діагностичних ознак у встановленні типу новоутворення.

3. З метою зменшення трансмісивної передачі вірусу BPV серед коней використовувати фізичні та хімічні методи боротьби з ектопаразитами та кровосисними комахами на конюшнях. Обов'язково проводити дезінфекцію машинок для стрижки коней.

4. Ексцизійну біопсію фібробластичного саркоїду проводити після санації із застосуванням детомідину гідрохлориду (0,02 мг/кг) в комбінації з бутарфанолу тартрат (0,025 мг/кг) шляхом широкого висікання новоутворення в межах здорових тканин із відступом від пухлини на 1-2 см з наступним накладанням швів або електрокоагуляцією тканин.

5. Отримані результати досліджень слід використовувати в навчальному процесі при викладанні дисципліни «Патологічна анатомія і розтин», «Клінічна патоморфологія» при підготовці лікарів ветеринарної медицини у закладах вищої освіти та практичними ветеринарними лікарями.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Abel-Reichwald, H., Hainisch, E. K., Zahalka, S., Corteggio, A., Borzacchiello, G., Massa, B., Merlone, L., Nasir, L., Burden, F., & Brandt, S. (2016). Epidemiologic analysis of a sarcoid outbreak involving 12 of 111 donkeys in Northern Italy. *Veterinary microbiology*, 196, 85–92. doi.:10.1016/j.vetmic.2016.10.021.
2. Allen, T.D. (2008). *Introduction to Electron Microscopy for Biologists (Methods in Cell Biology, Vol.88)*, Academic Press Inc.
3. Amtmann, E., Müller, H., & Sauer, G. (1980). Equine connective tissue tumors contain unintegrated bovine papilloma virus DNA. *Journal of virology*, 35(3), 962–964. doi.:10.1128/JVI.35.3.962-964.1980.
4. Angelos, J. A., Marti, E., Lazary, S., & Carmichael, L. E. (1991). Characterization of BPV-like DNA in equine sarcoids. *Archives of Virology*, 119, 95–109. doi:10.1007/BF01314326.
5. Angelos, J., Oppenheim, Y., Rebhun, W., Mohammed, H., Antczak, D.F. (1988). Evaluation of breed as a risk factor for sarcoid and uveitis in horses. *Animal Genet*, 19, 417–425.
6. Ashrafi, G. H., Piuko, K., Burden, F., Yuan, Z., Gault, E. A., Müller, M., Trawford, A., Reid, S. W. J., Nasir, L., & Campo, M. S. (2008). Vaccination of sarcoid-bearing donkeys with chimeric virus-like particles of bovine papillomavirus type 1. *The Journal of general virology*, 89(Pt 1), 148–157. doi.:10.1099/vir.0.83267-0.
7. Bao, P., Kodra, A., Tomic-Canic, M., Golinko, M. S., Ehrlich, H. P., & Brem, H. (2009). The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *The Journal of surgical research*, 153(2), 347–358. doi:10.1016/j.jss.2008.04.023.
8. Battaglia, R. A., Delic, S., Herrmann, H., & Snider, N. T. (2018). Vimentin on the move: new developments in cell migration. *F1000Research*, 7, F1000 Faculty Rev-1796. doi.:10.12688/f1000research.15967.1.
9. Bergvall K. E. (2013). Sarcoids. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 29(3), 657–671. doi.:10.1016/j.cveq.2013.09.002.

10. Berruex, F., Gerber, V., Wohlfender, F. D., Burger, D., & Koch, C. (2016). Clinical course of sarcoids in 61 Franches-Montagnes horses over a 5-7 year period. *The Veterinary Quarterly*, 36(4), 189–196. doi: 10.1080/01652176.2016.1204483.
11. Bogaert, L., Heerden, M. V., Cock, H. E., Martens, A., & Chiers, K. (2011). Molecular and immunohistochemical distinction of equine sarcoid from schwannoma. *Veterinary pathology*, 48(3), 737–741. doi.:10.1177/0300985810377070.
12. Bogaert, L., Martens, A., De Baere, C., & Gasthuys, F. (2005). Detection of bovine papillomavirus DNA on the normal skin and in the habitual surroundings of horses with and without equine sarcoids. *Research in veterinary science*, 79(3), 253–258. doi.:10.1016/j.rvsc.2004.12.003.
13. Bogaert, L., Martens, A., Kast, W. M., Van Marck, E., & De Cock, H. (2010). Bovine papillomavirus DNA can be detected in keratinocytes of equine sarcoid tumors. *Veterinary microbiology*, 146(3-4), 269–275. doi.:10.1016/j.vetmic.2010.05.032.
14. Bogaert, L., Martens, A., Van Poucke, M., Ducatelle, R., De Cock, H., Dewulf, J., De Baere, C., Peelman, L., & Gasthuys, F. (2008). High prevalence of bovine papillomaviral DNA in the normal skin of equine sarcoid-affected and healthy horses. *Veterinary microbiology*, 129(1-2), 58–68. doi.:10.1016/j.vetmic.2007.11.008.
15. Bogaert, L., Van Poucke, M., De Baere, C., Dewulf, J., Peelman, L., Ducatelle, R., Gasthuys, F., & Martens, A. (2007). Bovine papillomavirus load and mRNA expression, cell proliferation and p53 expression in four clinical types of equine sarcoid. *The Journal of general virology*, 88(8), 2155–2161. doi:10.1099/vir.0.82876-0.
16. Bozzola, J.J. (2004). *Electron Microscopy*, Jones and Bartlett Publishers, Inc.
17. Broström H. (1995). Equine sarcoids. A clinical and epidemiological study in relation to equine leucocyte antigens (ELA). *Acta veterinaria Scandinavica*, 36(2), 223–236. doi.:10.1186/BF03547691.
18. Broström, H., Fahlbrink, E., Dubath, M. L., & Lazary, S. (1988). Association between equine leucocyte antigens (ELA) and equine sarcoid tumors in the population of Swedish halfbreds and some of their families. *Veterinary immunology and immunopathology*, 19(3-4), 215–223. doi.:10.1016/0165-2427(88)90109-2.

19. Carr, E. A., Théon, A. P., Madewell, B. R., Griffey, S. M., & Hitchcock, M. E. (2001). Bovine papillomavirus DNA in neoplastic and nonneoplastic tissues obtained from horses with and without sarcoids in the western United States. *American journal of veterinary research*, 62(5), 741–744. doi.:org/10.2460/ajvr.2001.62.741a.
20. Chambers, G., Ellsmore, V. A., O'Brien, P. M., Reid, S. W. J., Love, S., Campo, M. S., & Nasir, L. (2003). Association of bovine papillomavirus with the equine sarcoid. *The Journal of general virology*, 84 (5), 1055–1062. doi.:10.1099/vir.0.18947-0.
21. Chambers, G., Ellsmore, V. A., O'Brien, P. M., Reid, S. W., Love, S., Campo, M. S., & Nasir, L. (2003). Sequence variants of bovine papillomavirus E5 detected in equine sarcoids. *Virus research*, 96(1-2), 141–145. doi.:10.1016/s0168-1702(03)00175-8
22. Christen, G., Gerber, V., Dolf, G., Burger, D., & Koch, C. (2014). Inheritance of equine sarcoid disease in Franches-Montagnes horses. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 199(1), 68–71. doi.:10.1016/j.tvjl.2013.09.053.
23. Coenen, D. M., Mastenbroek, T. G., & Cosemans, J. M. E. M. (2017). Platelet interaction with activated endothelium: mechanistic insights from microfluidics. *Blood*, 130(26), 2819–2828. doi.:10.1182/blood-2017-04-780825.
24. Cotchin, E. (1977). A general survey of tumours in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 9, 16–21.
25. Dave, J. M., & Bayless, K. J. (2014). Vimentin as an integral regulator of cell adhesion and endothelial sprouting. *Microcirculation (New York, N.Y.: 1994)*, 21(4), 333–344. doi.:10.1111/micc.12111.
26. Dvorak, H. F. (1986). Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *The New England journal of medicine*, 315(26), 1650–1659. doi.:10.1056/NEJM198612253152606.
27. Epperson, E. D., & Castleman, W. L. (2017). Bovine Papillomavirus DNA and S100 Profiles in Sarcoids and Other Cutaneous Spindle Cell Tumors in Horses. *Veterinary pathology*, 54(1), 44–52. doi.:10.1177/0300985816653169.

28. Finlay, M., Yuan, Z., Burden, F., Trawford, A., Morgan, I. M., Campo, M. S., & Nasir, L. (2009). The detection of Bovine Papillomavirus type 1 DNA in flies. *Virus Research*, 144(1-2), 315–317. doi.:10.1016/j.virusres.2009.04.015.
29. Foy, J. M., Rashmir-Raven, A. M., Brashier, M. K. (2002). Common equine skin tumors. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 24, 242–255.
30. Gabriel, B. L. (1982). *Biological Electron Microscopy*. Италия: Van Nostrand Reinhold.
31. Gaynor, A. M., Zhu, K. W., Dela Cruz, F. N., Jr, Affolter, V. K., & Pesavento, P. A. (2016). Localization of Bovine Papillomavirus Nucleic Acid in Equine Sarcoids. *Veterinary pathology*, 53(3), 567–573. doi.:10.1177/0300985815594852.
32. Gebre, D., Gizachewu, A., Negero, J. (2018). Equine Sarcoid: Epidemiology and its Clinical Impact in Working Donkeys in Selected Districts of Central Ethiopia. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 9(3), 537. doi.:10.4172/2157-7579.1000537.
33. Giraldo, A., Pinard, C. L., Plattner, B. L., & Dubois, M. S. (2020). Periocular sarcoid with bone invasion in a Thoroughbred mare. *The Canadian veterinary journal*, 61(4), 415–419.
34. Glauert, A.M. (1981). *Practical Methods in Electron Microscopy: Dynamic Methods in the Electron Microscope*, vol. 9, Elsevier
35. Gobeil, P. A., Yuan, Z., Gault, E. A., Morgan, I. M., Campo, M. S., & Nasir, L. (2009). Small interfering RNA targeting bovine papillomavirus type 1 E2 induces apoptosis in equine sarcoid transformed fibroblasts. *Virus research*, 145(1), 162–165. doi.:10.1016/j.virusres.2009.06.019.
36. Goodrich, L., Gerber, H., Marti, E., Antczak, D. F. (1998). Equine sarcoids. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 14(3), 607–623.
37. Gysens, L., Vanmechelen, B., Haspelslagh, M., Maes, P., & Martens, A. (2022). New approach for genomic characterisation of equine sarcoid-derived BPV-1/-2 using nanopore-based sequencing. *Virology journal*, 19(1), 8. doi.:10.1186/s12985-021-01735-5.

38. Haddow, A. (1972). Molecular repair, wound healing, and carcinogenesis: tumor production a possible overhealing?. *Advances in cancer research*, 16, 181–234. doi:10.1016/s0065-230x(08)60341-3.
39. Hallamaa, R. E., Saario, E., & Tallberg, T. (2005). Macroscopical and histopathological changes in regressing primary and recurrent equine sarcoids during active specific bio-immunotherapy. *In vivo (Athens, Greece)*, 19(4), 761–767.
40. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. doi:10.1016/s0092-8674(00)81683-9.
41. Hanson, R. R. (2008). Complications of equine wound management and dermatologic surgery. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 24(3), 663–ix. doi:10.1016/j.cveq.2008.10.005.
42. Haralambus, R., Burgstaller, J., Klukowska-Rötzler, J., Steinborn, R., Buchinger, S., Gerber, V., & Brandt, S. (2010). Intralesional bovine papillomavirus DNA loads reflect severity of equine sarcoid disease. *Equine veterinary journal*, 42(4), 327–331. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00078.x.
43. Hartl, B., Hainisch, E. K., Shafti-Keramat, S., Kirnbauer, R., Corteggio, A., Borzacchiello, G., Tober, R., Kainzbauer, C., Pratscher, B., & Brandt, S. (2011). Inoculation of young horses with bovine papillomavirus type 1 virions leads to early infection of PBMCs prior to pseudo-sarcoid formation. *The Journal of general virology*, 92(10), 2437–2445. doi:10.1099/vir.0.033670-0.
44. Haspeslagh, M., Gerber, V., Knottenbelt, D. C., Schüpbach, G., Martens, A., & Koch, C. (2018). The clinical diagnosis of equine sarcoids-Part 2: Assessment of case features typical of equine sarcoids and validation of a diagnostic protocol to guide equine clinicians in the diagnosis of equine sarcoids. *Veterinary journal*, 240, 14–18. doi:10.1016/j.tvjl.2018.08.010.
45. Haspeslagh, M., Vlaminck, L. E., & Martens, A. M. (2016). Treatment of sarcoids in equids: 230 cases (2008-2013). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 249(3), 311–318. doi:10.2460/javma.249.3.311.

46. Haspeslagh, M., Vlaminck, L., & Martens, A. (2018). The possible role of *Stomoxys calcitrans* in equine sarcoid transmission. *Veterinary journal (London, England:1997)*, 231, 8–12. doi.:10.1016/j.tvjl.2017.11.009.
47. Hunter, E. (1993). *Practical Electron Microscopy. A Beginner's Illustrated Guide*, 188.
48. Jackson, C. (1936). The incidence and pathology of tumours of domesticated animals in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry*, 6, 378–385.
49. Jangir, B.L., Singh, V.K., Saikumar, G., Pawde, A.M., Churamani, C.P., & Somvanshi, R. (2013). Preliminary Pathological Studies on Equine Skin Lesions with Specific Reference to Equine Sarcoid and Detection of Bovine papillomaviruses 1 and 2.
50. Jiang, X., Wang, J., Deng, X., Xiong, F., Zhang, S., Gong, Z., Li, X., Cao, K., Deng, H., He, Y., Liao, Q., Xiang, B., Zhou, M., Guo, C., Zeng, Z., Li, G., Li, X., & Xiong, W. (2020). The role of microenvironment in tumor angiogenesis. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR*, 39(1), 204. doi.:10.1186/s13046-020-01709-5.
51. Jindra, C., Hainisch, E. K., & Brandt, S. (2023). Immunotherapy of Equine Sarcoids-From Early Approaches to Innovative Vaccines. *Vaccines*, 11(4), 769. doi.:10.3390/vaccines11040769.
52. Jindra, C., Kamjunke, A. K., Jones, S., & Brandt, S. (2021). Screening for bovine papillomavirus type 13 (BPV13) in a European population of sarcoid-bearing equids. *Equine veterinary journal*, 54(4), 662–669. doi.:10.1111/evj.13501.
53. Kaleibar, M.T., Eshghi, D. & Helan, J.A. (2015). A survey on the status of equine skin tumors and associated epidemiological factors in Iran. *Comparative Clinical Pathology*, 24, 1407–1415. doi.:10.1007/s00580-015-2089-9.
54. Kasperowicz, B., Rotkiewicz, T., & Domagala, O. I. (2006). Pathomorphological and immunohistochemical study of selected markers of tumour cell proliferation in equine sarcoid. *Polish Veterinary Journal*, 9(2), 109–119.



55. Katayama, Y., Uchino, J., Chihara, Y., Tamiya, N., Kaneko, Y., Yamada, T., & Takayama, K. (2019). Tumor Neovascularization and Developments in Therapeutics. *Cancers*, 11(3), 316. doi.:10.3390/cancers11030316.
56. Kidney, B. A., & Berrocal, A. (2008). Sarcoids in two captive tapirs (*Tapirus bairdii*): clinical, pathological and molecular study. *Veterinary dermatology*, 19(6), 380–384. doi.:10.1111/j.1365-3164.2008.00698.x.
57. Knottenbelt, D. C. (2005). A suggested clinical classification for the equine sarcoid. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 4(4), 278–295.
58. Knottenbelt, D. C. (2019). The Equine Sarcoid: Why Are There so Many Treatment Options?. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 35(2), 243–262. doi.:10.1016/j.cveq.2019.03.006.
59. Knottenbelt, D. C., & Kelly, D. F. (2000). The diagnosis and treatment of periorbital sarcoid in the horse: 445 cases from 1974 to 1999. *Veterinary ophthalmology*, 3(2-3), 169–191. doi.:10.1046/j.1463-5224.2000.00119.x.
60. Knottenbelt, D. C., & Matthews, J. B. (2001). A positive step forwards in the diagnosis of equine sarcoid. *Veterinary journal*, 161(3), 224–226. doi.:10.1053/tvj.2000.0555.
61. Knottenbelt, D. C., Schumacher, J., & Toth, F. (2016). Sarcoid Transformation at Wound Sites. In *Equine Wound Management: Third Edition* (pp. 490-507). Wiley-Blackwell. doi.: 10.1002/9781118999219.ch21.
62. Knowles, E. J., Tremaine, W. H., Pearson, G. R., & Mair, T. S. (2016). A database survey of equine tumours in the United Kingdom. *Equine veterinary journal*, 48(3), 280–284. doi.:10.1111/evj.12421.
63. Koch, C., Martens, A., Hainisch, E. K., Schüpbach, G., Gerber, V., & Haspelslagh, M. (2018). The clinical diagnosis of equine sarcoids - Part 1: Assessment of sensitivity and specificity using a multicentre case-based online examination. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 242, 77–82. doi.: 10.1016/j.tvjl.2018.08.009.
64. Koster, A. J., & Klumperman, J. (2003). Electron microscopy in cell biology: integrating structure and function. *Nature reviews. Molecular cell biology*, Suppl, SS6–SS10.

65. Kraft, W., & Austel, M. (1994). Der klinische Fall. Equines sarcoid beim Vollblutstute, 20 Jahre [The clinical case. Equine sarcoid in a thoroughbred mare, 20 years old]. *Tierärztliche Praxis*, 22(1), 23–95.
66. Lane, J. G. (1977). The treatment of equine sarcoids by cryosurgery. *Equine Veterinary Journal*, 9, 127–133.
67. Lavach, J. D., Sullins, K. E., Roberts, S. M., Severin, G. A., Wheeler, C., & Lueker, D. C. (1985). BCG treatment of periocular sarcoid. *Equine veterinary journal*, 17(6), 445–448. doi.:10.1111/j.2042-3306.1985.tb02552.x.
68. Lazary, S., Gerber, H., Glatt, P. A., & Straub, R. (1985). Equine leucocyte antigens in sarcoid-affected horses. *Equine Veterinary journal*, 17(4), 283–286. doi.:10.1111/j.2042-3306.1985.tb02498.x.
69. Lepage, M.F, Carstanjen, B and Von Tscharnher, C (1998). Equine sarcoid (part I): Causes, diagnosis, differential diagnosis. *Prakt Tierarz* 79: 627–36.
70. Lillie, R.D. (1965). *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*. New Orleans, Louisiana.
71. Marais, H. J., & Page, P. C. (2011). Treatment of equine sarcoid in seven Cape mountain zebra (*Equus zebra zebra*). *Journal of wildlife diseases*, 47(4), 917–924. doi.:10.7589/0090-3558-47.4.917.
72. Martano, M., Corteggio, A., Restucci, B., De Biase, M. E., Borzacchiello, G., & Maiolino, P. (2016). Extracellular matrix remodeling in equine sarcoid: an immunohistochemical and molecular study. *BMC Veterinary Research*, 12, 24. doi.:10.1186/s12917-016-0648-1.
73. Martano, M., Power, K., Restucci, B., Pagano, I, Altamura, G, Borzacchiello, G & Maiolino, P (2018). Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in equine sarcoid. *BMC veterinary research*, 14, 266. doi.:10.1186/s12917-018-1576-z.
74. Martens, A., De Moor, A., & Ducatelle, R. (2001). PCR detection of bovine papilloma virus DNA in superficial swabs and scrapings from equine sarcoids. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 161(3), 280–286. doi.:10.1053/tvj.2000.0524.

75. Martens, A., De Moor, A., Demeulemeester, J., & Ducatelle, R. (2000). Histopathological characteristics of five clinical types of equine sarcoid. *Research in veterinary science*, 69(3), 295–300. doi.:10.1053/rvsc.2000.0432.
76. Martens, A., De Moor, A., Vlaminck, L., Pille, F., & Steenhaut, M. (2001). Evaluation of excision, cryosurgery and local BCG vaccination for the treatment of equine sarcoids. *The Veterinary record*, 149(22), 665–669. doi.:10.1136/vr.149.22.665.
77. Marti, E., Lazary, S., Antczak, D. F., & Gerber, H. (1993). Report of the first international workshop on equine sarcoid. *Equine veterinary journal*, 25(5), 397–407. doi.:10.1111/j.2042-3306.1993.tb02981.x.
78. Meredith, D., Elser, A. H., Wolf, B., Soma, L. R., Donawick, W. J., & Lazary, S. (1986). Equine leukocyte antigens: relationships with sarcoid tumors and laminitis in two pure breeds. *Immunogenetics*, 23(4), 221–225. doi.:10.1007/BF00373016.
79. Mallory F. B. (1938). *Pathological Technique*, Saunders, Philadelphia.
80. Miller, R. I. & Campbell, R. S. F. (1982). A survey of granulomatous and neoplastic diseases of equine skin in north Queensland. *Australian Veterinary Journal*, 59, 33–37.
81. Mohan, R., Chintala, S. K., Jung, J. C., Villar, W. V., McCabe, F., Russo, L. A., Lee, Y., McCarthy, B. E., Wollenberg, K. R., Jester, J. V., Wang, M., Welgus, H. G., Shipley, J. M., Senior, R. M., & Fini, M. E. (2002). Matrix metalloproteinase gelatinase B (MMP-9) coordinates and effects epithelial regeneration. *The Journal of Biological chemistry*, 277(3), 2065–2072. doi.:10.1074/jbc.M107611200.
82. Mondal, S. K. (2017). *Manual of Histological Techniques*. India: Jaypee Brothers Medical Publishers Pvt. Limited.
83. Mulisch, M., Welsch, U. (2010). *Romeis Mikroskopische Technik*. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.
84. Müller, H. (1991). Papillomatosen des Rindes und ihre Beziehungen zum equinen Sarkoid [Papillomatosis of cattle and its relationship to equine sarcoid]. *Tierärztliche Praxis*, 19(1), 39–43.

85. Nasir, L., & Campo, M. S. (2008). Bovine papillomaviruses: their role in the aetiology of cutaneous tumours of bovids and equids. *Veterinary dermatology*, 19(5), 243–254. doi.:10.1111/j.1365-3164.2008.00683.x.
86. Nasir, L., & Reid, S. W. (1999). Bovine papillomaviral gene expression in equine sarcoid tumours. *Virus Research*, 61(2), 171–175. doi.:10.1016/s0168-1702(99)00022-2.
87. Nasir, L., Gault, E., Morgan, I. M., Chambers, G., Ellsmore, V., & Campo, M. S. (2007). Identification and functional analysis of sequence variants in the long control region and the E2 open reading frame of bovine papillomavirus type 1 isolated from equine sarcoids. *Virology*, 364(2), 355–361. doi.:10.1016/j.virol.2007.02.019.
88. Offer, K. S., Dixon, C. E., & Sutton, D. G. M. (2023). Treatment of equine sarcoids: A systematic review. *Equine veterinary journal*, 10.1111/evj.13935. Advance online publication. doi.:10.1111/evj.13935.
89. Ogluszka, M., Starzyński, R. R., Pierzchała, M., Otrocka-Domagala, I., & Raś, A. (2021). Equine Sarcoids-Causes, Molecular Changes, and Clinicopathologic Features: A Review. *Veterinary pathology*, 58(3), 472–482. doi.:10.1177/0300985820985114.
90. Olson, C., Jr., & Cook, R. H. (1951). Cutaneous sarcoma-like lesions of the horse caused by the agent of bovine papilloma. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.), 77(2), 281–284. doi.:10.3181/00379727-77-18750.
91. Olson, C. (1984). Equine sarcoid, a cutaneous neoplasm. *American Journal of Veterinary Research*, 9, 333–341.
92. Olsson, A. K., & Cedervall, J. (2018). The pro-inflammatory role of platelets in cancer. *Platelets*, 29(6), 569–573. doi.:10.1080/09537104.2018.1453059.
93. O'Toole, E. A., van Koningsveld, R., Chen, M., & Woodley, D. T. (2008). Hypoxia induces epidermal keratinocyte matrix metalloproteinase-9 secretion via the protein kinase C pathway. *Journal of cellular physiology*, 214(1), 47–55. doi.:10.1002/jcp.21160.

94. Otten, N., von Tscharner, C., Lazary, S., Antczak, D. F., & Gerber, H. (1993). DNA of bovine papillomavirus type 1 and 2 in equine sarcoids: PCR detection and direct sequencing. *Archives of virology*, 132(1-2), 121–131. doi.:10.1007/BF01309847.
95. Pascoe, R. R., & Summers, P. M. (1981). Clinical survey of tumours and tumour-like lesions in horses in south east Queensland. *Equine Veterinary Journal*, 13(4), 235-239.
96. Pfister, H. (1992). Human papillomaviruses and skin cancer. *Seminars in cancer biology*, 3(5), 263–271.
97. Portenko M., & Shchebentovska O. (2023). Kliniko-anatomichni aspekty veryfikatsii ta monitorynhu riznykh vydiv sarkoidu konei u zakhidnykh oblastiakh Ukrainy. *Naukovyi visnyk LNU veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii. Serii: Veterynarni nauky*, 25 (109), 114-124. doi.:10.32718/nvlvet10918.
98. Portenko, M., & Shchebentovska, O. (2022). Patho-histological features of fibroblastic sarcoid in horses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(4), 393-399. doi.:10.15421/022252.
99. Portenko, M., Shchebentovska, O., & Blishch, H. (2023). Histological and immunohistochemical changes in equine sarcoids. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(2), 325-331. doi.:10.15421/022348
100. Portenko, M., Shchebentovska, O., Kostyniuk, A. (2023). Electron microscopic changes in fibroblastic sarcoid in horses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(3), 516–521. doi: 10.15421/022374.
101. Портенко М. П. (2022). Патогістологічна характеристика фібробластичного типу саркоїду коней. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти». Житомир, 98–101.
102. Портенко М. П. (2023). Саркоїд коней. Клінічні особливості та їх морфологічна характеристика. Збірник матеріалів Міжнародної науково-

практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», присвяченої 100-річному ювілею ректора Степана Васильовича Стояновського. Львів, 56–57.

103. Potocki, L., Lewinska, A., Klukowska-Rötzler, J., Bielak-Zmijewska, A., Grabowska, W., Rzeszutek, I., Kaminska, P., Roga, E., Bugno-Poniewierska, M., Slota, E., Mählmann, K., Koch, C., & Wnuk, M. (2014). Sarcoid-derived fibroblasts: links between genomic instability, energy metabolism and senescence. *Biochimie*, 97, 163–172.

104. Potocki, L., Lewinska, A., Klukowska-Rötzler, J., Bugno-Poniewierska, M., Koch, C., Mählmann, K., Janda, J., & Wnuk, M. (2012). DNA hypomethylation and oxidative stress-mediated increase in genomic instability in equine sarcoid-derived fibroblasts. *Biochimie*, 94(9), 2013–2024. doi.:10.1016/j.biochi.2012.05.026.

105. Ragland, W. L., & Spencer, G. R. (1969). Attempts to relate bovine papilloma virus to the cause of equine sarcoid: equidae inoculated intradermally with bovine papilloma virus. *American journal of veterinary research*, 30(5), 743–752.

106. Ragland, W. L., Keown, G. H. & Spencer, G. R. (1970). Equine sarcoid. *Equine Veterinary Journal*, 2, 2–11.

107. Ragland, W. L., Keown, G. H. & Spencer, G. R. (1970). Equine Sarcoid. *Equine Veterinary Journal*, 2(2-11). doi.:10.1111/j.2042-3306.1970.tb04145.x.

108. Rector, A., & Van Ranst, M. (2013). Animal papillomaviruses. *Virology*, 445(1-2), 213–223. doi.:10.1016/j.virol.2013.05.007.

109. Reid, S. W., Smith, K. T., & Jarrett, W. F. (1994). Detection, cloning and characterisation of papillomaviral DNA present in sarcoid tumours of *Equus asinus*. *The Veterinary record*, 135(18), 430–432. doi.:10.1136/vr.135.18.430.

110. Rodrigues, M. A. C., Simões, B. V., Lemos, V. Z., Pereira, M. M., Costa, B. O., Rondon, D. A., & Pereira, C. M. (2022). Equine Sarcoid. *EAS Journal of Veterinary Medical Science*, 4(2), 16–18. doi.: 10.36349/easjvms.2022.v04i02.001.

111. Scagliarini, A., Bettini, G., Savini, F., Spadari, A., Sonvico, F., Balducci, A.G., Calbucci, S. & Colombo, G. (2012). Treatment of equine sarcoids. *Veterinary Record*, 171, 330–330. doi.:10.1136/vr.e6506.

112. Schäfer, M., & Werner, S. (2008). Cancer as an overhealing wound: an old hypothesis revisited. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 9(8), 628–638. doi.:10.1038/nrm2455.
113. Schaffer, P. A., Wobeser, B., Martin, L. E., Dennis, M. M., & Duncan, C. G. (2013). Cutaneous neoplastic lesions of equids in the central United States and Canada: 3,351 biopsy specimens from 3,272 equids (2000-2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(1), 99–104. doi.:10.2460/javma.242.1.99.
114. Schlesinger, M. (2018). Role of platelets and platelet receptors in cancer metastasis. *Journal of Hematology & Oncology*, 11, 125. doi.:10.1186/s13045-018-0669-2.
115. Scott, D. W., Miller, W. H. (2003). Neoplastic and non-neoplastic tumors. In: *Equine Dermatology*. St. Louis, Missouri, Saunders, 719–731.
116. Semik-Gurgul E. (2021). Molecular approaches to equine sarcoids. *Equine veterinary journal*, 53(2), 221–230. doi.:10.1111/evj.13322.
117. Szczerba-Turek, A., Siemionek, J., Bancercz-Kisiel, A., Raś, A., & Szweda, W. (2011). Phylogenetic analysis of bovine papillomavirus E5 detected in equine sarcoids in Poland. *Polish journal of veterinary sciences*, 14(4), 653–654. doi.:10.2478/v10181-011-0096-6.
118. Szczerba-Turek, A., Siemionek, J., Ras, A., Bancercz-Kisiel, A., Platt-Samoraj, A., Lipczynska-Ilczuk, K., & Szweda, W. (2019). Genetic evaluation of bovine papillomavirus types detected in equine sarcoids in Poland. *Polish journal of veterinary sciences*, 22(1), 25–29. doi.:10.24425/pjvs.2018.125602.
119. Taylor, S. & Haldorson, G. (2013). A review of equine sarcoid. *Equine Veterinary Education*, 25(4), 210–216. doi: 10.1111/j.2042-3292.2012.00411.x.
120. Teifke J. P. (1994). Morphologische und molekularbiologische Untersuchungen zur Atiologie des equinen Sarkoids [Morphologic and molecular biologic studies of the etiology of equine sarcoid]. *Tierärztliche Praxis*, 22(4), 368–376.
121. Teifke, J. P., & Weiss, E. (1991). Nachweis boviner Papillomvirus-DNA in Sarkoiden des Pferdes mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) [Detection of bovine

papillomavirus DNA in equine sarcoids using the polymerase chain reaction (PCR)]. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 104(6), 185–187.

122. Trewby, H., Ayele, G., Borzacchiello, G., Brandt, S., Campo, M. S., Del Fava, C., Marais, J., Leonardi, L., Vanselow, B., Biek, R., & Nasir, L. (2014). Analysis of the long control region of bovine papillomavirus type 1 associated with sarcoids in equine hosts indicates multiple cross-species transmission events and phylogeographical structure. *The Journal of general virology*, 95(12), 2748–2756. doi:10.1099/vir.0.066589-0.

123. Weakley, B. S. (1981). *A Beginner's Handbook in Biological Transmission Electron Microscopy*. UK: Churchill Livingstone.

124. Williams, I. F., Heaton, A., & McCullagh, K. G. (1982). Connective tissue composition of the equine sarcoid. *Equine veterinary journal*, 14(4), 305–310. doi:10.1111/j.2042-3306.1982.tb02436.x.

125. Wilson, A. D., & Hicks, C. (2016). Both tumour cells and infiltrating T-cells in equine sarcoids express FOXP3 associated with an immune-suppressed cytokine microenvironment. *Veterinary research*, 47(1), 55. doi:10.1186/s13567-016-0339-8.

126. Wilson, A. D., Armstrong, E. L. R., Gofton, R. G., Mason, J., De Toit, N., & Day, M. J. (2013). Characterisation of early and late bovine papillomavirus protein expression in equine sarcoids. *Veterinary microbiology*, 162(2-4), 369–380. doi:10.1016/j.vetmic.2012.10.010.

127. Wobeser, B. K. (2017). *Making the Diagnosis: Equine Sarcoid*. *Veterinary Pathology*, 54(1), 9–10. doi:10.1177/0300985816664793.

128. Wobeser, B. K., Davies, J. L., Hill, J. E., Jackson, M. L., Kidney, B. A., Mayer, M. N., Townsend, H. G., & Allen, A. L. (2010). Epidemiology of equine sarcoids in horses in western Canada. *The Canadian veterinary journal*, 51(10), 1103–1108.

129. Wobeser, B. K., Hill, J. E., Jackson, M. L., Kidney, B. A., Mayer, M. N., Townsend, H. G., & Allen, A. L. (2012). Localization of Bovine papillomavirus in equine sarcoids and inflammatory skin conditions of horses using laser microdissection and two forms of DNA amplification. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official*



publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, 24(1), 32–41. doi:10.1177/1040638711425952.

130. Yamashita-Kawanishi, N., Chambers, J. K., Uchida, K., Tobar, Y., Yoshimura, H., Yamamoto, M., Yumoto, N., Aoki, H., Sugiura, K., Higuchi, T., Saito, S., & Haga, T. (2021). Genomic characterisation of bovine papillomavirus types 1 and 2 identified in equine sarcoids in Japan. *Equine veterinary journal*, 53(6), 1199–1209. doi:10.1111/evj.13398.

131. Yuan, Z. Q., Bennett, L., Campo, M. S., & Nasir, L. (2010). Bovine papillomavirus type 1 E2 and E7 proteins down-regulate Toll Like Receptor 4 (TLR4) expression in equine fibroblasts. *Virus research*, 149(1), 124–127. doi:10.1016/j.virusres.2010.01.008.

132. Yuan, Z. Q., Gault, E. A., Gobeil, P., Nixon, C., Campo, M. S., & Nasir, L. (2008). Establishment and characterization of equine fibroblast cell lines transformed in vivo and in vitro by BPV-1: model systems for equine sarcoids. *Virology*, 373(2), 352–361. doi:10.1016/j.virol.2007.11.037.

133. Yuan, Z., Gallagher, A., Gault, E. A., Campo, M. S., & Nasir, L. (2007). Bovine papillomavirus infection in equine sarcoids and in bovine bladder cancers. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 174(3), 599–604. doi:10.1016/j.tvjl.2006.10.012.

134. Yuan, Z., Gault, E. A., Campo, M. S., & Nasir, L. (2011). Different contribution of bovine papillomavirus type 1 oncoproteins to the transformation of equine fibroblasts. *The Journal of general virology*, 92(4), 773–783. doi:10.1099/vir.0.028191-0.

135. Yuan, Z., Philbey, A. W., Gault, E. A., Campo, M. S., & Nasir, L. (2007). Detection of bovine papillomavirus type 1 genomes and viral gene expression in equine inflammatory skin conditions. *Virus research*, 124(1-2), 245–249. doi:10.1016/j.virusres.2006.10.012.

## **ДОДАТКИ**

**НАУКОВІ ПРАЦІ, У ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ  
ДИСЕРТАЦІЇ**

*Статті, опубліковані у фаховому науковому виданні міжнародної  
наукометричної бази даних Scopus та Web of Science:*

1. **Portenko, M., & Shchebentovska, O.** (2022). Patho-histological features of fibroblastic sarcoid in horses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(4), 393–399. doi:10.15421/022252. *(Здобувачка провела клінічний огляд коней, відібрала матеріал для гістологічних досліджень, підготувала матеріал до друку).*
2. **Portenko, M., Shchebentovska, O., Blishch, H.** (2023). Histological and immunohistochemical changes in equine sarcoids. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(2), 325–331. doi:10.15421/022348. *(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготувала матеріали до друку).*
3. **Portenko, M., Shchebentovska, O., Kostyniuk, A.** (2023). Electron microscopic changes in fibroblastic sarcoid in horses. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(3), 516–521. doi: 10.15421/022374. *(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих даних, підготувала статтю до друку).*

*Статті у фахових наукових виданнях України:*

4. **Портенко М., Щебентовська О.** (2023). Клініко-анатомічна верифікація та моніторинг різних типів саркоїду у Західних областях України. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 25 (109), 114-124. doi.:10.32718/nvlvet10918. *(Здобувачка провела ретроспективні дослідження, аналіз літературних даних, інтерпретацію отриманих результатів, підготувала матеріали до друку).*

## ДОДАТОК Б

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.*

*Тези наукових доповідей:*

5. Портенко М.П. (2022). Патогістологічна характеристика фібробластичного типу саркоїду коней. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти»*. Житомир, 98–101.

6. Портенко М. П. (2023). Саркоїд коней. Клінічні особливості та їх морфологічна характеристика. *Збірник матеріалів Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», присвяченої 100-річному ювілею ректора Степана Васильовича Стояновського*. Львів, 56–57.

**ДОДАТОК В****Затверджено:**

Директор КСК «Срібна підкова»

Коник М.І.

« 7 » *Вересня* 2023 р.**Акт провадження/використання результатів  
кандидатської дисертаційної роботи у практику**

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: **«Патоморфологія різних типів саркоїду коней»**, що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 Ветеринарна медицина, виконаної

**Портенко Мартою Павлівною**

впроваджено в практику лікарів ветеринарної медицини, які спеціалізуються на профілактиці та лікуванні захворювань коней проведення оперативного видалення верукозного та фібробластичного типів саркоїду з наступною коагуляцією тканин у межах видаленого утворення або проведення оперативних утручань із захопленням не менше 2 см клінічно неураженої тканини, що різко зменшує появу імплантаційних метастазів.

З метою лікування прихованих типів саркоїду рекомендовано застосовувати цитостатичні лініменти та мазі.

## ДОДАТОК Г



Затверджено:

Директор КЗ ДУСН «Буревісник»

Хохла А.І.

» вересня 2023 р.

Акт провадження/використання результатів  
кандидатської дисертаційної роботи у практику

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Патоморфологія різних типів саркоїду коней», що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 Ветеринарна медицина, виконаної

**Портенко Мартою Павлівною**

впроваджено в практику лікарів ветеринарної медицини, які спеціалізуються на профілактиці та лікуванні захворювань коней проведення оперативного видалення верукозного та фібробластичного типів саркоїду з наступною коагуляцією тканин у межах видаленого утворення або проведення оперативних утручань із захопленням не менше 2 см клінічно неураженої тканини, що різко зменшує появу імплантаційних метастазів

З метою лікування прихованих типів саркоїду рекомендовано застосовувати цитостатичні лініменти та мазі.



## ДОДАТОК Е

ЗАТВЕРДЖУЮ:  
Проректор з наукової та  
міжнародної діяльності,  
д.е.н., професор  
Юрій ДАНЬКО



2023 р.

## АКТ

**Про впровадження/використання результатів  
кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес**

Цим актом стверджується, що результати дисертаційної роботи аспірантки кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Портенко Марти Павлівни на тему: **«Патоморфологія різних типів саркоїду коней»** впроваджені у навчальний процес при вивченні таких дисциплін, як: «Патологічна анатомія» та «Диференційна патолого-анатомічна діагностика хвороб тварин» і використовуються в наукових дослідженнях на кафедрі вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського національного аграрного університету.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці, протокол засідання кафедри № 4 від 18.11 2023 року.

Декан факультету  
ветеринарної медицини  
д.в.н., професор

Олександр НЕЧИПОРЕНКО

Завідувач кафедри вірусології,  
патанатомії та хвороб птиці  
д.в.н., професор

Роман ПЕТРОВ



## ДОДАТОК Є



ЗАТВЕРДЖУЮ:

Проректор з наукової та інноваційної діяльності Білоцерківського НАУ

професор О.М. Варченко

2023 року

## АКТ

**Про використання результатів  
кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес**

Цим актом стверджується, що результати дисертаційної роботи аспірантки кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Портенко Марти Павлівни на тему: "Патоморфологія різних типів саркоїду коней" впроваджені у навчальний процес при вивченні таких дисциплін, як: "Біологічна безпека та мікробіологічна діагностика інфекційних хвороб", "Ветеринарна мікробіологія та вірусологія", "Лабораторна діагностика", "Мікробіологія в тваринництві" і використовуються в навчальному процесі на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету.

2. Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету, протокол засідання кафедри №12 від 16.11. 2023 року.

Завідувач кафедри  
мікробіології та вірусології,  
доктор ветеринарних наук, доцент

І.О. Рубленко

Декан ФВМ,  
доктор ветеринарних наук, доцент

С.А. Власенко