

---

TEZA DE DOCTORAT

# **Mastocitomul canin. Epidemiologie, diagnostic și noi oportunități terapeutice**

REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT

---

Doctorand **Ionuț-Mihai Negru**

---

Conducător de doctorat **Prof. univ. dr. Cornel Cătoi**

---





## INTRODUCERE

Mastocitele sunt celule derivate din măduva hematogenă, dar care devin mature doar în țesuturile țintă cu localizare muco-cutanată, în contact cu diverși factori. Acestea au un rol în sistemul imun și conțin numeroase molecule active precum histamină, heparină și citokine.

Mastocitomul este o tumoră descrisă ca având un comportament biologic imprevizibil, ceea ce ne determină să luăm tot timpul în considerare posibilitatea unei malignități crescute. Modificarea tumorală a mastocitelor este frecventă în cazul câinilor și pisicilor, însă este prezentă și la alte specii, inclusiv la om. Forma principală de manifestare a mastocitomului la câine este cea de tumoră cutanată sau subcutanată, putând fi întâlnite și forme viscerale sau sistemice.

Mastocitomul cutanat canin reprezintă 16-21% din tumorile cutanate la câine, astfel că poate fi considerat o tumoare comună, de o mare importanță în diagnosticul diferențial al maselor de la nivelul pielii. Diagnosticul acestei patologii tumorale poate fi realizat prin examen clinic, examen citologic și examen histopatologic. Deși prin examenul citologic se pot observa ușor atât aspectul caracteristic al mastocitelor și al granulelor intracitoplasmatică, cât și unele criterii de malignitate, confirmarea diagnosticului se face întotdeauna cu ajutorul examenului histopatologic, utilizând sistemele de clasificare existente în literatura de specialitate. Atribuindu-i tumorii un grad și coroborându-l cu aspectele clinice precum ulcerării superficiale, localizarea, prezența sindroamelor paraneoplazice și prezența marginilor chirurgicale de siguranță post-excizional, putem enunța un prognostic.

Cercetările privind markerii moleculari de prognostic pentru mastocitom sunt extensive. Cu toate acestea rămân numeroase întrebări fără răspuns referitoare la genele ale căror mutații duc la apariția acestor tumori. De exemplu, mutația genei KIT nu este depistată în marea majoritate a cazurilor. Recent, noi studii au pus în evidență importanța căii de semnalizare intracelulară denumită JAK-STAT, demonstrând rolul proteinelor componente în oncogeneza a numeroase tipuri de tumori atât la om, cât și la animale. Un trend ascendent este reprezentat de depistarea unor molecule care acționează activ și direct asupra transcripției genelor. Scopul acestor studii este obținerea unor protocoale de terapie specifică, luând în considerare faptul că numeroase tipuri de tumori, printre care și mastocitoamele, nu beneficiază în prezent de acest lucru.

## STRUCTURA LUCRĂRII

Lucrarea intitulată “Mastocitomul canin. Epidemiologie, diagnostic și noi oportunități terapeutice” conține un număr de 126 de pagini, fiind redactată conform normelor în vigoare și structurată în două părți.

Prima parte, “Stadiul actual al cunoașterii”, este structurată pe 8 capitole și se extinde pe 31 de pagini. Această parte sintetizează aspecte generale privind structura și funcția mastocitelor, patogeniza și epidemiologia mastocitomului canin, prezentând aspectele clinice în mastocitomul cutanat și subcutanat canin. Sunt descrise atât principalele tehnici de diagnostic (citologic, histopatologic și imunohistochimic), cât și markerii moleculari utilizați până în momentul de față, cu scopul stabilirii unui prognostic. Ultimul capitol din această parte caracterizează calea intracelulară de semnalizare JAK2-STAT3 și implicarea acesteia în oncogeneză.

A doua parte a tezei, respectiv “Contribuția personală”, se extinde pe 62 de pagini și este structurată pe 6 capitole. În cadrul acestei părți sunt prezentate obiectivele și scopul cercetărilor, materialele și metodele utilizate, rezultatele obținute și discuțiile pe baza acestora, comparând rezultatele noastre cu cele din literatura de specialitate. Rezultatele sunt sintetizate sub forma a 41 de figuri și 4 tabele.

În **capitolul 9** sunt trasate motivația și principalele obiective urmărite în acest studiu. **Capitolul 10**, intitulat “Studiul epidemiologic al mastocitomului canin” se bazează pe informații obținute din bazele de date ale Disciplinei de Anatomie Patologică, FMV Cluj-Napoca. Studiul se extinde pe o perioadă de 15 ani (2005-2020), fiind analizată incidența acestei tumori în funcție de rasa câinilor, vârsta medie la care a fost diagnosticată, predispoziția de sex, principalele localizări anatomice afectate, perioada medie de timp privind evoluția tumorii și dimensiunea medie a tumorilor. **Capitolul 11**, intitulat “Diagnosticul histopatologic al mastocitoamelor canine”, urmărește descrierea principalelor caracteristici histologice care definesc acest tip tumoral și reclassificarea tuturor tumorilor identificate în bazele de date ale Disciplinei de Anatomie Patologică, FMV Cluj-Napoca, prin utilizarea unui sistem de clasificare modern (Kiupel), cu scopul scăderii subiectivității patologului examinator. În **capitolul 12** s-a urmărit evaluarea expresiei imunohistochimice a STAT-3 în mastocitomul cutanat canin. A fost selectat un număr cât mai mare de mastocitoame cutanate reprezentative, diagnosticate anterior din punct de vedere histopatologic utilizând sistemul Kiupel. S-a identificat tehnica imunohistochimică și diluția anticorpilor care relevă cele mai bune rezultate, cu un grad ridicat de specificitate, ulterior fiind evaluat modul în care mastocitele tumorale se marchează utilizând acest anticorp. De asemenea, s-a încercat corelarea marcării imunohistochimice cu gradul

histologic Kiupel al mastocitoamelor. **Capitolul 13** constă în efectuarea unui studiu *in vitro*, care își propune să evalueze efectul inhibitor/anti-tumoral al unei molecule denumite JSI-124, pe un model de mastocitom canin, prin citometrie în flux și microscopie confocală. În **capitolul 14** sunt trasate concluziile generale derivate din această cercetare doctorală, iar în **capitolul 15** sunt subliniate aspectele de originalitate, contribuțiile inovative ale tezei și recomandările.

## REZULTATELE CERCETĂRII

### **Capitolul 10**

Studiul epidemiologic a fost efectuat în vederea analizării datelor din ultimii 15 ani (perioada 2005 – 2020) privind mastocitomul canin din cadrul Facultății de Medicină Veterinară Cluj-Napoca. Scopul a fost obținerea datelor cu relevanță statistică și compararea acestora cu literatura de specialitate existentă. Diagnosticul a fost stabilit prin examen citopatologic și/sau histopatologic, fiind identificat un număr de 161 de cazuri de mastocitom.

În studiul de față au fost identificate 40 de rase de câini cu mastocitom, atât cutanat, cât și subcutanat. Rasele identificate sunt: American Bully, American Staffordshire Terrier, Beagle, Bichon, Bobtail, Boxer, Brac German, Bullmastiff, Bulldog American, Bulldog Englez, Bulldog Francez, Caniche, Chihuahua, Chow-Chow, Ciobănesc de Asia Centrală, Ciobănesc Caucazian, Ciobănesc de Berna, Ciobănesc German, Border Collie, Cocker Spaniel, Dog Argentinian, Dog German, Fox Terrier, Golden Retriever, Husky, Lagotto, Labrador Retriever, Pechinez, Pitbull, Pug, Puli, Rottweiler, Schnauzer, Setter Englez, Shar-Pei, Teckel, Vizsla Ungurească, West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier și metis.

Dintre acestea, numărul cel mai mare de cazuri a fost înregistrat la rasa Metis (n=25), urmată de Boxer (n=17), Labrador Retriever (n=11), Golden Retriever (n=10) și Shar-Pei (n=9). Acest rezultat poate fi explicat, pe de-o parte, prin încrucișările necontrolate ale câinilor, iar, pe de altă parte, populației numeroase de câini aparținând rasei comune în această țară. Un număr de 89 de cazuri aparțin altor rase (55%), cu o incidență individuală mult mai scăzută.

Mastocitomul canin a fost identificat la pacienți cu vârsta cuprinsă între 9 luni și 18 ani. Am identificat un număr de 41 de cazuri (25.4%) aparținând grupei de vârstă 7-8 ani. Următoarele grupe de vârstă, în ordinea descrescătoare a numărului de cazuri, sunt: 5-6 ani (36 de cazuri, 22.3%), peste 10 ani (34 de cazuri, 21.1%), 9-10 ani (26 de cazuri, 16.1%), 3-4 ani (13 cazuri, 8%), 1-2 ani (10 cazuri, 6.2%) și sub

1 an (1 caz, 0.6%). Media de vârstă în acest studiu este de 7.7 ani, asemănătoare datelor întâlnite în literatura de specialitate. Astfel, putem afirma că sunt afectați câinii de peste 5 ani, fără a exclude apariția tumorii la vârste mai mici.

Vârsta câinilor luați în studiu are influență directă asupra incidenței tumorilor. Coeficientul de corelație determinat este distinct semnificativ pozitiv, între vârstă și incidența tumorilor stabilindu-se și o regresie liniară, astfel că trecerea la o categorie superioară de vârstă influențează o creștere de aproape 3 ori a numărului de indivizi cu tumori. Diferențele de sex nu sunt remarcabile, identificând 91 de masculi (56.5%) și 70 de femele (43.4%). Examinând numărul total de MCT (n=159) la care am obținut date privind distribuția tumorii, am observat că acestea s-au prezentat îndeosebi ca formațiuni unice (n=141, 88.6%) și mai puțin ca tumori multicentrice (n=18, 11.3%).

Mastocitomul multicentric a evoluat la rasele Pitbull (n=2, 11.1%), Labrador Retriever (n=2, 11.1%), Metis (n=2, 11.1%), Teckel (n=2, 11.1%), rasele Puli, Bullmastiff, Boxer, Ciobănesc German, Bulldog American, Pug, Dog Argentinian, American Bully, Shar-Pei, Rottweiler având câte un singur caz (5.5%).

În studiul de față, regiunea anatomică cea mai frecvent afectată este trunchiul, un număr de 63 de tumori unice (52.9%) prezentând această localizare. Localizarea la nivelul membrelor a fost a doua ca număr de cazuri identificate (n=38, 31.9%), urmată de localizarea la nivelul capului și gâtului (n=18, 15.1%). Datele cu privire la localizarea tumorii/tumorilor nu au fost complete, astfel că am identificat un număr de 39 de cazuri a căror regiune anatomică afectată nu a fost precizată, această informație lipsind din anamneza trimisă de proprietari sau clinicile veterinare.

Perioada de timp trecută de la debutul leziunii până la stabilirea diagnosticului anatomo-patologic a fost înregistrată la un număr de 34 de cazuri (21.1%). Astfel, am reușit să calculăm și perioada medie de timp înregistrată de la debutul leziunii până la stabilirea diagnosticului, aceasta fiind de 10.7 luni (între 2 săptămâni și 24 luni).

Dimensiunea tumorilor a fost înregistrată la un număr de 84 de cazuri, diametrul mediu al MCT fiind de 5.4 cm (cu limite de 0.3 și 30 cm).

## **Capitolul 11**

În acest studiu au fost introduse 118 MCT canine, respectiv probe de țesut procesate utilizând tehnica de includere în parafină. Au fost identificate toate blocurile de țesut parafinat care au diagnosticate ca fiind mastocitoame canine în perioada 2005-2020.

Examenul histopatologic rămâne metoda „gold standard” în enunțarea unui diagnostic de certitudine și a unui prognostic în cazul mastocitomului canin. Cu toate că scopul acestui studiu a fost clasificarea mastocitoamelor cutanate (n=101, 85.5%), am identificat și un număr de 17 (14.4%) mastocitoame subcutanate care nu se supun

aceluiși sistem de clasificare. O caracteristică importantă a sistemului Kiupel este faptul că prezența individuală a oricăruia dintre următoarele criterii: numărul de mitoze (cel puțin 7 mitoze/10 HPF), numărul de celule multinucleate (cel puțin 3 celule/10 HPF, minim 3 nucleu), numărul de nucleu bizari (cel puțin 3 nucleu bizari/10 HPF) și evidențierea cariomegaliei (dacă diametrul a cel puțin 10% dintre mastocitele tumorale este de cel puțin de două ori mai mare decât normal), rezultă automat în diagnosticarea acelu MCT ca fiind de grad înalt. Astfel, utilizând această metodă, am diagnosticat un număr de 53 de tumori (52,5%) ca fiind de grad scăzut și 48 de tumori (47,5%) de grad înalt.

Luând în considerare cele 101 cazuri de mastocitom cutanat diagnosticate histologic, am urmărit să stabilim care au fost rasele cele mai afectate de mastocitoame de grad scăzut și de grad înalt. Astfel, am observat că din numărul total de 53 de MCT de grad scăzut Kiupel, cele mai multe tumori s-au întâlnit la Metis (n = 7, 13.2%), Labrador Retriever (n = 6, 11.3%), Boxer și Golden Retriever (n = 5, 9.4% fiecare), respectiv Caniche și Pug (n = 4, 7.5% fiecare). În ceea ce privește incidența mastocitoamelor de grad înalt Kiupel, am observat că rasele cele mai afectate au fost rasa Metis (n = 8, 16.6%), Boxer și Ciobănesc German (n = 4, 8.3% fiecare), respectiv Labrador Retriever și Pug cu un număr de 3 cazuri fiecare (6.2%).

## **Capitolul 12**

În acest studiu au fost incluse 40 de cazuri de mastocitom cutanat canin care au fost diagnosticate în cadrul disciplinei de Anatomie Patologică, Diagnostic Necropsic și Medicină Legală Veterinară a Facultății de Medicină Veterinară din Cluj-Napoca. Aceste tumori au avut diferite localizări. Probele tisulare au fost procesate inițial prin tehnica indirectă, utilizând sistemul de imunohistochimie automat Leica Bondmax™ (Leica Biosystems Melbourne, model Bond Max, seria M2 12154), însă rezultatele obținute nu au fost satisfăcătoare, secțiunile histologice prezentând numeroase artefacte de procesare. Astfel, am recurs la procesarea probelor prin tehnica manuală, iar diluția anticorpului primar care a relevat cele mai bune rezultate s-a dovedit a fi cea de 1:50.

Evaluarea expresiei STAT3 s-a realizat folosind un sistem de gradare a intensității imuno-marcării. Aceasta a fost determinată ca fiind: 0 – negativă, 1 – slabă, 2 – moderată, 3 - puternică. Un total de 10 câmpuri cu obiectiv de 40X au fost evaluate pentru a stabili gradul marcării celulelor și pentru a putea stabili cu precizie scorul atribuit fiecărui preparat imunohistochimic și a elimina posibilitatea variabilității induse de procesare. Toate probele de mastocitom cutanat canin incluse în acest studiu, dar și martorul pozitiv, s-au marcat din punct de vedere

imunohistochimic pentru STAT3. Imunoreactivitatea s-a observat la nivel citoplasmatic, difuz, cu diferite grade de intensitate de brun/maro.

În unele situații am remarcat o imunoreactivitate discretă și la nivelul nucleului celulelor, însă cuantificarea acestui aspect s-a dovedit dificilă datorită citoplasmei abundente marcată pozitiv, astfel încât, de cele mai multe ori, nucleul a fost mascat de către aceasta. La un număr redus de preparate imunohistochimice am observat o imunoreactivitate discretă a endoteliului vascular intra-tumoral, ne explicăm această imunoreactivitate a endoteliului prin neo-angiogeneza accentuată intra-tumorală, apărută ca răspuns la o expresie crescută a VEGF sub influența citokinelor.

Unele preparate imunohistochimice au prezentat o marcare pozitivă, intensă și difuză a citoplasmei fibroblastelor, localizate în mod deosebit la marginile formațiunii tumorale propriu-zise sau în acele zone în care colagenoliza indusă de mastocitom era extinsă. Acest lucru se explică, din nou, prin efectul citokinelor (IL-6/IL-11) și al inflamației prezente la nivelul tumorii asupra căii intrinseci de semnalizare celulară JAK2-STAT3, dimerizarea și fosforilarea STAT3, translocarea la nivelul nucleului și inițierea transcripției genelor.

Dintre cele 40 de mastocitoame cutanate canine incluse în acest studiu, 26 au fost diagnosticate din punct de vedere histopatologic ca fiind de grad scăzut (Kiupel) și 14 au fost diagnosticate ca fiind de grad înalt (Kiupel). Raportându-ne la cele 26 de tumori de grad scăzut, am observat că 5 dintre acestea (19.23%) au avut un scor al intensității imuno-marcării de 1, 16 cazuri (61.5%) au avut un scor de 2 și 5 cazuri (19.23%) au avut scorul 3. În ceea ce privește mastocitoamele diagnosticate din punct de vedere histopatologic ca fiind de grad înalt, 3 dintre acestea (21.4%) au primit un scor al imuno-marcării de 1, 2 cazuri (14.28%) au primit scorul 2 și 9 cazuri (64.28%) au primit scorul 3. Rezultatele obținute indică faptul că o mare parte a mastocitoamelor de grad scăzut au tendința de a se marca cu o intensitate moderată (scorul 2), pe când marea majoritate a cazurilor de mastocitom cutanat de grad înalt s-au marcat puternic (scorul 3). Cu toate acestea, din punct de vedere statistic, nu s-au observat corelații pozitive semnificative între intensitatea imuno-marcării STAT3 și gradul histologic al tumorilor ( $r = 0.281$ ).

### **Capitolul 13**

Materialul biologic a fost reprezentat de cele 2 linii celulare stabile de mastocitom canin, NI-1 (celule mioeloide imature, precursori ai mastocitelor) și C2 (celule mature, provenite dintr-un mastocitom cutanat canin). Loturile experimentale au fost stabilite astfel: câte un lot martor netratat din fiecare linie celulară (NI-1 și C2) și câte trei loturi din fiecare linie celulară cu inhibitor în



concentrație de 800nM/l, 400nM/l și, respectiv, 200nM/l. Celulele au fost menținute în contact cu inhibitorul timp de 24 ore la 37°C, ulterior fiind marcate cu ajutorul kitului Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany).

Inhibitorul JSI-124 (Cucurbitacin I) a dus la o creștere dependentă de doză a procentului celulelor aflate în apoptoză timpurie (Q1) în linia celulară NI-1. Comparând lotul martor netratat, unde am identificat un procent de 49.4% celule aflate în apoptoză timpurie, cu celelalte loturi experimentale, am observat că o concentrație de 200nM/l a inhibitorului a dus la creșterea acestui procent la 52.8% (cu 3.4% mai mult decât martorul), concentrația de 400nM/l a ridicat procentul la 66.9% (cu 17.5% mai mult decât martorul), iar concentrația de 800nM/l a dus la un procent de 71.5% (cu 22.1% mai mult decât martorul). Procentul de celule viabile a scăzut în mod vizibil, fiind de 45.7% la lotul martor, 32.6% la lotul C200, 22.1% la lotul C400 și 10.4% în cazul lotului C800. Cumulând procentul celulelor aflate în apoptoză timpurie cu cel al celulelor aflate în apoptoză târzie, am determinat că 65% dintre celulele din lotul C200 (cu 12% mai mult decât în lotul martor), 75.9% dintre celulele din lotul C400 (cu 22.7% mai mult decât în lotul martor) și 86.6% dintre celulele din lotul C800 (cu 33.4% mai mult decât în lotul martor) se aflau în apoptoză. Raportându-ne la lotul C200, unde procentul de celule apoptotice a fost de 65.2%, dublarea dozei (lotul C400) a dus la o creștere a numărului de celule apoptotice cu 16.41%. În ceea ce privește lotul C800, cvadruplarea dozei inhibitorului a dus la o creștere a procentului de celulele apoptotice cu 32.82% comparativ cu lotul C200.

Inhibitorul JSI-124 (Cucurbitacin I) a dus la o creștere dependentă de doză a procentului celulelor aflate în apoptoză timpurie (Q1) în linia celulară C2. Comparând lotul martor netratat, unde am identificat un procent de 36.9% celule aflate în apoptoză timpurie, cu celelalte loturi experimentale, am observat că o concentrație de 200nM/l a inhibitorului a dus la creșterea acestui procent la 60.6% (cu 23.7% mai mult decât martorul), concentrația de 400nM/l a ridicat procentul la 72.4% (cu 37.5% mai mult decât martorul), iar concentrația de 800nM/l a dus la un procent de 77% (cu 40.1% mai mult decât martorul). Procentul de celule viabile a scăzut în mod vizibil, fiind de 57.4% la lotul martor, 35.4% la lotul C200, 24.2% la lotul C400 și 19.2% în cazul lotului C800. Cumulând procentul celulelor aflate în apoptoză timpurie cu cel al celulelor aflate în apoptoză târzie, am determinat că 63.5% dintre celulele din lotul C200 (cu 21.3% mai mult decât în lotul martor), 75.3% dintre celulele din lotul C400 (cu 33.1% mai mult decât în lotul martor) și 80.7% dintre celulele din lotul C800 (cu 38.5% mai mult decât în lotul martor) se aflau în apoptoză. Raportându-ne la lotul C200, unde procentul de celule apoptotice a fost de 63.5%, dublarea dozei (lotul C400) a dus la o creștere a numărului de celule apoptotice cu 18.56%. În ceea ce

privește lotul C800, cvadruplarea dozei inhibitorului a dus la o creștere a procentului de celule apoptotice cu 27% față de lotul C200.

## CONCLUZII GENERALE

1. Rezultate epidemiologice ale studiului mastocitomului canin în perioada 2005-2020:

- În cadrul Disciplinei de Anatomie Patologică a fost înregistrat un număr de 161 de mastocitoame provenind de la specia canină;
- Cele mai multe cazuri au fost înregistrate la Metis (n=26, 15.5%), Boxer (n=17, 10.5%), Labrador Retriever (n=11, 6.8%), Golden Retriever (n=10, 6.2%) și Shar-Pei (n=9, 5.5%);
- Pacienții care au dezvoltat acest tip de tumoare au avut vârsta cuprinsă între 9 luni și 18 ani, cea mai mare pondere a cazurilor (n=41, 25.4%) aparținând grupei de vârstă 7-8 ani, între vârsta animalelor și incidența MCT existând o relație pozitivă semnificativă ( $r=0.8913$ ;  $p<0.01$ );
- Diferențele de sex nu sunt remarcabile, fiind identificați un număr de 91 de masculi (56.5%) și 70 femele (43.4%);
- MCT s-au prezentat îndeosebi ca formațiuni unice (n=141, 88.6%) și mai puțin ca tumori multicentrice (n=18, 11.3%);
- Regiunea anatomică afectată cel mai frecvent a fost trunchiul (n=63, 52.9%), urmată de membre (n=38, 31.9%), cap și gât (n=18, 15.1%);
- Perioada medie de timp înregistrată de la debutul leziunii până la stabilirea diagnosticului a fost de 10.7 luni (cu limite de 2 săptămâni – 24 luni);
- Diametrul mediu al MCT a fost de 5.4 cm (cu limite de 0.3 – 30 cm).

2. Numărul MCT cutanate diagnosticate histopatologic a fost mult mai mare decât numărul celor subcutanate (n=101, 85.5% versus 17, 14.4%).

3. Clasificarea tumorilor utilizând o metodă modernă, propusă de Kiupel și colab. în anul 2011, crește obiectivitatea patologului examinator și ușurează stabilirea unui diagnostic corect și concret prin trasarea unor caracteristici specifice de diferențiere între MCT de grad scăzut și MCT de grad înalt.

4. Un număr mare de MCT de grad scăzut au fost diagnosticate la rasele Metis (n=7, 13.2%), Labrador Retriever (n=6, 11.3%), Boxer și Golden Retriever (n=5, 9.4% fiecare), respectiv Caniche și Pug (n=4, 7.5% fiecare).

5. MCT de grad înalt a fost identificat în număr mare la rasele Metis (n=8, 16.6%), Boxer și Ciobănesc German (n = 4, 8.3% fiecare), respectiv Labrador Retriever și Pug cu un număr de 3 cazuri fiecare (6.2%).

6. Toate mastocitoamele cutanate canine care au fost incluse în studiu s-au marcat pozitiv pentru STAT3. Mastocitoamele de grad scăzut au tendința de a prezenta o intensitate a imuno-marcării moderată, iar mastocitoamele de grad înalt au prezentat, în general, o imunoreactivitate crescută.

6. Nu există corelații pozitive semnificative între intensitatea imuno-marcării STAT3 și gradul histologic al tumorilor ( $r=0.281$ ).

7. O imunoreactivitate discretă a endoteliului vascular intra-tumoral și o marcarea pozitivă, intensă și difuză a citoplasmei fibroblastelor pot fi observate prin utilizarea anticorpului monoclonal IgG1 anti-STAT3 pe probe provenite de la specia canină.

8. Inhibitorul JSI-124 (Cucurbitacin I) este capabil să inducă *in vitro* inițierea apoptozei în cazul liniilor celulare NI-1 și C2, provenite de la pacienți cu formă leucemică, respectiv formă cutanată de mastocitom, în toate dozele testate.

9. Concentrația de inhibitor care a relevat rezultatele cele mai bune în ceea ce privește inducerea apoptozei în mastocitele din liniile celulare NI-1 și C2 a fost doza de 400nM/l.