

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

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ОРЕХОВА ХРИСТИНА ВАСИЛІВНА

УДК: 619:616.8-091:616.421-006:636.8

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ВЕРИФІКАЦІЯ РІЗНИХ ТИПІВ
ЛІМФОСАРКОМ У КОТІВ**

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

_____ **Х.В. Орехова**

Науковий керівник: Щебенцовська 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 – 2024

АНОТАЦІЯ

Орєхова Х. В. Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів. – 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, 2024.

Дисертаційна робота присвячена вивченню клінічних, патологоанатомічних, патогістологічних та ультраструктурних змін за різних типів лімфосаркоми (лімфоми) у котів з їх фенотиповою верифікацією. Проблеми ранньої діагностики, молекулярно-генетичних та імунобіологічних властивостей неоплазій, підбір методів лікування у дрібних домашніх тварин до сьогодні залишаються дискусійними у світі, а також і в Україні. Донедавна вважалось, що провокують появу лімфоми у котів два РНК геномних віруси з родини *Retroviridae*, роду *Gammaretrovirus* – вірус лейкозу котів – FeLV та роду *Lentivirus* – вірус імунодефіциту котів (FIV – лімфотропний лентівірус), які відіграють непряму роль у пухлинному генезі, викликаючи хронічну дисрегуляцію імунної системи та активізацію онкогенного шляху. Лімфома, як правило, виникає внаслідок неопластичної трансформації та подальшої проліферації лімфоцитів у лімфоїдних органах.

Для вирішення наукового завдання нами було використано комплекс сучасних методів досліджень: клінічні, ультрасонографічні, рентгенологічні, компютерна томографія, цитологічні, гістологічні, імуногістохімічні, напівтонкі зрізи, морфометричний аналіз із визначенням площі лімфобластних клітин та їх ядер, ядерно-цитоплазматичне відношення (ЯЦВ), статистичний та ультраструктурний метод з використанням трансмісійної електронної мікроскопії. З метою виключення вірусу лейкозу котів проводили ІФА дослідження.

Аналіз статистичних даних, отриманих із клініки «Доктор Вет» м. Львова упродовж 2019–2023 років свідчить про збільшення кількості випадків із онкологічною патологією у котів. Так, за результатами цитологічних та

патогістологічних досліджень встановлено, що із 873 неоплазій у котів, на пухлини молочних залоз припадало 660 випадків (75,60 %), лімфому діагностували у 194 котів (22,24 %), саркому – 7 (0,8 %), мастоцитому – 4 (0,45 %), первинні новоутворення грудної порожнини виявляли у 8 тварин (0,91 %). В структурі онкологічних захворювань, які діагностували в клініці «Ветпрактик» м. Львова, упродовж 2019–2023 років спостерігали подібну тенденцію. Найбільшу кількість пухлин виявляли з ураженням молочних залоз, що становило 74,06 % (517 випадків), на лімфому припадало 23,35 % (163 випадки), саркому – 0,72 % (5 випадків), мастоцитому – 0,43 % (3 випадки) та первинні новоутворення грудної порожнини – 1,43 % (10 випадків). Детальний аналіз клініко-морфологічних проявів лімфоми у котів дав можливість розділити її на три типи, які найчастіше виявляли у нашому регіоні, а саме: аліментарну, медіастинальну та екстранодальну. За результатами клінічних, ультрасонографічних та цитологічних досліджень встановлено, що серед усіх виявлених типів лімфоми у котів, діагностованих у клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик», найбільшу частку займала аліментарна, яка становила 60,31 % та 61,96 %, відповідно. На медіастинальну лімфому припадало, відповідно, 28,35 % та 28,24 %; на екстранодальну – 11,34 % та 9,20 %. Вік котів з лімфомою варіював від 1,5 до 13 років, що залежало від типу лімфоми. Аліментарну лімфому діагностували у котів старшого віку – від 10 до 13 років, медіастинальну – до 4 років, екстранодальну від 6 до 9 років. Жодного зв'язку між приналежністю до породи і захворюваністю на лімфому не було встановлено. У 92,4 % випадках хворіли безпородні домашні коти, 2,3 % становили сіамські, 3,6 % – британські короткошерстні та 1,7 % – перські коти, серед яких на самок припадало 70,2 %, на самців 29,8%.

Ультрасонографічно встановлено, що при аліментарній лімфомі у котів переважали неоплазії, які локалізувались у стінці шлунка та кишечника. Неінкапсульовані утворення різних розмірів мали неоднорідну гіпоехогенну структуру з нерівними контурами та множинними анехогенними включеннями, помірною васкуляризацією. У цитологічних зразках із брижових лімфатичних вузлів, отриманих методом тонкоголкової біопсії під контролем УЗД, забарвлених

за Романовським-Гімзою основна маса клітинного пулу складалась із популяції різних лімфобластів. Клітинний анізоцитоз та анізокаріоз виражений помірно, наявні атипові мітотичні фігури, переважно 2-3 в полях зору. За результатами гематологічних досліджень крові котів з аліментарною лімфомою встановлено достовірне підвищення кількості лейкоцитів (у 3,2 рази) ($P>0,001$) та кількості сегментоядерних нейтрофілів (у 1,5 рази) при значному зниженні лімфоцитів (у 2,8 разів) відносно показників фізіологічно здорових котів. За біохімічного дослідження сироватки крові котів з аліментарною лімфомою, в більшості клінічних випадків, встановлено підвищення рівня загального білка до $85,8\pm 3,23$ г/л, значну гіпербілірубінемію ($324,46\pm 3,76$ мкмоль/л), достовірне підвищення активності трансаміназ – аспартатамінотрансферази (АсАТ) у 3,5 рази та аланінамінотрансферази (АлАТ) у 6 разів із 30 кратним зростанням активності лужної фосфатази (ЛФ) ($P>0,001$).

При патологоанатомічному розтині котів із аліментарною лімфомою виявлено вузликові утворення на слизовій оболонці шлунка, вогнищеве потовщення стінки тонкого кишечника, різке збільшення брижових лімфатичних вузлів, множинні утворення в підшлунковій залозі, туморозні мультифокальні ураження селезінки, дистрофію печінки та гіперплазію портальних лімфатичних вузлів.

За результатами патогістологічного дослідження встановлено масивну інфільтрацію бластними лімфоцитами власне пластинки слизової оболонки та підслизового шару шлунка, слизової оболонки, підслизового і м'язового шару кишечника. Крім того, виявлено дифузну інфільтрацію кіркової речовини і лімфоїдних вузликів лімфатичних вузлів лімфобластами з клітинним атипізмом, моноклеарну периваскулярну проліферацію лімфобластними клітинами підшлункової залози та печінки. Ядра лімфобластних клітин переважно круглі, гіперхромні, з одним ядрцем. Цитоплазма помірно відмежована. Мітотичні фігури атипові, 2-3 в полях зору. Аналізуючи напівтонкі зрізи, отримані з брижових лімфатичних вузлів котів за аліментарної лімфоми, чітко диференціювали мономорфні лімфобласти з великими ядрами та нерівною нуклеолою, крупними

ядерцями та вузькою цитоплазмою. Імуногістохімічними дослідженнями встановлено, що більшість котів з аліментарною лімфомою мали позитивну експресію клітин CD 79a маркером, що підтверджувало їх В-клітинний фенотип. Так, на частку аліментарної В-клітинної лімфоми припадало 76,5 %, на Т-клітинну 23,5 % (позитивна експресія клітин CD3 маркером). Морфометрично площа цитоплазми лімфобластних клітин при В-клітинній та Т-клітинній аліментарній лімфомі дещо варіювала і в середньому займала: при В-клітинній $38,72 \pm 1,68 \text{ мкм}^2$, а при Т-клітинній $36,71 \pm 1,45 \text{ мкм}^2$. Натомість середня площа ядра при В-клітинній становила $25,62 \pm 0,86 \text{ мкм}^2$, а при Т-клітинній – $19,45 \pm 1,02 \text{ мкм}^2$. Ядерно цитоплазматичне відношення становило, $0,66 \pm 0,02$ та $0,53 \pm 0,03$, відповідно. Індекс проліферації в середньому дорівнював $9,27 \pm 2,2 \%$.

За даними трансмісійної електронної мікроскопії встановлено значну ядерцеву гіпертрофію, яка пов'язана з інтенсивним синтезом рибосомальної РНК. Візуалізувались добре виражені фібрилярні центри, оточені волокнистою та зернистою речовиною, що свідчило про високу синтетичну активність. Крім того, виявляли лімфобластні клітини з чисельними інвагінаціями каріолеми, які містили високу кількість гетерохроматину та мітотичні фігури. Подекуди у ядрах утворювались порожнини.

За медіастинальної лімфоми у котів реєстрували такі клінічні ознаки: задишку, утруднене ковтання, ціанотичність слизових оболонок, відсутній апетит та кахексію. При рентгенологічному дослідженні грудної порожнини встановлено підвищену контрастність в медіастинальній ділянці та різке зміщення легень дорсально. За результатами комп'ютерної томографії визначено зменшення об'єму легень, наявність інтерстиціального та альвеолярного затемнення, вузликове утворення діаметром 3 мм у каудальній частці лівої легені. Проведені експрес ІФА тести на виявлення вірус лейкозу котів показали, що 14 % досліджених тварин з медіастинальною лімфомою були FeLV позитивними.

За результатами гематологічних досліджень крові FeLV+ котів встановлено зниження, у два рази, кількості лейкоцитів, еритроцитів, гемоглобіну на фоні незначного лімфоцитозу, тоді як у FeLV негативних тварин відзначали лейкоцитоз

і лімфоцитопенію. Достовірних змін у біохімічних показниках крові котів за медіастинальної лімфоми, як у FeLV+, так і FeLV негативних тварин не було встановлено, окрім незначної гіперпротеїнемії. У біоптатах, отриманих з трансудату грудної порожнини виявляли, здебільшого, мономорфні лімфобласти з великими округлими гіперхромними ядрами та вузькою цитоплазмою. Каріоплазма дещо зерниста, ядерця добре проглядались, мітози атипові, багаточисельні. При проведенні аутопсії котів встановлено дифузні пухлинні ураження тканин грудної порожнини, а саме: внутрішнього грудного та внутрішніх міжреберних м'язів, м'язів діафрагми, легеневої паренхіми та медіастинальних лімфатичних вузлів. У поодиноких випадках виявлено вогнищеві неопластичні ураження селезінки. За результатами патогістологічних досліджень встановлено проліферацію мономорфними лімфобlastами грудних та міжреберних м'язів, ураження міжальвеолярних перегородок паренхіми легень, що порушувало їх архітектоніку, середостінних лімфатичних вузлів та селезінки. Цитоплазма лімфобластів помірно базофільна, ядра від круглої до еліпсоподібної форми, переважно з одним ядерцем. В середостінних лімфатичних вузлах та селезінці виявляли мегакаріоцити з гіперхромними атиповими ядрами, набряк капсули та розширення судин венозних синусів. Імуногістохімічними дослідженнями встановлено, що 72,7 % котів із медіастинальною лімфомою мали В-клітинний фенотип – бластні клітини проявляли експресію до CD79a маркера, а 27,3 % були позитивними до CD3 маркера, що вказувало на Т-клітинний фенотип. Морфометричними дослідженнями середостінних лімфатичних вузлів встановлено, що за В-клітинної лімфоми площа цитоплазми лімфобластних клітин займала $51,89 \pm 1,98$ мкм², площа ядра – $30,89 \pm 1,67$ мкм², ядерно-цитоплазматичне відношення – $0,59 \pm 0,01$, тоді як при Т-клітинній лімфомі цитоплазма лімфобластів дорівнювала $29,57 \pm 2,14$ мкм², площа ядра – $18,54 \pm 1,12$ мкм², ядерно-цитоплазматичне відношення – $0,62 \pm 0,03$. У середостінних лімфатичних вузлах відсоток Ki-67 позитивних лімфобластів становив $19,11 \pm 2,14$ %, що свідчить про тенденцію до підвищення проліферативної активності клітин.

При екстранодальній формі лімфоми у котів встановлено ураження нелімфоїдних органів, в більшості випадків – нирок. Клінічні ознаки у тварин були неспецифічними та варіабельними, зазвичай, типовими для гострої ниркової недостатності. Характеризувались загальним виснаженням, поліурією, полідипсією та реномегалією. Дослідженнями крові встановлено підвищення, у два рази, лейкоцитів на тлі зниження вмісту гемоглобіну та гематокриту. При біохімічному аналізі крові котів виявлено достовірне підвищення рівню креатиніну у 6 разів ($P < 0,001$) та концентрації сечовини у 4,3 рази, при відносній активності аланін-амінотрансферази та лужної фосфатази.

Ультрасонографічно встановлено дифузне підвищення кортикальної ехогенності у поєднанні з дифузним збільшенням обох нирок, зміну контурів органу та зниження кортикомедулярної диференціації. Цитологічно у мазках із біоптатів нирок візуалізувалась значна кількість крупних, округлих за формою клітин з невеликою азурофільною цитоплазмою, великими круглими ядрами із щільним хроматином та, переважно, одним або двома ядерцями. Анізоцитоз і анізокаріоз виражений помірно, мітози атипові. При проведенні патологоанатомічного розтину котів встановлено збільшення, деформацію та нерівномірне забарвлення нирок з горбистими туморозними випинаннями білуватого кольору. На розрізі наявні чітко контуровані, салоподібної консистенції розростання, які займали практично всю частину кіркового шару нирок. Границі між кірковим та мозковим шаром нирок не диференціювалися.

Патогістологічно наявна масивна дифузна інфільтрація інтерстицію, як кіркового так і мозкового шарів нирок круглоклітинними лімфобластами, які щільно заповнювали просвіти між клубочками та канальцями нирки. Клітинний атипізм помірно виражений. Ядра круглі, гіперхромні, переважно з одним ядерцем, мітотичні фігури атипові, 5-7 в полях зору. Більшість структур паренхіми нирок піддавались дистрофічно-некробіотичним змінам. Епітелій проксимальних та дистальних канальців у стані вакуольної та гідропічної дистрофії.

За результатами імуногістохімічного дослідження встановлено, що за ренальної лімфоми у котів переважав В-клітинний фенотип, який верифіковано у

77,7 % тварин, Т-клітинний – у 22,3 %. Крім того, рівень експресії Ki-67, як критерію можливого метастатичного ураження, показав достатньо високу проліферативну активність ≥ 24 %, що свідчить про несприятливий прогноз та ймовірність поширення патологічного процесу. Морфометричними дослідженнями встановлено середню площу цитоплазми лімфобласних клітин, які при В-клітинній лімфомі становили $32,95 \pm 1,34$ мкм², ядро займало $22,64 \pm 0,98$ мкм², ядерно-цитоплазматичне відношення дорівнювало $24,68 \pm 1,7$, тоді, як при Т-клітинній лімфомі площа цитоплазми та ядра була дещо меншою і становила $31,48 \pm 2,03$ мкм², площа ядра – $20,42 \pm 1,02$ мкм², ядерно-цитоплазматичне відношення – $0,64 \pm 0,03$.

Таким чином, за результатами імуногістохімічного дослідження з використанням маркерів CD79a (В-лімфоцити) та CD3 (Т-лімфоцити) верифікували фенотип лімфоми. Встановлено, що у всіх досліджених нами клінічних випадках лімфоми у котів переважала В-клітинна, де на частку аліментарної В-клітинної лімфоми припадало 76,5 %, Т-клітинної – 23,5 %. При медіастинальній лімфомі 72,7 % становила В-клітинна, а 27,3 % – Т-клітинна; при ренальній – у 77,7 % тварин встановлено В-клітинний фенотип, а 22,3 % – Т-клітинний.

Отже, у представленій роботі, застосовуючи морфометричні методи досліджень, вперше встановлено розміри лімфобластних клітин за різних типів лімфоми у котів, визначено їх ядерно-цитоплазматичне відношення, що може слугувати одним із додаткових критеріїв оцінки фенотипу лімфоми, дасть можливість оптимізувати схему хіміотерапевтичного лікування з подальшим прогнозуванням перебігу захворювання. Результати патоморфологічних та імуногістохімічних досліджень рекомендуються використовувати у якості основних та додаткових диференційно-діагностичних критеріїв імунофенотипування лімфоми у котів.

Результати дисертаційної роботи використовуються лікарями ветеринарної медицини у приватних ветеринарних клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик» для діагностики лімфоми у котів, у освітньому процесі та науково-дослідній роботі

здобувачів вищої освіти за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» факультету ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Сумського національного аграрного університету, Полтавського державного аграрного університету, Поліського національного університету та Білоцерківського національного аграрного університету.

Ключові слова: пухлина, лімфобласти, аліментарна лімфома, медіастинальна лімфома, ренальна лімфома, цитологія, електронна мікроскопія, CD3 маркер, CD79a маркер, маркер проліферації Ki-67.

ABSTRACT

Orekhova Kh. V. Pathomorphological verification of different types of lymphosarcoma in cats. – 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, Lviv, 2024.

The thesis is devoted to the study of clinical, patho-anatomical, pathohistological, and ultrastructural changes in different types of lymphosarcoma (lymphoma) in cats with the further phenotypic tumor verification. Early diagnostics problems, molecular genetic and immunobiological properties of neoplasias, selection of treatment methods in small domestic animals are still debatable worldwide, as well as in Ukraine. Until recently, it was believed the appearance of lymphoma in cats is provoked by two RNA-genomic viruses from the *Retroviridae* family: the genus *Gammaretrovirus* – feline leukemia virus (FeLV) and the genus *Lentivirus* – feline immunodeficiency virus (FIV). Both play an indirect role in tumorigenesis, causing chronic dysregulation of the immune system and the oncogenic pathway activation. As a rule, lymphoma arises as a result of neoplastic transformation and subsequent proliferation of lymphocytes in lymphoid organs.

To solve the scientific problem, we used a complex of modern research methods: clinical, ultrasonographic, cytological, histological, immunohistochemical, X-ray, CT scan, semi-thin sections, morphometric analysis with determination of the area of lymphoblastic cells and their nuclei, nuclear-cytoplasmic ratio (NCR), statistical and ultrastructural method using transmission electron microscopy. ELISA studies were also conducted to exclude feline leukemia virus.

Analysis of statistical data obtained from the Lviv clinic «Doctor Vet» during 2019-2023 indicates an increase in the number of cases with oncological pathology in cats. According to the results of cytological and pathohistological studies, it was established that out of 873 cases of neoplasia in cats, mammary gland tumors accounted for 660 cases (75.60 %), lymphoma was diagnosed in 194 cats (22.24 %), sarcoma – in 7 cats (0,8 %), mastocytoma – in 4 cats (0.45 %), and primary neoplasms of the chest cavity

were detected in 8 animals (0.91 %). A similar trend was observed in the structure of oncological diseases diagnosed in the Lviv clinic «Vetpractic» during 2019-2023. The largest number of neoplasias was detected in mammary glands, which amounted to 74.06 % (517 cases), lymphoma accounted for 23.35 % (163 cases), sarcoma – 0.72 % (5 cases), mastocytoma – 0.43 % (3 cases), and primary neoplasms of the chest cavity – 1.43 % (10 cases). The detailed analysis of the clinical and morphological manifestations of lymphoma in cats made it possible to outline three tumor types, which were most often detected in our region, namely: alimentary, mediastinal, and extranodal. According to the results of clinical, ultrasonographic and cytological studies, it was established that among all detected types of lymphoma in cats, diagnosed in the «Doctor Vet» and «Vetpractic» clinics, the alimentary lymphoma accounted for the largest share – 60.31 % and 61.96 % respectively. Mediastinal lymphoma accounted for 28.35 % and 28.24 % respectively, while extranodal one – 11.34 % and 9.20 %. The age of cats with lymphoma varied from 1.5 to 13 years, depending on the lymphoma type. Alimentary lymphoma was diagnosed in older cats – from 10 to 13 years, mediastinal – up to 4 years, extranodal – from 6 to 9 years. No relationship between the breed and the lymphoma diagnosis was established. Non-pedigree domestic cats were sick in 92.4 % of cases, 2.3 % were Siamese, 3.6 % were British shorthairs, and 1.7 % were Persian cats, among which 70.2 % were females and 29.8 % were males.

Ultrasonographic research established that neoplasias localized in the wall of the stomach and intestines prevailed in cats with alimentary lymphoma. Non-encapsulated formations of various sizes had moderate vascularization and a heterogeneous hypoechoic structure with uneven contours and multiple anechoic inclusions. Cytological smears from the stomach and mesenteric lymph nodes, obtained by the method of fine-needle biopsy under ultrasound control and stained according to Romanovsky-Giemsa, revealed the population of various lymphoblasts represented the majority of the cell pool. Cellular anisocytosis and anisokaryosis were moderately pronounced, atypical mitotic figures were available with mostly 2-3 pieces in the field of vision. The laboratory blood tests of cats with alimentary lymphoma confirmed a significant increase in the number of leukocytes (3.2 times) ($P > 0.001$) and the number of segmented neutrophils (1.5 times)

with a significant decrease in lymphocytes (2.8 times) relative to physiological norms. In most clinical cases, a biochemical study of the blood serum of cats with alimentary lymphoma revealed a significant increase in the transaminases activity: aspartate aminotransferase (AST) by 3,5 times and alanine aminotransferase (ALT) by 6 times, with a 30-fold increase in the activity of alkaline phosphatase (ALP) ($P>0,001$).

The pathological autopsy of cats with alimentary lymphoma revealed nodular formations on the stomach mucous membrane, the focal thickening of the small intestine wall, a sharp increase in mesenteric lymph nodes, multiple formations in the pancreas, tumorous multifocal lesions of the spleen, liver dystrophy, and hyperplasia of portal lymph nodes.

According to the results of the pathogistological examination, a massive infiltration by blast lymphocytes was established in the mucous membrane lamina and the stomach submucosal layer, the mucous membrane, the submucosa, and the intestine muscular layer. In addition, diffuse infiltration of the cortical substance and lymphoid nodules of lymph nodes by lymphoblasts with cellular atypism, and mononuclear perivascular proliferation by lymphoblastic cells of the pancreas and liver were found. The lymphoblastic cells' nuclei are mostly round, hyperchromic, with one nucleolus. The cytoplasm is moderately demarcated. Mitotic figures are atypical, with 2-3 pieces in the field of vision. Analyzing semi-thin sections obtained from mesenteric lymph nodes of cats with alimentary lymphoma, monomorphic lymphoblasts with large nuclei and uneven nucleolem, large nucleoli and narrow cytoplasm were clearly differentiated. Immunohistochemical studies established the majority of cats with alimentary lymphoma had positive expression of cells to CD79a marker, which confirmed their B-cell phenotype. Thus, the share of alimentary B-cell lymphoma accounted for 76.5 %, T-cell lymphoma – 23.5 % (positive expression of cells to the CD3 marker). Morphometrically, the lymphoblastic cells' cytoplasm area in B-cell and T-cell alimentary lymphoma varied slightly and occupied an average of $38.72 \pm 1.68 \mu\text{m}^2$ in B-cell and $36.71 \pm 1.45 \mu\text{m}^2$ in T-cell lymphoma. On the other hand, the average nucleus area was $25.62 \pm 0.86 \mu\text{m}^2$ in B-cell lymphoma, and $19.45 \pm 1.02 \mu\text{m}^2$ in T-cell lymphoma. The nuclear-cytoplasmic ratio

was 0.66 ± 0.02 and 0.53 ± 0.03 , respectively. The proliferation index was $9.27 \pm 2.2\%$ on average.

Transmission electron microscopy demonstrated significant nuclear hypertrophy, which is associated with intensive synthesis of ribosomal RNA. Well-defined fibrillar centers surrounded by fibrous and granular matter were visualized, which indicated high synthetic activity. Additionally, significant morphological variability of the lymphoblastic cells' nuclei with numerous intussusceptions of karyolema, which contained a high amount of heterochromatin and mitotic figures, was established. In some places, cavities were formed in the nuclei.

The following clinical signs were recorded for mediastinal lymphoma in cats: shortness of breath, difficulties in swallowing, cyanotic and icteric mucous membranes, lack of appetite, lymphadenomegaly, and cachexia. X-ray examination and CT scan of the chest cavity revealed an increased contrast in the mediastinal area and a sharp displacement of the lungs dorsally; nodular formations were of various sizes. Express ELISA tests for the detection of feline leukemia virus showed that 14 % of the studied animals with mediastinal lymphoma were FeLV positive.

According to the results of hematological studies of FeLV positive cats, a two-fold decrease in the number of leukocytes, erythrocytes, and hemoglobin was established accompanied by the slight lymphocytosis, while lymphocytopenia was noted in FeLV negative animals. No significant changes in the blood biochemical parameters in cats with mediastinal lymphoma were found, both in FeLV positive and FeLV negative animals. Monomorphic lymphoblasts with large rounded hyperchromic nuclei and narrow cytoplasm were found in the biopsies obtained from the chest cavity transudate. The karyoplasm was somewhat granular, the nucleoli were clearly visible, the mitoses were atypical and numerous. During the autopsy, diffuse tumor lesions of the chest cavity tissues were established, namely: focal tumorous lesions of the lungs, lymphadenopathy of the mediastinal lymph nodes, and focal neoplastic lesions of the spleen in some cases. Pathohistologically, the proliferation by a monomorphic population of lymphoblasts in the soft tissue of the chest wall, lungs, mediastinal lymph nodes and spleen was diagnosed. The lymphoblasts' cytoplasm was moderately basophilic, the nuclei were

round or elliptical in shape, mostly with one nucleolus. Megakaryocytes with hyperchromic atypical nuclei, capsule swelling and dilatation of venous sinuses' vessels were detected in the mediastinal lymph nodes and spleen. Immunohistochemical studies established the majority of mediastinal lymphoma cases in cats referred to the B-cell phenotype, i.e. blast cells showed expression to the CD79a marker, and were mostly negative for the CD3 one. The results of immunohistochemical studies of mediastinal lymph nodes' lymphoblasts correlated with morphometric indicators. It was established that in B-cell lymphoma, the area of lymphoblastic cells cytoplasm occupied $51.89 \pm 1.98 \mu\text{m}^2$, the nucleus area – $30.89 \pm 1.67 \mu\text{m}^2$, the nuclear-cytoplasmic ratio was 0.59 ± 0.01 , while in T-cell lymphoma the lymphoblasts cytoplasm was $29.57 \pm 2.14 \mu\text{m}^2$, the nuclear area – $18.54 \pm 1.12 \mu\text{m}^2$, the nuclear-cytoplasmic ratio was 0.62 ± 0.03 . In the mediastinal lymph nodes, the percentage of Ki67 positive lymphoblasts was $19.11 \pm 2.14 \%$, which indicates a trend of increasing the proliferative activity of cells.

In case of extranodal form of lymphoma in cats, non-lymphoid organs are affected, in most cases – the kidneys. Clinical signs were nonspecific and variable, usually typical of acute renal failure. They were characterized by general exhaustion, polyuria, polydipsia, and renomegaly. Blood tests revealed a two-fold increase in leukocytes on the background of hemoglobin and hematocrit decrease. The biochemical analysis of the cats' blood revealed a significant increase in the creatinine level by 6 times ($P < 0,001$) and the urea concentration by 4,3 times accompanied by relatively physiological indicators of alanine aminotransferase and alkaline phosphatase was.

Ultrasonographic examination of the abdominal cavity in cats diagnosed a sharp increase in the volume of both kidneys and changes in their shape, uneven contours, unevenly increased echogenicity and a fine-grained structure of the cortical layer. Cytologically, a significant number of large, rounded cells with a small azurophilic cytoplasm, large round nuclei with dense chromatin and, mostly, one or two nucleoli were visualized in smears from kidney biopsies. Anisocytosis and anisokaryosis were moderately expressed, and mitoses were atypical. An increase, deformation, and uneven coloring of the kidneys with bumpy tumorous protrusions of a whitish color were found during the pathological autopsy. On the very section, there are clearly contoured growths

of a fat-like consistency, which occupied almost the entire part of the kidneys' cortical layer. The boundaries between the cortical and medullary layers were not differentiated in some parts of the kidneys, and were difficult to notice in others.

Pathohistologically, there was a massive diffuse infiltration of the interstitium, both cortical and medullary layers of the kidneys by round cell lymphoblasts, which densely filled the space between the glomeruli and the kidney tubules. Cellular atypism was moderately expressed. Nuclei were round, hyperchromic, mostly with one nucleolus, mitotic figures were atypical, with 5-7 pieces in the field of vision. Most structures of the kidney parenchyma underwent dystrophic-necrobiotic changes. Epithelium of proximal and distal tubules was in a state of vacuolar and hydropic dystrophy.

The immunohistochemical study established that in case of renal lymphoma in cats, the B-cell phenotype prevailed, which was verified in 77.7 % of animals, while T-cell phenotype was found in 22.3 %. In addition, the level of Ki-67 expression, as a criterion for a possible metastatic lesion, showed a sufficiently high proliferative activity ≥ 24 %, which indicates an unfavorable prognosis and the probability of the pathological process growth. Morphometric studies established the average area of the lymphoblastic cells' cytoplasm, which was $32.95 \pm 1.34 \mu\text{m}^2$ in B-cell lymphoma, the nucleus occupied $22.64 \pm 0.98 \mu\text{m}^2$, and the nuclear-cytoplasmic ratio was 24.68 ± 1.7 . On the contrary, for the T-cell lymphoma, the cytoplasm area was somewhat smaller and amounted to $31.48 \pm 2.03 \mu\text{m}^2$, the nucleus area was $20.42 \pm 1.02 \mu\text{m}^2$, and the nuclear-cytoplasmic ratio was 0.64 ± 0.03 .

The lymphoma phenotype was verified based on the immunohistochemical study results using CD79a (B-lymphocytes) and CD3 (T-lymphocytes) markers. It was established that in all investigated clinical cases of lymphoma in cats, B-cell lymphoma predominated, with the share of alimentary B-cell lymphoma accounting for 76.5 %, T-cell lymphoma – 23.5 %. In mediastinal lymphoma, 72.7 % were B-cell type and 27.3 % were T-cell type.

In the presented thesis, morphometric methods of researching the lymphoblastic cell size in different types of feline lymphoma were determined for the first time; in addition, their nuclear-cytoplasmic ratio was defined that can serve as one of the

additional criteria for evaluating the phenotype of lymphoma and will allow to optimize the scheme of chemotherapy treatment with further prognosis of the course of the disease. The results of pathomorphological and immunohistochemical studies are recommended to be used as both the main and additional differential diagnostic criteria for immunophenotyping of feline lymphoma.

The results of the dissertation are used by veterinarians in the private veterinary clinics "Doctor Vet" and "Vetpractic" for the diagnosis of feline lymphoma; in addition, they are used in the course of the learning and research work of university and college students pursuing the 211 specialty "Veterinary Medicine" of the Veterinary Medicine Faculty of the Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S. Z. Gzhitsky, Sumy National Agrarian University, Poltava State Agrarian University, Polissya National University and Bila Tserkva National Agrarian University.

Key words: tumor, lymphoblasts, alimentary lymphoma, mediastinal lymphoma, renal lymphoma, cytology, electron microscopy, CD3 marker, CD79a marker, Ki-67 proliferation marker.

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. Oriekhova, K., & Shchebentovska, O. (2022). Pathohistological features of mediastinal lymphoma in domestic cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(3), 317–323. doi:10.15421/022241 *(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготувала матеріали до друку).*

2. Oriekhova, K., & Shchebentovska, O. (2023). Pathomorphology of the renal form of lymphoma in cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(1), 3–9. doi:10.15421/022301 *(Здобувачка провела патологоанатомічний розтин котів, відібрала матеріал для патогістологічного дослідження, підготувала статтю до друку).*

Статті у фахових наукових виданнях України:

3. Орехова Х. В., Щебентовська О. М. (2023). Патоморфологічні зміни в органах котів, спричинені аліментарною лімфомою. Клінічні випадки. *Науково-технічний вісник Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів і кормових добавок та Інституту біології тварин*, 24(2), 145–155. doi:10.36359/scivp.2023-24-2.15 *(Здобувачка провела патологоанатомічний розтин котів, відібрала матеріал для патогістологічного та імуногістохімічного дослідження, підготувала матеріал до друку).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

Тези наукових доповідей:

4. Орехова Х. В. (2021). Патоморфологічні зміни в лімфатичних вузлах за лімфосаркоми у котів. *Матеріали II конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині», присвячені 140-річчю відкриття навчального закладу «Цісарсько-королівська ветеринарна школа та*

школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові». Львів, 113–114.

5. Орєхова Х. В. (2021). Патоморфологічні зміни в нирках за екстранодальної форми лімфоми у котів. *Збірник матеріалів IV всеукраїнської науково-практичної конференції «Теорія та практика сучасної морфології»*. Дніпро, 106–108.

6. Орєхова Х. В. (2022). Цитологічна та патоморфологічна характеристика медіастинальної великої В-клітинної лімфоми у мейн-куна. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти»*. Житомир, 96–101.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА.....	17
ЗМІСТ.....	19
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	21
ВСТУП.....	22
РОЗДІЛ 1	
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	31
1.1. Роль ретровірусів у розвитку лімфоми у котів.....	31
1.2. Історія класифікацій злоякісних лімфом у тварин і людини.....	33
1.3. Характеристика клініко-анатомічних форм лімфоми у котів.....	40
1.4. Клінічні ознаки, діагностика та методи лікування різних типів лімфоми у котів	44
1.5. Висновок з огляду літератури.....	48
РОЗДІЛ 2	
ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ.....	50
2.1. Вибір напрямів досліджень.....	50
2.2. Об'єкти дослідження, місце проведення досліджень.....	51
2.3. Методи проведення досліджень.....	52
2.3.1. Морфологічні дослідження крові	53
2.3.2. Патогістологічні методи дослідження.....	53
2.3.3. Метод електронно-мікроскопічного дослідження	54
2.3.4. Імуногістохімічні дослідження.....	55
2.3.5. Морфометричне дослідження із статистичним аналізом отриманих результатів досліджень.....	55
РОЗДІЛ 3	
РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	56
3.1. Моніторинг спонтанних випадків онкологічних захворювань у котів у клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик» м. Львова.....	56
3.2. Характеристика аліментарної лімфоми у котів.....	59
3.2.1. Клінічні прояви, ультрасонографічна діагностика, гематологічні та біохімічні показники крові у котів за аліментарної лімфоми.....	59
3.2.2. Патологоанатомічні зміни та патогістологічна характеристика органів і тканин у котів за аліментарної лімфоми.....	65
3.2.3. Ультраструктурні зміни в брижових лімфатичних вузлах котів за аліментарної лімфоми.....	85
3.3. Характеристика медіастинальної лімфоми у котів.....	95

3.3.1. Клінічна картина, рентгенологічні зміни, гематологічні та біохімічні показники крові у котів за медіастиальної лімфоми.....	95
3.3.2 Патологоанатомічні зміни та патогістологічна характеристика органів і тканин у котів за медіастиальної лімфоми.....	101
3.4. Характеристика екстранодальної лімфоми у котів.....	114
3.4.1. Клінічна картина, УЗД характеристика, гематологічні та біохімічні показники крові у котів за ренальної лімфоми	114
3.4.2. Патологоанатомічні зміни та патогістологічна характеристика органів і тканин у котів за ренальної лімфоми.....	118
3.5. Висновки до розділу 3.....	130
РОЗДІЛ 4	
УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	
ДОСЛІДЖЕНЬ.....	134
ВИСНОВКИ.....	145
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	148
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	149
ДОДАТКИ.....	174

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

СНОР – циклофосфамід, вінкрисин (онковін) і преднізолон/преднізон, доксорубіцин (гідроксидаунорубіцин)).

СОР – циклофосфамід, вінкрисин (онковін) і преднізолон/преднізон

FeLV – *Feline leukemia virus* – вірусу лейкозу котів

FIV – *Feline immunodeficiency virus* – вірусу імунодефіциту котів

FNA – Fine Needle Aspiration – тонкогolgкова біопсія

RBC – кількість еритроцитів

WBC – кількість лейкоцитів

WF – робоче формулювання

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ІФА – імуноферментний аналіз

ЛФ – лужна фосфатаза

НХЛ – неходжськіньська лімфома

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

РНК – рибонуклеїнова кислота

УЗД – ультразвукова діагностика

ЦНС – центральна нервова система

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ЯЦВ – ядерно цитоплазматичне відношення

ВСТУП

Однією із найпоширеніших злоякісних неоплазій у котів є лімфома (лімфосаркома) [65, 69]. Залежно від локалізації ураження розрізняють такі анатомічні форми, як: аліментарна (абдомінальна), медіастинальна, мультицентрична (генералізована лімфаденопатія) та екстранодальна (ренальна, назальна, невральна, очна, рідше шкірна) [25, 26, 40, 76, 118, 124, 142, 144, 147]. Клініко-анатомічні форми лімфоми у котів є варіабельними, що пов'язано з деякими генетичними особливостями, а також присутністю вірусу лейкозу котів (*Feline leukemia virus – FeLV*) та вірусу імунodefіциту котів (*Feline immunodeficiency virus – FIV*) [8, 54, 57, 84]. Лімфома, як правило, виникає внаслідок неопластичної трансформації та подальшої проліферації лімфоцитів у лімфоїдних органах. Неоплазія може розвиватися у кількох органах одночасно або походити з одного із поступовим поширенням в інші тканини та органи. Однією з найпоширеніших форм лімфоми у котів є аліментарна, яка за статистикою займає від 32 до 72 % випадків і характеризується локальним або дифузним ураженням усіх шарів стінки шлунка, кишечника та мезентеріальних лімфатичних вузлів. Більшість описаних у світовій літературі клінічних випадків аліментарної лімфоми реєстрували у старих котів, проте все частіше траплялись випадки захворювання молодих тварин, що пов'язано з погіршенням епізоотологічної ситуації щодо вірусу лейкозу [96, 100, 181].

Медіастинальний тип лімфоми виявляють значно рідше, переважно у котів від 2 до 4 років з характерними мультифокальними ураженнями тимуса, плеври та лімфатичних вузлів середостіння. Мультицентрична лімфома, яка трапляється у 20-30 % котів, характеризується ураженням поверхневих лімфатичних вузлів з можливими пухлинними утвореннями в печінці та селезінці. Статистично на екстранодальну форму лімфоми припадає близько 10–15 %. Уражаються при цьому нелімфоїдні органи – нирки, очі, назальне дзеркало, ЦНС, шкіра [5, 134, 147]. У світовій літературі є повідомлення про генетичну схильність окремих порід котів до різних типів лімфоми [41, 57, 101]. Ниркову лімфому найчастіше реєстрували у європейських короткошерстних, британських короткошерстних та шотландських

висловуких котів, тоді як сіамські коти були схильні до розвитку лімфоми середостіння [52, 53, 66, 145].

Зазвичай, клінічні ознаки лімфоми є неспецифічні та варіабельні, тому діагностувати, наприклад, ниркову форму на ранніх стадіях надзвичайно складно, оскільки більшість хворих тварин попадають в клініки з ознаками гострого ураження нирок з лейкоцитурією, протеїнурією та азотемією [73, 112]. В описаних у літературі випадках лімфоми нирок автори відзначають двостороннє ураження органу, загальне виснаження, поліурію та полідипсію, азотемію та нерегенеративну анемію [66, 112].

На сьогодні існує кілька гістологічних класифікацій лімфом у людей, які також до певного часу застосовували й ветеринарні патологи, оцінюючи на мікроскопічному рівні вигляд новоутворень. Це класифікаційні схеми Раппопорта та Кіля (оновлена Кільська схема класифікації залишається стандартом в Європі) [151]. Основними відмінностями між лімфомою людей і тварин було те, що у тварин, в більшості випадків, лімфома є високодиференційована, а лімфома Ходжкіна практично не діагностується у тварин [186]. Загалом питання гістологічної класифікації лімфоїдних злоякісних новоутворень у ветеринарії залишається невирішеним і перебуває в процесі постійних змін та доповнень. Саме через це у ветеринарній онкології були зроблені численні спроби створити раціональні класифікації цих пухлин, які ґрунтувалися на сучасних знаннях про морфологію нормальних клітин крові та їхніх попередників. Розвиток відбувався паралельно з поглибленням знань і вдосконаленням цитологічних та імуногістохімічних методів ідентифікації. Переглянута Європейсько-американська класифікація лімфоми (REAL), яка зараз прийнята клініцистами і патологами у всьому світі, передбачає детальний поділ її за морфологією та імунофенотипом.

Крім того, для діагностики лімфоми домашніх тварин, на сьогодні, використовують класифікацію Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), при якій співвідносять кожну категорію лімфоми із клітинною поведінкою та ступенем злоякісності [166, 167, 170, 185]. Ветеринарні лікарі при верифікації лімфоми у домашніх тварин враховують топографічну локалізацію новоутворення,

ступінь злоякісності, імунофенотип і супутні захворювання пацієнтів, формуючи протоколи лікування, які включають підтримуючу терапію, хіміотерапію, променеву терапію та хірургічне втручання [112]. Наприклад, у котів з нирковою лімфомою лікуванням вибору є хіміотерапія, оскільки переважно уражаються обидві нирки, що унеможлиблює оперативне видалення органу [112, 150]. Протипухлинні препарати, такі як циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисдин, преднізолон, L-аспаргіназа можуть використовуватись в протоколах хіміотерапії лімфоми з врахуванням стадії та клінічного стану кожного пацієнта [85, 93, 101, 112, 159].

Незважаючи на прогрес у діагностиці новоутворень домашніх тварин, морфологічна верифікація пухлин лімфоїдної тканини залишається однією з найскладніших [20]. Проблеми пов'язані з особливостями цієї групи новоутворень, а саме: різноманіття нозологічних форм, подібність гістологічних проявів окремих типів лімфоми, цитологічна схожість нормальних і пухлинних лімфоцитів, а також морфологічна подібність деяких реактивних процесів, особливо у лімфоїдних органах ускладнюють їх діагностику. Процес ранньої постановки діагнозу в котів на лімфому полегшує рентгенологічне та ультразвукове дослідження, а також тонкоголкова аспіраційна біопсія, яка є специфічною для діагностики лімфоми [20, 106]. Проте, для верифікації морфологічних типів лімфоми, все ж таки, необхідно проводити імуногістохімічне фенотипування та морфометричне дослідження.

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. Ґжицького, 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 основні клінічні, патологоанатомічні та патогістологічні зміни у котів за різних форм лімфоми, верифікувати їх імунофенотип.

Для досягнення поставленої мети визначено такі **завдання**:

- провести статистичний аналіз поширення неопластичних захворювань у котів у ветеринарних клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик», м. Львова;
- з'ясувати частоту спонтанних випадків лімфоми та її клінічних форм у котів;
- вивчити основні клінічні прояви, гематологічні та біохімічні зміни за різних форм лімфоми у котів;
- провести цитологічну верифікацію клітинного пулу за різних форм лімфоми у котів;
- вивчити патоморфологічні зміни за різних форм лімфоми у котів;
- визначити імунофенотип лімфоми у котів при різних клінічних формах;
- встановити морфометричні критерії лімфобластних клітин для верифікації імунофенотипу лімфоми у котів;
- з'ясувати ультраструктурні зміни за аліментарної форми лімфоми у котів.

Об'єкт дослідження: встановлення патоморфологічних особливостей різних типів лімфоми у котів з їх імунофенотипуванням.

Предмет дослідження: поширення, клінічний перебіг, гематологічні, біохімічні, патоморфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні зміни за різних типів лімфоми у котів.

Методи дослідження: візуальної діагностики (ультрасонографічні, рентгенологічні та комп'ютерної томографії) для виявлення «невидимих» патологічних процесів із встановленням їх локалізації, диференціювання тканин за щільністю та розмірами; клініко-морфологічні (гематологічні та біохімічні показники крові) – з метою оцінки загального стану організму тварин; імунохроматографічний експрес-тест для якісного виявлення антитіл до вірусу імунодефіциту та антигену вірусу лейкозу котів; цитологічні, патологоанатомічні, патогістологічні, імуногістохімічні (з використанням маркерів CD 79a, CD3 та Ki-67); виготовлення напівтонких зрізів для вивчення тонкої структури ядер лімфобластних клітин; трансмісійна електронна мікроскопія – встановлення ультраструктурної організації лімфосаркоми; морфометричні – визначення площі

ядра та цитоплазми, ядерно-цитоплазматичного відношення, індексу проліферації; статистичні – встановлення вірогідності результатів досліджень.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше, в порівняльному аспекті, встановлено дані щодо поширення різних неоплазій у котів, пацієнтів клінік «Доктор Вет» та «Ветпрактик» м. Львова. Зібрані та проаналізовані статистичні відомості про клінічні випадки лімфом у котів, встановлені їх клінікоанатомічні форми, залежно від віку. З'ясовано, що серед усіх онкологічних захворювань котів у період з 2019 по 2023 роки на лімфому припадало 22,24 % і 23,35 %, відповідно. Найбільший відсоток серед діагностованих лімфом у котів займала аліментарна, на яку приходилось 60,31 % та 61,96 %, відповідно; на медіастинальну – 28,35 % та 28,24 %; екстранодальну – 11,34 % та 9,80 %, відповідно. Вік котів з лімфомою варіював від 1,5 до 13 років, що залежало від клініко-анатомічної форми. Аліментарну лімфому діагностували у котів старшого віку від 10 до 13 років, медіастинальну – від 2 до 4 років, екстранодальну від 6 до 9 років.

Встановлено, що за аліментарної лімфоми у котів, крім тонкого відділу кишечника та шлунка, уражались брижові лімфатичні вузли, підшлункова залоза та печінка, рідше селезінка. За медіастинальної лімфоми пухлинні утворення локалізувались у грудній порожнині з дифузним ураженням внутрішніх грудних та внутрішніх міжреберних м'язів, м'язів діафрагми, легеневої паренхіми та медіастинальних лімфатичних вузлів. При екстранодальній формі лімфоми неопластичні процеси розвивались у нелімфоїдних органах, переважно у нирках.

Гістологічно виявляли мономорфні дифузні інфільтрати з лімфобластних клітин, які локалізувались між міоцитами грудних та міжреберних м'язів грудної стінки, в кірковому шарі середостінних лімфатичних вузлів та розширених синусах, вогнищево у паренхімі легень. За ренальної лімфоми макроскопічно відзначали неопластичні утворення як у кірковому, так і мозковому шарі. Гістологічно встановлено специфічну клітинну інфільтрацію однотиповими лімфобластними клітинами, які практично заповнювали інтерстиціальний простір органу, десквамацію та дистрофію епітелію проксимальних і дистальних каналців,

фокальний некроз паренхіми нирок. Доведено, що механізм розвитку гострої ниркової недостатності, який клінічно виявляли у котів за ренальної лімфоми, пов'язаний саме з утворенням лімфоматозного інтерстиціального інфільтрату, який призводив до компресії каналців та інтерстиціальних капілярів, інтратубулярної обструкції та підвищення постгломерулярного судинного опору.

Верифіковано імунофенотип лімфоми з використанням імуногістохімічних маркерів CD3 (Т-лімфоцити) та CD79a (В-лімфоцити). Встановлено, що серед усіх досліджуваних лімфом у котів із клінік м. Львова переважала В-клітинна (76,4 %), тоді як на Т-клітинну припадало 23,6 %. Вперше, використовуючи морфометричні методи дослідження, встановлено параметри лімфобластних клітин при різних клініко-анатомічних типах лімфом у котів. За аліментарної В-клітинної лімфоми площа лімфобластних клітин займала $38,72 \pm 1,68$ мкм², площа ядра – $25,62 \pm 0,86$ мкм², ЯЦВ – $0,66 \pm 0,17$. За аліментарної Т-клітинної лімфоми площа лімфобластних клітин становила $36,71 \pm 1,45$ мкм², площа ядра – $19,45 \pm 1,02$ мкм², ЯЦВ – $0,53 \pm 0,21$. Оцінюючи морфометричні параметри лімфобластних клітин за медіастинальної В-клітинної лімфоми встановлено, що їх площа становила $51,89 \pm 1,98$ мкм², площа ядра – $30,89 \pm 1,67$ мкм², ЯЦВ складало $0,59 \pm 0,97$. Тоді, як за медіастинальної Т-клітинної лімфоми – площа лімфобластних клітин дорівнювала $29,57 \pm 2,14$ мкм², площа ядра – $18,54 \pm 1,12$ мкм², ЯЦВ – $0,62 \pm 0,71$. Розміри лімфобластних клітин за ренальної В-клітинної лімфоми були такими: на площу клітин припадало $32,95 \pm 1,34$ мкм², на площу ядра – $22,64 \pm 0,98$ мкм², ЯЦВ дорівнювало $0,68 \pm 0,76$. При ренальній Т-клітинній лімфомі площа клітин займала $31,48 \pm 2,03$ мкм², площа ядра – $20,42 \pm 1,12$ мкм², ЯЦВ – $0,64 \pm 0,52$.

Встановлено, що індекс проліферації за аліментарної лімфоми у котів був найнижчим і становив $9,27 \pm 2,2$ %, за медіастинальної – $19,11 \pm 2,14$ %. Найвищий показник проліферативної активності фіксували за ренальної форми лімфоми, який дорівнював $24,68 \pm 1,7$ %.

За використання методу напівтонких зрізів встановлено ядерний поліморфізм лімфобластних клітин, визначено ядерно-ядерцеве та ядерно-цитоплазматичне відношення при аліментарній формі лімфоми у котів.

Ультраструктурно встановлено зміни в ядрах лімфобластів, а саме: чисельні інвагінації каріолеми, вакуолізацію, гіпертрофію нуклеол з вираженими фібрилярними центрами, оточеними волокнистою та зернистою речовиною, що свідчить про високі метаболічні процеси, пов'язані з синтезом нуклеопротейдів.

Практичне значення отриманих результатів.

Вперше в Україні на підставі комплексних клінічних, ультрасонографічних, рентгенологічних, компютерної томографії, цитологічних та патоморфологічних досліджень описані зміни в органах котів за різних типів лімфоми. Виявлено поліморфізм ядер лімфобластних клітин на напівтонких та ультратонких зрізах, проведено морфометричний аналіз параметрів лімфобластних клітин з визначенням їх площі, площі ядра та ЯЦВ, що може слугувати одним із додаткових критеріїв оцінки фенотипу лімфоми та дасть можливість, в подальшому, оптимізувати схему хіміотерапевтичного лікування котів із прогнозуванням перебігу захворювання. Результати патоморфологічних та імуногістохімічних досліджень рекомендується використовувати у якості основних та додаткових диференційно-діагностичних критеріїв імунофенотипування лімфоми у котів.

Отримані результати роботи можуть бути використані практичними лікарями ветеринарної медицини при діагностиці онкологічних захворювань у котів. Описані клінічні ознаки, гематологічні, біохімічні, цитологічні, патоморфологічні та імуногістохімічні зміни у котів при різних формах і типах лімфоми, які відрізняються за перебігом захворювання, відповіддю на лікування та подальшим прогнозом, потребують чіткої диференціальної діагностики.

Результати експериментальних досліджень використовуються лікарями ветеринарної медицини у приватних ветеринарних клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик» для діагностики лімфоми у котів, впроваджені у освітній процес та науково-дослідну роботу здобувачів вищої освіти за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» факультету ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Сумського національного аграрного університету, Полтавського

державного аграрного університету, Поліського національного університету та Білоцерківського національного аграрного університету.

Особистий внесок здобувача. Авторка особисто провела аналіз статистичних даних щодо поширення онкологічних захворювань у котів у клініках м. Львова, встановила частоту виникнення різних типів лімфом, проводила клінічні огляди тварин, аналіз гематологічних, біохімічних показників крові та цитологічних взірців. Брала участь у проведенні патологоанатомічних розтинів котів, відборі та фіксації матеріалу для гістологічного та гістохімічного досліджень. Освоїла методи морфометричного аналізу з подальшою статистичною обробкою результатів. Імунофенотипування різних типів лімфоми проводили на кафедрі патологічної анатомії факультету ветеринарної медицини Вермінсько-Мазурського університету в Ольштині. Разом із завідувачем лабораторії електронної мікроскопії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького Зайцевим О. О. відбирала матеріал для електронно-мікроскопічного дослідження з подальшим виготовленням та аналізом електронограм. Разом із науковим керівником провела науковий аналіз та інтерпритацію отриманих результатів, сформувала висновки.

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: конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині», присвяченій 140-річчю відкриття навчального закладу «Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові», Львів, 2021 р.; IV всеукраїнській науково-практичній конференції «Теорія та практика сучасної морфології», Дніпро, 2021 р.; Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти», Житомир, 2022 р.

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

Структура та обсяг дисертації. Основний зміст роботи викладено на 183 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, пропозицій виробництву, списку літератури і додатків. Робота ілюстрована 88 рисунками та 11 таблицями. Список літератури містить 197 найменувань, з яких 192 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Роль ретровірусів у розвитку лімфоми у котів

Лімфома належить до найпоширенішої групи злоякісних гематологічних захворювань у котів, що становить понад 50 % усіх пухлин [51 141]. Результати моніторингових досліджень і даних світової ветеринарної практики свідчать про поширеність лімфоми серед котів різного віку, найчастіше від 4 місяців до 19 років. Проте, деякі автори описують бімодальний пік захворювання, який припадає на вік менше 4 років, інший на 8 років. Саме у молодих тварин до 4 років виявляють лімфому середостіння.

Щодо причин появи лімфоми у котів, то до сьогодні ведуться дискусії у наукових товариствах, проте найчастіше розглядають вірусну теорію. Вважають, що провокують появу лімфоми два РНК геномних віруси з родини *Retroviridae* [10].

У 1980-х роках приблизно 70 % котів з лімфомою були серологічно позитивними до вірусу лейкозу котів (*Feline leukemia virus* – FeLV) з роду *Gammaretrovirus* [137]. Як стверджують автори [70], інфекція FeLV має різні стадії, які класифікують як прогресуючу та регресивну. При прогресуючій стадії відбувається висока реплікація вірусу, стан, який називають «персистуючою вірусемією», що діагностується за допомогою ELISA та ПЛР тесту з виявленням провірусної ДНК. При регресивній або латентній стадії молекулярною основою є інтеграція копії вірусного геному (провірусу) у хромосомну ДНК хазяїна без активної продукції вірусу. Таким чином, коти з регресивною інфекцією мають негативні результати ІФА тестів, які виявляють антиген FeLV; проте провірусну ДНК можна виявити за допомогою ПЛР діагностики. Під час поділу клітин провірусна ДНК реплікується, а генетична інформація передається дочірнім клітинам, проте провірусна ДНК не транскрибується у білки, і не утворюються інфекційні вірусні частинки. Тому, ПЛР є більш чутливим методом для виявлення ДНК провірусу FeLV на різних стадіях інфекції [70, 77, 96, 155]. Зв'язок між наявністю провірусної або латентної інфекції FeLV і розвитком лімфоми є

складнішим і менш чітким. Загальновизнано, що індукція лімфоми FeLV пов'язана з експресією антигену вірусу в пухлинах, принаймні на їх ранніх стадіях [13, 129, 174]. Інфекція FeLV з інтеграцією провірусу FeLV у геном клітини-господаря, індуковані пухлини, частково спричинені соматично набутим інсерційним мутагенезом [13, 52, 53]. Якщо ретровірус був інтегрований поблизу певного клітинного гена, протоонкогену, транскрипція гена може посилюватися за допомогою промоторної функції ретровірусного довгого кінцевого повтору. З іншого боку, якщо він був інтегрований всередину гена, в ген-супресор пухлини, транскрипт може бути змінений або порушений і тоді клітина отримує перевагу росту [138, 140]. Інший механізм розвитку лімфоми полягає в тому, що ділянка U3-ретровірусного довгого кінцевого повтору FeLV активує NFκB-залежну експресію гена. NFκB тісно пов'язана з факторами росту, які активують проліферацію клітин [98]. Окремі дослідження пов'язують провірусну ДНК FeLV з лімфомою, поєднуючи її з імунотипом пухлини [52, 53, 77] або ж переважанням деяких підтипів лімфоми з антигеном FeLV [174].

Проведене у Бразилії епізоотологічне дослідження випадків лімфом у котів з використанням серологічних тестів для виявлення антигену FeLV виявили 31 % серопозитивних котів у штаті Ріо-Гранді-ду-Сул [31], 22,26 % у штаті Санта-Катаріна [15] та 11,52 % у штаті Ріо-де-Жанейро [7]. Проте, проведені паралельні дослідження з використанням ПЛР тесту, як діагностичного методу для виявлення провірусної ДНК, показали вищий відсоток FeLV позитивних котів з лімфомою, особливо у штаті Мінас-Жерайс, з варіацією від 47,5% до 49,6 % [31]. Автори зазначили, що фактори, які сприяли високому інфікуванню вірусом FeLV у Бразилії на пряму залежали від дефіциту вакцин, а також моніторингу онкологічних захворювань [7, 91, 99].

Таким чином, FeLV-індуковані новоутворення спричинені, частково, соматично набутим інсерційним мутагенезом, у якому інтегрований провірус активує протоонкоген або порушує роботу гена-супресора пухлин. Саме тому, коти із прогресивною інфекцією FeLV мають у 60 разів вищий ризик розвитку лімфоми.

Крім того, зазначають, що саме у FeLV позитивних котів переважає Т-клітинний фенотип лімфоми.

У дослідженнях [52, 53] зазначалось, що найпоширенішою формою лімфоми із прогресуючою FeLV інфекцією була медіастинальна лімфома, на другому місці – мультицентрична, інколи траплялись випадки спінальної, ренальної та офтальмологічної форми лімфоми з ураженням котів молодого та середнього віку (до 7 років) [119]. На сьогодні діагностують лімфому у FeLV позитивних котів переважно у 10-13 років. Ймовірно, це результат зменшення поширеності прогресуючої інфекції FeLV як фактора, що сприяє розвитку лімфоми, оскільки коти з FeLV-асоційованою лімфомою зазвичай молодші за котів з лімфомою без інфекції FeLV [21, 31, 163]. Крім того, кількість антигеннегативних FeLV котів з лімфомою упродовж останніх років значно збільшується [21, 125].

Ризик розвитку лімфоми у котів також підвищується при інфікуванні їх вірусом імунодефіциту (*Feline immunodeficiency virus* – FIV) з роду *Lentivirus*. Зазвичай, у таких тварин діагностували екстранодальну В-клітинну лімфому з високим ступенем злоякісності. На відміну від FeLV, який відіграє безпосередню роль у пухлиногенезі, прямий онкогенез FIV трапляється рідко [15]. Його роль вторинна по відношенню до імуносупресивної дії вірусу. Експериментально у котів, інфікованих FIV, розвивалась лімфома в нирках, шлунково-кишковому тракті та печінці [52, 53, 117, 131].

1.2. Історія класифікацій злоякісних лімфом у тварин і людини

Перша спроба класифікувати лімфому у людини була зроблена Голлом та Меллорі у 1942 році. Згодом, Блумом (1945 р.) застосували цю класифікацію для класифікації неоплазій у собак. У 1966 році Генрі Раппапорт запропонував свою класифікацію, засновану не тільки на морфологічній оцінці клітин, але з врахуванням характеру росту неопластичної тканини. Ця класифікація представляла ідею про те, що архітектоніка неопластичної тканини повинна бути індикатором клінічного прогнозу пухлини. Для кожного цитологічного типу виділили вузлову або фолікулярну та дифузну форму. Базуючись на сучасних

уявленнях про гемопоетичні клітинні лінії ця класифікація включала також і трактування Галла і Меллорі про «гістіоцитарний тип». Класифікація, запропонована Раппапортом донедавна широко використовувалася у ветеринарній онкопатології. Перша класифікація пухлин лімфоїдних тканин тварин Всесвітньої організації охорони здоров'я, в більшій мірі, ґрунтувалася саме на її принципах. Оскільки лімфоми тварин класифікувалися як дифузні новоутворення з гістіоцитарною морфологією клітин, класифікація Раппапорта не мала прогностичної цінності у ветеринарній медицині при верифікації лімфоми. Крім того, у тварин не було встановлено зв'язку між вузлуватістю та клінічною стадією прогресування пухлин [67, 185].

Наприкінці шістдесятих років детальніші дослідження імунної системи та фізіології лімфоїдних клітин призвели до обговорення нових концептуальних орієнтирів. По суті, були розроблені дві різні концепції: «американська концепція» Роберта Лакеса і «європейська концепція» Карла Леннерта. Вперше зроблена спроба диференціювати лімфоми, що походять від В- і Т-лімфоцитів. Класифікація Леннерта і співробітників була офіційно визнана європейськими онкопатологами і опублікована в 1974 році та отримала назву «Кільська класифікація», яка базувалась на таких двох концепціях: клітини лімфоми є неопластичними еквівалентами різних цитологічних форм нормальних лімфоїдних клітин; пухлинні клітини – постійно або тимчасово заблоковані («заморожені») на одній з різних стадій еволюції нормальних лімфоїдних клітин. Два типи клітин, а саме: Т- і В-лімфоцити, розвиваються ще з мало диференційованої стовбурової клітини кісткового мозку, називаються Т1- і В1-лімфоцитами, відповідно. В момент, коли ці лімфоцити вперше стикаються з антигенною стимуляцією, вони перетворюються на бластні клітини. Т1-лімфоцити перебудовуються у великі базофільні клітини або Т-імунобласти, які або виконують свою функцію і гинуть, або трансформуються у Т2-лімфоцити. Останні є сенсibiliзованими і реагують інтенсивніше і швидше, коли їх вдруге стимулюють тим самим антигеном. Саме вони і є Т-клітинами пам'яті. Коли В1-лімфоцити вперше стикаються з антигенною стимуляцією, вони також трансформуються в імунобласти (В-імунобласти), які в цей період не

можливо морфологічно відрізнити від Т-імунобластів. В-імунобласти дають початок плазматичним клітинам (які розвиваються через плазмоцити і проплазмоцити) [11, 67, 152]. Подальша відповідь на першу антигенну стимуляцію запускає розвиток зародкових центрів з центрофолікулярними клітинами, а саме центробластами і центроцитами. У зародкових центрах центробласти дають початок центроцитам, а ті, в свою чергу, В2-лімфоцитам, які є клітинами пам'яті В-клітинної системи. Таким чином, зародкові центри спочатку є місцем розмноження В-лімфоцитів та вироблення попередників плазматичних клітин. Запропонована Леннертом схема була достатньо спрощеною і мала багато недоліків – наприклад, не зрозуміло було куди включити клітини-кілери? Проте, вона допомогла зрозуміти та виділити основні типи злоякісної лімфоми. Пухлини, які виникали з обох основних типів клітин зародкових центрів (центробластів і центроцитів), зазвичай імітували фолікулярну архітектоніку. З прогностичної точки зору, «Кільська класифікація» розрізняла дві основні групи пухлин: лімфому з низьким ступенем злоякісності та лімфому з високим ступенем злоякісності. Терміни, що використовувались для позначення низькодиференційованих лімфом, закінчувались суфіксом «-цитарна» (або «цитоїдна»), а для високодиференційованих – «бластна». Як правило, клітини низькодиференційованих пухлин були невеликі, і тільки зрідка серед них траплялись великі бластні форми. Тоді, як злоякісні типи побудовані виключно з популяції великих «бластних» клітин. Базовий поділ на низько- та високодиференційовані злоякісні пухлини добре узгоджувався з результатами кінетичних досліджень клітин, проте не враховував гістологічну картину росту неоплазій.

Оригінальна класифікація Кіля, у свій час, була надзвичайно корисною для опису різних типів клітин. Незважаючи на те, що раніше не використовували імуногістохімічні методи досліджень, за класифікацією Кіля більшість лімфоїдних неоплазій називали НХЛ (неходжкінською лімфомою), яку відносили до В- і, в меншій мірі, до Т-клітинних лімфом. Леннерт визнавав, що такий поділ був зрозумілим, оскільки на той час взаємозв'язок між морфологією і функцією для В-

клітинних неоплазій був краще вивчений, ніж для Т-клітинних. Усі дослідники визнавали, що морфологія, цитохімія та імуногістохімія Т-клітин потребує подальшого вивчення для того, щоб знайти аналоги різних підтипів неопластичних Т-клітин. Кільську класифікацію широко використовували (і використовують), в основному в Європі, саме у ветеринарній онкології [105].

З розвитком імунології та онкопатології, Люкс і Коллінз описали те, що вони назвали «концепцією клітин фолікулярного центру» (КЦФ). У нормальному фолікулярному центрі людини вони охарактеризували два типи клітин, які вважали В-клітинами: 1-й тип – клітина з розщепленим ядром і вузькою цитоплазмою; 2-й тип – клітина з нерозщепленим ядром і вираженою піронінофільною цитоплазмою. Відзначали значну варіацію як за розміром клітин, так і за ступенем розщеплення ядра. Вони припустили, що фолікулярний центр був місцем трансформації В-клітин: малий В-лімфоцит під впливом антигену зазнавав ядерного розщеплення. Поступово розщеплена клітина збільшувалась, набувала вузького обідка піронінофільної цитоплазми і ядерне розщеплення зникало, ядро ставало круглим або овальним, збільшувались ядерця. Нерозщеплена клітина продовжувала збільшуватися. Малі Т-клітини, ймовірно, проходили паралельну трансформацію в міжфолікулярній тканині, але без поділу ядра. Класифікація Люкса і Коллінза була, по суті, «функціональною» класифікацією, в якій не було зроблено поділу за ступенем злоякості. Незважаючи на різні концептуальні підходи, обидві класифікації Люкса - Коллінза і Кіля базувались, в першу чергу, на детальному аналізі цитології і демонстрували між собою відповідність [105, 148].

Їх класифікацію успішно застосовували до характеристики лімфоми у тварин, в основному у великої рогатої худоби та собак. Це не дивно, зважаючи на функціональну та морфологічну схожість між нормальними лімфатичними вузлами собак, великої рогатої худоби та людини. Використовуючи обидві класифікації, майже всі категорії людських НХЛ верифікували у тварин. В обох системах крупноклітинний дифузний тип найчастіше виявляли у великої рогатої худоби та собак, а його підтипи відповідали центробластним, центробластно-центроцитарним та імунобластним категоріям за класифікацією Кіля або великим

неклітинним та імунобластним категоріям за класифікацією Люкса-Коллінза. Згідно цих класифікацій, більшість лімфом великої рогатої худоби, а також собак походили від В-клітин, тоді як Т-лімфобластні лімфоми великої рогатої худоби та собак траплялись рідко. Деякі з них вважали Т-клітинними, злоякісними, хоча імунотип не можна було визначити лише за морфологічними критеріями.

На початку сімдесятих років одночасно було запропоновано кілька інших класифікацій НХЛ людини, запропонованих Дорфманом, Британською національною групою з вивчення лімфом. У 1980 році під егідою Національного інституту раку проведено міжнародне міжвідомче дослідження під назвою «Проект патологічної класифікації неходжкінських лімфом», яке отримало назву «Проект патологічної класифікації неходжкінських лімфом». Загалом 1250 випадків НХЛ були класифіковані досвідченими патологами з використанням шести основних класифікацій, включаючи класифікацію Кіля та класифікацію Люкса і Коллінза. Різниці у відтворюваності та клінічній значущості між цими класифікаціями не виявлено. Результатом цього клініко-патологічного спільного дослідження стала сформована «Робоче формулювання (WF) неходжкінських лімфом для клінічного використання», яку запропоували використовувати як компроміс між попередніми класифікаціями з метою полегшення клінічного порівняння терапевтичних досліджень. Даною класифікацією запровадили поділ на низькодиференційовані, середньодиференційовані та високодиференційовані НХЛ [23, 45, 169]. Основним недоліком WF було те, що вона не розділяла лімфоми відповідно до фенотипу на В- чи Т-клітинного походження. Цю концепцію легко адаптували до собачих лімфом, оскільки WF і Кільська класифікація узгоджено прописали дані щодо поширеності основних цитологічних підтипів. Більшість лімфом у собак мали проміжний ступінь злоякісності і були переважно великоклітинними. Недоліком попередніх класифікацій Кіля та Люкса і Коллінза була відсутність кореляції прогностичної значущості гістопатологічного ступеня злоякісності.

Поступово, з появою все більшої кількості моноклональних антитіл, специфічних до різних лімфоїдних клітин і попередників, були введені нові

імунологічні критерії з використанням імуногістохімічного маркування. Це, врешті-решт, призвело до публікації оновленої класифікації за Кілем у 1988 та 1990 роках, яка базувалась на морфологічних критеріях пухлинних клітин (розмір, хроматин, ядра, ширина і забарвлення цитоплазми) і додатково розрізняла високо- та низькодиференційовану лімфому. Разом з тим, ввели імунологічні критерії, що дозволяли фенотипово ідентифікувати нові підтипи, особливо в групі Т-клітинних похідних. До визначення нових підтипів, остання класифікація Кіля поширювалась на екстранодальні НХЛ. Крім того, оновлену класифікацію Кіля почали застосовувати до лімфом у тварин, коли стали доступні специфічні маркери лімфоїдних клітин тварин, в основному для собак і котів. У серії польових досліджень було виявлено несподівано високу частоту Т-клітинних лімфом, які важко було ідентифікувати за морфологічними критеріями. Крім того, деякі лімфоми з В-клітинною морфологією мали Т-клітинний імунофенотип. Такі розбіжності пояснювали існуванням змішаної лімфоми – Т- і В- клітинної лімфоми у тварин. Щодо прогностичної значущості цитологічних типів, багатофакторний аналіз показав, що Т-клітинний фенотип став найважливішим фактором, пов'язаним з несприятливим прогнозом для тварин.

У 1994 році Міжнародна група з вивчення лімфоми (ILSG) опублікувала переглянута класифікацію європейсько-американських лімфом (REAL). Система REAL поєднувала морфологію пухлинних клітин, імунофенотип, генетичні особливості та клінічні прояви. Новоутворення класифікували як окремі об'єкти з урахуванням гістогенного походження та біологічної поведінки, але без поділу на низько- та вискодиференційовані, як це було в системах Кіля та WF. Включення клінічних критеріїв є одним з найбільш нових аспектів підходу ILSG. REAL також підкреслює різницю між гістологічним ступенем і клінічною агресивністю новоутворення. Також система REAL вирізняє В-клітинні та Т-клітинні новоутворення, які можуть мати однакову або подібну гістологічну архітектуру та цитоморфологію. Удосконалення методів лікування пухлин у ветеринарній медицині та наявність більшої кількості імунологічних маркерів у цитології тварин

призвели за останні роки до ідентифікації нових форм лімфоми та лейкозів у тварин, які мають аналогії з людськими пухлинами [71].

У ветеринарній онкології всі вище згадані класифікації лімфоїдних пухлин застосовувалися поступово і по мірі розробок діагностичних тестів для тварин [20]. Загальновизнано, що основні відмінності між лімфомами людини і тварин включали більшу частку високодиференційованих лімфом у тварин і меншу кількість фолікулярних типів. Крім того, пухлини, схожі на хворобу Ходжкіна, рідко або не завжди ідентифікували у тварин. Проте, за винятком деяких категорій новоутворень, клінічна цінність цих класифікацій загалом залишалась недоведеною. Саме тому, до сьогодні існує потреба в серйозних і затратних клініко-патологічних досліджень із залученням як клініцистів, так і патологів у програмах ветеринарної онкології. Автори вважають [23, 151, 185], що система REAL, яка зараз прийнята в усьому світі клініцистами і патологами, стала хорошим інструментом для організації спільних робіт по діагностиці лімфом як у людей, так і тварин.

Велика кількість досліджень вказують, що більшість випадків лімфоми у котів (приблизно від 70% до 75%) мали В-клітинний імунофенотип; частіше діагностували медіастинальну лімфому з ураженням печінки, яка мала Т-клітинний фенотип. У котів було описано В-клітинну лімфому багату на Т-клітини (Ходжкіноподібна лімфома) і NK-подібну Т-клітинну лімфому (не-Т-клітинну і не-В-клітинну). Як і у собак, більшість лімфом у котів гістологічно мали ознаки середнього або високого ступеня злоякісності, відповідно до критеріїв Робочого формулювання (WF). Встановлено, що анатомічні форми та імунофенотип може змінюватися залежно від географічного ареалу та бути пов'язаним із генетичними відмінностями та впливом різних штамів FeLV, а також використанням вакцини проти FeLV.

У більшості досліджень відмічено, що у котів переважала В-клітинна лімфома (приблизно 75%) [35, 44, 177]. Проте, медіастинальну дрібноклітинну низькодиференційовану лімфому з позитивним тестом на FeLV частіше верифікували, як Т-клітинну. До сьогодні існують суперечки щодо імунофенотипу

лімфоми у котів з високодиференційованою лімфомою травного тракту. Описані випадки, описані [51, 164] показали, що у 60 % котів з лімфомою ШКТ виявляли лімфобласти, які походять від В-лімфоцитів. Інші автори [81, 192] зазначали, що зразки ШКТ, відібрані посмертно від котів з лімфомою мали переважно Т-клітинний імунофенотип. Отже, усі ці дослідження свідчать про те, що існують географічні варіації та можливі інші фактори, які впливають на розвиток тих чи інших форм лімфом у котів та їх імунофенотипів, що вимагатиме подальших досліджень.

1.3. Характеристика клініко-анатомічних форм лімфоми у котів

Аліментарна лімфома у котів є найпоширенішою формою захворювання у котів, яка за дослідженнями [54, 133] складала 31 % від усіх зареєстрованих випадків лімфом. Упродовж останніх десяти років дані щодо поширеності різних форм лімфоми у котів змінилися, що пов'язано з проведенням вакцинацій від ретровірусних інфекцій, а тож появою експрес-тестів діагностики FeLV [135, 164]. Проте, навіть після усіх цих заходів аліментарна лімфома залишається найпоширенішою формою лімфоми у порівнянні з іншими. Хворі коти часто є антигеннегативними до вірусу лейкозу (FeLV) [164].

Аліментарна (кишкова) лімфома у котів може проявлятися у кількох варіаціях – виключно як кишкова інфільтрація або, як комбіноване ураження кишечника, мезентеріальних лімфатичних вузлів та печінки. Окремі автори у своїх дослідженнях зазначали, що у котів з аліментарною лімфомою виявляли ураження ШКТ з поширенням неоплазії в печінку та селезінку з переважанням В-клітинного імунофенотипу [32, 139]. Середній вік котів у яких діагностували аліментарну лімфому коливався від 10 до 15 років [72, 132]. Хворіли як стерилізовані самці, так і самки [34]. У дослідженні [164, 182] аліментарну лімфому частіше діагностували у кастрованих котів. Породних особливостей не зазначалось, оскільки більшість котів були домашніми короткошерстними [34, 164].

Дослідження котів з лімфомою, проведені в Австралії продемонстрували значну кількість діагностованих неоплазій у самців сіамської породи, а також інших східних порід [49]. Після імуногістохімічної оцінки біопсійної тканини у кількох випадках було виявлено запальну ентеропатію, а не аліментарну лімфому. Для дослідників це не стало несподіванкою, оскільки часто цитологічно або гістопатологічно важко відрізнити важкий лімфоцитарно-плазмоцитарний ентерит від ранньої стадії розвитку аліментарної лімфосаркоми [70, 105, 132, 182].

Серед випадків, коли імуногістохімічно підтверджували діагноз на аліментарну лімфому, зазвичай, відзначали переважання В-клітинного імунофенотипу (47 % випадків) з позитивною реакцією маркера CD79a та відсутньою експресією маркера CD3. У 25 % випадків котів з аліментарною лімфомою лімфобластні клітини мали позитивне мічення із CD3 маркером. Проте, результати інших досліджень показали, що 12,5 % досліджених котів із аліментарною лімфомою мали позитивну експресію як до CD3, так і до CD79a маркера. Ці спостереження узгоджуються з іншими дослідженнями, які демонстрував [51, 173], проте зазначав про переважання В-клітинного фенотипу.

Ще до появи імуногістохімічного маркування існувало припущення, що котяча аліментарна лімфома, ймовірно, побудована з В-клітин тому, що новоутворення локалізувались найчастіше в слизовій оболонці кишечника, лімфоїдна тканина якого багата В-лімфоцитами [126, 127, 130, 149]. Цю теорію з часом частково підтвердили, оскільки аліментарну Т-клітинну лімфому в котів виявляли значно рідше. Незважаючи на різні теорії, результати досліджень котів з аліментарною лімфомою в Європі та Америці показують значні варіації у виявлених фенотипах, навіть появу змішаного фенотипу. У свою чергу, Канадська група дослідників виявила майже рівний розподіл лімфом у котів між В-клітинним і Т-клітинним імунофенотипом. Ними встановлено, що приблизно дві третини досліджуваних зразків тканин були FeLV-позитивними за результатами ПЛР дослідження. Результати ретроспективних досліджень, проведених у різних країнах світу свідчать про те, що найчастішим місцем ураження при аліментарній лімфомі був тонкий відділ кишечника (50–80 % випадків), приблизно у 25 %

уражався шлунок, рідше ободова та пряма кишка. Неопластичні ураження могли бути локальними або дифузними, розміщеними по всьому кишечнику. Локальний кільцеподібний тип пухлинного ураження слизової оболонки кишечника призводив до її потовщення, іноді повної або часткової непрохідності. Гістологічно відзначали неопластичні ураження слизової оболонки, підслизового та м'язового шарів кишечника [33, 190]. Другою за поширеністю лімфомою у котів була пухлина, яка локалізувалась у товстому відділі кишечника (41 %).

За медіастинальної лімфоми у котів новоутворення локалізувались виключно в грудній порожнині з можливим ураженням тимусу, середостінних та грудинних лімфатичних вузлів. Рентгенологічними дослідженнями, зазвичай, виявляли плевральний випіт, який іноді ускладнював постановку діагнозу. Пухлини поширювались як у грудну порожнину, так і в ділянку ший. При лімфомі середостіння у собак часто реєстрували гіперкальціємію, чого не відзначали у котів. Більшість тварин у яких діагностували лімфому середостіння були молодими, мали Т-клітинний імунофенотип і позитивний тест на FeLV, хоч і ці дані різняться, залежно від географічних зон, у яких проводили дослідження котів [78].

Вузлова форма лімфоми при якій уражаються виключно периферичні лімфатичні вузли є дуже рідкісною формою у котів, становить приблизно від 4 % до 10 % випадків. Тоді, коли усі інші анатомічні форми лімфоми мають, в тій чи іншій мірі, виражені ураження лімфатичних вузлів. Як свідчать результати досліджень, третина котів із вузловою лімфомою мала Т-клітинний імунофенотип і була антиген+ до FeLV [55, 78]. Слід відзначити, що при швидкому прогресуванні лімфоми може відбуватись інфільтрація кісткового мозку та селезінки злоякісними клітинами. В літературі описані кілька випадків рідкісної форми вузлової лімфоми у котів, яку назвали лімфомою Ходжкіна. Ця форма включала поодинокі ураження нижньощелепового або шийного лімфатичних вузлів і морфологічно була подібною до лімфоми Ходжкіна у людей. Імуногістохімічно її верифікували як багату Т-клітинами В-клітинну лімфому з негативним тестом до FIV та FeLV [79].

Окремі автори відзначали непухлинну периферичну лімфаденопатію у котів – стан, який клінічно нагадував лімфому та мав окремі гістологічні ознаки, схожі

до лімфоми. Уражені лімфатичні вузли були різко збільшені. Гістопатологічно відзначали спотворення архітекτονіки лімфатичних вузлів, втрату субкапсулярних синусів, кортикальних лімфатичних вузликів тощо. Клітинна популяція складалась із гістіоцитів, лімфоцитів, плазматичних клітин, імунобластів на фоні мало помітних лімфоїдних вузликів. Такі гістологічні зміни в лімфатичних вузлах нагадували лімфаденопатію, пов'язану із синдромом набутого імунодефіциту (СНІД) у людей.

Екстранодальна лімфома у котів найчастіше локалізується та уражає нирки, носову порожнину, очі, ретробульбарний простір, ЦНС і шкіру [84, 85, 147]. Лімфома нирки буває як первинна або проявляється в асоціації з аліментарною лімфомою. Згідно досліджень середній вік котів з нирковою лімфомою переважно становив 7,5 років. В одних випадках коти були антиген+ до FeLV, в інших – негативні з переважанням В-клітинного імунофенотипу. З усіх екстранодальних лімфом у котів у 5 % реєстрували ренальну форму [16, 111, 123]. Ураження ЦНС траплялось достатньо часто, саме після лікування ниркової лімфоми. Лімфома ЦНС у котів також може бути первинною або вторинною, як наслідок мультицентричного ураження (особливо нирок або кісткового мозку) [102, 184]. Рентгенологічно ураження кісток у котів рідко вдавалось виявляти. Майже у 50 % котів із спінальною лімфомою в патологічний процес було залучено кілька ділянок спинного та головного мозку, і понад 80 % цих котів мали ураження інших органів (наприклад, нирок) і кісткового мозку, були негативними до FIV. Тільки третина випадків лімфоми головного мозку була первинною та обмежувалась ураженням ЦНС.

Назальна (параназальна) лімфома, зазвичай, є локалізованим новоутворенням, хоч траплялись випадки системного розповсюдження. Даний тип неоплазії виявляли, в основному, у старших котів з FeLV негативним тестом (середній вік від 9 до 12 років). Більшість клінічних випадків мали В-клітинне походження, були середнього або високого ступеня злоякісності [56, 95, 168].

Шкірна лімфома, як правило, є первинною, але може розвиватись вторинно при мультицентричній лімфомі. Даний тип неоплазії відзначали у старих котів від

10 до 12 років. Гістологічно та імуногістохімічно виділяли дві форми шкірної лімфоми: епітеліотропну форму, яку іноді називають грибоподібним мікозом, що побудована з Т-лімфоцитів, та неепітеліотропну форму, що формується із В-клітин [22]. У дослідженні неепітеліотропної шкірної лімфоми у котів було описано, що п'ять із шести випадків верифіковані як неопластичні Т-лімфоцити, що мали велику цитоплазму та деформовані ядра [162]. Такі клітини утворювали інтраепідермальні гнізда з 5-10 клітин, що розміщувались відокремлено від навколишніх кератиноцитів з утворенням мікроабсцесів Потріє. Тоді, як у В-клітинних шкірних лімфомах переважали лімфоцити, що локалізувались в епідермісі зі збереженням папілярної дерми та епідермісу. Інші автори зазначали, що у 23 випадках шкірного лімфоцитозу, гістологічно схожого на високодиференційовану лімфому, переважали Т-клітини, хоча дві третини тварин, все ж таки, мали В-клітинний фенотип [86]. Шкірна лімфома характеризується повільним прогресуванням з можливою інфільтрацією у внутрішні органи. У людей шкірна Т-клітинна лімфома з циркулюючими злоякісними клітинами називається синдромом Сезарі, який також виявляли і у собак [162, 171].

1.4. Клінічні ознаки, діагностика та методи лікування різних типів лімфоми у котів

Клінічні ознаки лімфоми у котів різняться залежно від її локалізації та ступеня ураження. Аліментарна лімфома характеризується утворенням пухлин у черевній порожнині, які, в більшій мірі, локалізуються у органах шлунково-кишкового тракту [103, 179]. Захворювання часто проявляється збільшенням мезентеріальних лімфатичних вузлів. Від 50 % до 85 % описаних випадків характеризуються локальними ураженнями окремих ділянок кишечника. Хворі тварини втрачають вагу, відзначають діарею та періодичну блювоту. Приблизно в половині випадків єдиним симптомом у котів була анорексія та втрата ваги. Інші прояви характеризувались різким збільшенням в об'ємі живота, гепатомегалією та спленомегалією. Поліурія і полідипсія реєструвалась приблизно в 10 % випадків.

Невеликий відсоток котів мали ознаки перитоніту, внаслідок перфорації кишечника [94, 128]. Клінічні ознаки характерні для медіастинальної форми лімфоми характеризувались задишкою і тахіпноє, часто з наявністю плеврального випоту. Коти з вузловою формою лімфоми не проявляли видимих клінічних ознак захворювання. Єдиною ознакою була лімфаденопатія нижньощелепових або шийних лімфатичних вузлів. Екстранодальна лімфома у котів характеризувалась ураженнями нирок, шкіри, очей, носа та ЦНС. При нирковій лімфомі найчастіше відзначали ураження двох нирок, які при пальпації були збільшені, іноді з відчутною горбистістю. Прогноз після лікування залежить від багатьох факторів. Загалом після комбінованої хіміотерапії тривалість ремісії при ренальній формі лімфоми становить від 3 до 6 місяців [180]. За даними авторів [111] у 17 котів з первинною лімфомою нирок була повна відповідь на терапію і 9 тварин мали часткову відповідь, а тривалість життя була 4 і 1 місяць відповідно. Проте, 25-30% кішок, які досягли повної відповіді на хіміотерапію дають більш стійку загальну ремісію і час виживання, близько 1 року або й більше.

У котів з лімфомою ЦНС виявляли ознаки, які асоціюються з ураженням груднопоперекового відділу: пухлини локалізувались між другим хребцем грудного відділу і четвертим поперековим хребцем. Клінічні ознаки характеризувались поступовою або раптовою слабкістю, паралічем сечового міхура, хвоста, прогресуючою атаксією. Неврологічна дисфункція часто була прихованою або ж навпаки, швидко прогресувала. У котів з ураженням шийного відділу спинного мозку, як правило, виявляли надгострий тетрапарез і зниження чутливості в грудних кінцівках. Загальні клінічні симптоми для лімфоми головного мозку включали анорексію, атаксію, летаргію, змінену свідомість і агресію. Коти з назальною формою лімфоми мали локалізовані ураження – односторонні виділення з носа (рідше двосторонні), деформацію мордочки, задишку та носову кровотечу. Характерною була анорексія, епіфора, екзофтальмія, чхання, іноді з'являлась регіонарна лімфаденопатія. Шкірна лімфома у котів характеризувалась появою алопецій, еритемою та папулами [86]. В окремих випадках виявляли мінімальну периферичну лімфаденопатію.

В літературі описані випадки з неспецифічними ознаками лімфоми. Зазначалось, що усі коти з лімфомою, незалежно від локалізації, можуть мати вторинну інфільтрацію кісткового мозку, що призводить до анемії та лейкоемічного профілю крові. Анемія є поширеним станом у котів з лімфомою, принаймні 50 % мають помірну або важку нерегенеративну анемію. Ознаки, пов'язані з паранеопластичною гіперкальціємією також можуть виникати, але набагато рідше, ніж у собак. В одному ретроспективному дослідженні гіперкальціємії у котів приблизно у 10 % діагностовано лімфому різних анатомічних форм.

Щодо методів діагностики лімфоми у котів, то слід відзначити ефективність застосування рентгенографії грудної клітки, при якому виявляють новоутворення середостіння, хоча іноді значний плевральний випіт ускладнював візуалізацію. Компютерна томографія також є хорошим діагностичним методом, оскільки дозволяє побачити пухлину навіть зі значним плевральним випотіванням. Для встановлення діагнозу на лімфому іноді достатньо провести цитологічні дослідження новоутворення, прицільно відібраного тонкоголковою аспірацією (FNA) під контролем УЗД або цитологічну оцінку плевральної рідини [63]. Виявлення мономорфної популяції малих або великих лімфобластних клітин дає змогу підтвердити діагноз. Основною диференціальною ознакою лімфоми середостіння є тимома. За цитологічними ознаками вона відрізняється від лімфоми, але діагностика може бути складною через переважання в тимомі малих лімфоцитів. Крім того, в 50 % аспіратів тимом можна побачити тучні клітини. Імунофенотипічна оцінка у сумнівних випадках є надважливою.

Як зазначалось вище, диференціальна діагностика лімфоми у котів є важливим завданням, як для ветеринарних лікарів, так і для патологоанатомів. Аліментарну лімфому слід диференціювати від запального захворювання кишечника, яке часто діагностують у старих котів будь-якої породи та статі [27, 79, 104, 172, 175]. Найпоширеніші клінічні ознаки включають блювання, діарею, втрату ваги та зміни апетиту. Харчова гіперчутливість, паразити, ниркові чи печінкові захворювання також можуть спричиняти схожі ознаки [176].

У собак та котів лімфома є системним захворюванням, тому хіміотерапія є лікуванням вибору для більшості форм. На відміну від собачої, котячу лімфому, як правило, складніше і важче лікувати. Хірургічне втручання протипоказано котам з лімфомою середостіння через ризик, пов'язаний з торакальною хірургією. Крім того, варіанти медичного лікування (принаймі спочатку) є достатньо ефективними, а лімфома швидко реагує на хіміотерапію. Для лікування котів з лімфомою будь-якої локалізації, включаючи середостіння, пропонують протокол COP (циклофосфамід, вінкристин (онковін) і преднізолон/преднізон) або CNOP (COP плюс доксорубіцин (гідроксидаунорубіцин)) [28, 89, 114, 160]. CNOP протоколи вважаються стандартом лікування людей з найпоширенішими типами лімфом. Подібним чином більшість онкологів зазвичай лікують лімфому собак (зокрема В-клітинного типу) за протоколом CNOP, що включає доксорубіцин. Найкращим варіантом для лікування лімфоми котів будь-якої локалізації був протокол COP і CNOP. Клініцисти зазначають, що доксорубіцин, як монопрепарат є менш ефективним для котів, у порівнянні з собаками, а нефротоксичність є можливим побічним ефектом [98]. Враховуючи схильність до хронічної хвороби нирок у старших котів це необхідно враховувати при складанні терапевтичного плану лікування.

Загалом, коти досить добре переносять хіміотерапію. Променева терапія також ефективно використовується для лікування локалізованої медіастинальної та назальної форми лімфоми. У котів з лімфомою не такий високий рівень відповіді на хіміотерапію та тривалість ремісії як у собак з лімфомою, коливається від 50 % до 70 % після комбінованої хіміотерапії, а загальна середня тривалість ремісії та виживання становить приблизно 4 і 6 місяців [30]. Однак значна частина котів (від 25% до 30 %), які досягли повної відповіді за допомогою комбінованої хіміотерапії, мали тривалішу загальну ремісію і час виживання (1 рік і більше). Значні варіації анатомічних форм лімфоми у котів та велика гетерогенність ускладнюють конкретні прогнози. Фактори, які пов'язані з позитивним прогнозом у котів з лімфомою є: повна відповідь на терапію, яку, на жаль, неможливо визначити до початку лікування, негативний статус FeLV, рання клінічна стадія, анатомічне

розташування та додавання доксорубіцину до протоколу лікування. Для котів з аліментарною лімфомою середня тривалість життя після хіміотерапії, яка включала доксорубіцин, коливалась в межах від 7 до 10 місяців. Попри те, у старших FeLV-негативних сіамських котів з лімфомою середостіння рівень ремісії наближався до 90 %. Коти з лімфомою носа мають найкращий прогноз, оскільки місцева променева терапія (або хіміотерапія, якщо променева терапія недоступна) забезпечувала чудовий контроль із середнім часом виживання тварини до 1,5 року. Коти з назальною лімфомою та одночасною інфекцією FeLV мали коротший термін життя. Значна частина котів (30–35 %), які досягали повної відповіді на комбіновану хіміотерапію, загалом показали довший час ремісії та виживання (більше 1 року). Таким чином, можна відзначити, що найгірший прогноз у котів був із лімфомою середостіння у FeLV позитивних тварин, що становив 2-3 місяці [109, 113, .

Висновок з огляду літератури

Аналізуючи публікації зарубіжних вчених відмічено, що лімфома є однією з найпоширеніших новоутворень у котів, яку класифікують відповідно до уражених органів або тканин (аліментарна, ниркова, екстранодальна, шкірна, очна тощо). Розвиток лімфоми у котів пов'язують із прогресуючою інфекцією FeLV, яку виявляли у 10–20 % тварин. На сьогодні вважається, що 15 % новоутворень у людей і тварин в усьому світі спричинені саме інфекційними агентами, найчастіше вірусами. Тому, упродовж останніх років дослідження вірусних механізмів, які лежать в основі пухлинної трансформації та прогресуванні раку, є надзвичайно актуальними як у гуманній, так і ветеринарній онкології.

Удосконалення діагностичних тестів новоутворень у світі розширило можливості лікарів ветеринарної медицини ідентифікувати різні форми лімфоми, кожна з яких має відмінні підходи щодо лікування. Незважаючи на це, ветеринарна онкологія в Україні, все ще потребує удосконалення та системності при вивченні різних неоплазій. Через частково обмежений доступ до діагностичних систем в Україні, відсутність специфічних імуногістохімічних маркерів не було можливості

детально вивчати і фенотипово верифікувати лімфому в котів та собак. Саме тому, тема морфологічної верифікації лімфосаркоми у котів є актуальною і мало вивченою.

Аналіз літератури підтверджує теорію, що в ідеалі класифікація пухлин повинна відображати різні клінічні та морфологічні типи, прогножуючи поведінку різних лімфом, їх відповідь на стандартні протоколи хіміотерапії. Крім того, відповідна класифікація повинна відповідати, наскільки це можливо, відомим або передбачуваним механізмам патогенезу пухлин і походженню неопластичних клітин. Протягом останніх десятиліть основні зміни у класифікації лімфоми відбувалися паралельно з розвитком знань про клітинні лінії нормальної крові та цитологічні методи їх ідентифікації. Таким чином, еволюцію класифікацій лімфоми необхідно розглядати як методологічно, так і концептуально. Через численні подібності, які існують між лімфомами тварин і неходжкінськими лімфомами людини (НХЛ), більшість запропонованих класифікацій лімфоми тварин були адаптовані з людських класифікацій.

Крім того, опрацювавши зарубіжну літературу, дійшли висновку, що найбільш практичним підходом до типізації лімфоми є визначення захворювання, яке можна діагностувати за допомогою комплексних методів досліджень – рентгенологічних, ультрасонографічних, цитологічних, морфологічних, імуногістохімічних та генетичних. При вивченні неопластичних процесів у тварин морфологічна оцінка взірців гістологічної тканини є фундаментальною частиною як діагностики, так і подальшого прогнозу.

РОЗДІЛ 2

ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Вибір напрямів досліджень

Згідно статистичних даних, цитологічних досліджень та результатів аутопсії встановлено, що значна частина собак і котів старше 10 років гине від раку. В гуманній медицині для скринінгу раку використовують велику кількість досліджень, включаючи генетичні, тоді як у ветеринарній практиці застосування таких методів є дещо обмеженими та, в більшій мірі, залежать від власників тварин, які рідко виявляють новоутворення у своїх улюбленців на ранніх термінах.

Серед сучасних методів візуалізації у ветеринарній практиці дрібних домашніх тварин найчастіше використовують рентгенографію та ультразвукове дослідження, які займають одне з перших місць завдяки простоті використання, інформативності та відносно низькій вартості. Проте, такі методи мають властиві обмеження для виявлення новоутворень, особливо на їх ранніх стадіях. Наприклад, стандартна рентгенографія грудної клітки не виявить ураження в легенях, поки їх розміри не досягнуть принаймні 7-9 мм. Подібні проблеми виникають і з УЗД діагностикою. За допомогою ультрасонографічного та рентгенографічного дослідження котів при підозрі на пухлину визначають локальні ділянки ураження органів, зміну форми, розміру, щільності та еластичності структур, особливо лімфатичних вузлів. Під контролем УЗД прицільно проводиться біопсія новоутворень. Цитологічне дослідження, як перший діагностичний тест при виявленні лімфаденомегалії у котів, за допомогою тонкогілкового аспірату, слугує достатньо чутливим методом діагностики лімфоми.

Ветеринарні лікарі все частіше використовують передові методи візуалізації, включаючи КТ і МРТ, які є чутливішими при виявленні новоутворень розміром від 1 до 2 мм та забезпечують механізм точнішої оцінки уражень за допомогою контрастних речовин. Перешкодою для широкого використання цих методів діагностики є їх вартість, а також необхідність проведення загальної анестезії

тварини. Саме тому, ці два методи зазвичай використовують вже на пізніх стадіях захворювання, а не для скринінгу.

Незважаючи на широкий вибір методів лабораторної і клінічної діагностики патогістологічна верифікація новоутворень з імуногістохімічним фенотипуванням залишається найінформативнішою.

Визначення імунофенотипу лімфобластних клітин з використанням специфічних молекул, що експресуються В-клітинами (маркером CD79a) і Т-клітинами (маркером CD3), як правило, в клініках не є обов'язковим, проте є інформативними та корисними при виборі хіміотерапії та наданні прогностичної інформації для власників домашніх тварин. Слід зазначити, що навіть імунофенотипічні дослідження разом із рутинною гістопатологією залишаються достатньо складними в діагностиці лімфоїдних проліферацій у тварин.

2.2. Об'єкти дослідження, місце проведення досліджень

Дослідження проводилося в період 2019–2023 років на базі клінік «Доктор Вет» та «Ветпрактик» м. Львова. Упродовж виконання дисертаційної роботи досліджено 873 коти з різними патологіями в клініці «Доктор Вет» та 698 котів у клініці «Ветпрактик». Діагностика новоутворень проводилась на основі результатів фізикального обстеження тварин, гематологічних, біохімічних, цитологічних та морфологічних досліджень. У якості додаткових методів використовували УЗД, рентген діагностику та КТ. За результатами комплексних досліджень діагностовано, відповідно, 194 та 163 випадки лімфоми у котів. Крім того, в зазначений період у котів, пацієнтів клінік реєстрували пухлини молочних залоз, меланому, саркому, мастоцитому та первинні новоутворення грудної порожнини. При поступленні тварин на амбулаторний прийом записували історію хвороби, реєстрували вік, стать, породу, з'ясовували умови утримання та годівлі, останні проведені вакцинації, інформацію про появу перших симптомів, відслідковували динаміку росту новоутворення.

Коти з підозрою на лімфому особисто обстежувались та були під контролем автора дисертації, яка проводила клінічні огляди та визначала критерії подальших досліджень для підтвердження діагнозу на лімфому. У деяких випадках тварини

гинули або були піддані евтаназії (за письмовою згодою власника тварини) до встановлення остаточного діагнозу. Лікування хворих котів не було об'єктом дослідження.

Усі маніпуляції 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 №9 від 22.10.2020 р.), Закону України №3447-4 від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

На основі проведених досліджень з'ясовано основні клінічні, макроскопічні та патогістологічні зміни в уражених органах у котів за різних форм лімфоми.

Гістологічні та гістохімічні 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. Імунофенотипування різних типів лімфоми проводили на кафедрі патологічної анатомії факультету ветеринарної медицини Вермінсько-Мазурського університету в Ольштині. В якості контролю використовували органи від клінічно здорового кота, який загинув від травматичного ушкодження, а гістологічно в тканинах не реєстрували відхилення від норми.

2.3. Методи проведення досліджень: фізикальні (опитування власників для уточнення анамнезу перед оглядом котів), відбір крові для морфологічних та біохімічних досліджень, УЗД діагностика, рентгенологічне дослідження, компютерна томографія, цитологічна, гістологічна, гістохімічна, імуногістохімічна діагностика, електронно-мікроскопічні дослідження, морфометричні та

статистичні. Не всі вище описані діагностичні методи досліджень застосовувались до усіх тварин із підозрою на лімфому, а обумовлювались індивідуально з власниками пацієнтів та ветеринарними лікарями клінік, які в подальшому займались лікуванням котів.

Ультразвукову діагностику проводили безпосередньо в клініках на приладі «ESAOTE MyLab 40» за використання мультичастотного лінійного та конвексного датчиків при частоті 5,0-7,5 мГц. Рентгенологічні дослідження здійснювали на цифровій установці типу MAXIVET 400F, X Ray tube – CANON S/N 9L1097. Комп'ютерну томографію (КТ) з контрастом для домашніх тварин проводили на 16-зрізовому томографі Philips MX 800 IDT.

2.3.1. Морфологічні дослідження крові

Усі дослідження проводили в клініках з використанням ветеринарного гематологічного аналізатора Heska Element HT5 та автоматичного біохімічного експрес-аналізатора FUJI DRI-CHEM NX500, що працює за принципом «сухої хімії» з використанням слайдів. Кров відбирали з латеральної підшкірної вени (*vena cephalica*) передньої правої кінцівки за допомогою внутрішньовенного катетера у стерильні вакуумні пробірки з наповнювачем K2 EDTA. Кров від здорових котів, яку відбирали в клініках перед вакцинаціями, використовували у якості референтних зразків.

2.3.2. Патогістологічні методи дослідження

Розтин котів проводили в прозекторію кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії ЛНУВМ імені С. З. Гжицького за методом Шора з повною евісцерацією органів і тканин (n=37). Фрагменти уражених органів вирізали з наступною фіксацією їх у 10 % нейтральному водному розчині формаліну та рідині Карнуа. Після фіксації вирізали невеликі фрагменти, промивали у водопровідній воді упродовж доби. Фрагменти тканин зневоднювали у висхідному ряді спиртів із наступною заливкою у парафін за загальноприйнятою методикою [116]. З парафінових блоків виготовляли гістозрізи товщиною 7 мкм на санному мікротомі MC-2. Для світлооптичної мікроскопії депарафіновані зрізи фарбували гематоксиліном Майєра та еозином. Світлову мікроскопію і

мікрофотографування отриманих гістопрепаратів здійснювали за допомогою мікроскопа Leica DM-2500 та фотокамери Leica DFC 450C.

Для цитопатологічного дослідження робили не менше 3 цитологічних мазків, висушували, фіксували в метанолі, фарбували за методом Романовського-Гімза та досліджували під світловим мікроскопом Leica DM-2500. Діагноз лімфома ставили на основі загальноприйнятих цитологічних критеріїв.

2.3.3. Метод електронно-мікроскопічного дослідження

Фрагменти лімфатичних вузлів 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 НУ964 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°C для полімеризації [6, 58, 92, 116]. 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 ультрамікротомі LKB-2188 (Швеція). Зрізи монтували на предметному склі, підігріваючи 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 [92]. 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

Вивчення проліферативної активності лімфоми проводили за допомогою моноклональних антитіл до негістонного білка Ki-67 (клон MIB-5), який визначається в ядрах клітин під час пізньої G-, S-, G₂ -фази і під час мітозу. Позитивну оцінку ядерної еспресії маркером Ki-67 оцінювали за допомогою світлового мікроскопа Leica DM-2500, враховуючи відсоток позитивно забарвлених пухлинних клітин від загальної кількості в ділянках їх найбільшої локалізації. У кожному взірці досліджено 5 мікроскопічних полів при збільшенні x200. З метою оцінки кількості та ступеня фарбування клітин використовували програму WCIF ImageJ і Aperio Image Scope.

2.3.5. Морфометричне дослідження із статистичним аналізом отриманих результатів досліджень

Для встановлення площі лімфобластних клітин та їх ядер використовували морфометричну програму WCIF Image J, а статистичний аналіз результатів досліджень здійснювали програмою «StatPlus2008». 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. Мітотичний індекс визначали за формулою:

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

де (P+M+A+T) – сума клітин у стадії профази, метафази, ана- і телофази, а N – загальна кількість проаналізованих клітин (156).

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Моніторинг спонтанних випадків онкологічних захворювань у котів у клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик» м. Львова

У період з 2019 по 2023 роки у клініці «Доктор Вет» досліджено 873 випадки котів з онкологічною патологією, з яких найбільшу кількість займали пухлини молочних залоз: 2019 рік – 88,9 % (72), 2020 рік – 84,5 % (98), 2021 рік – 81,4 % (136), 2022 рік – 73,1 % (171) та 2023 рік – 66,5 % (183). На другому місці серед новоутворень у котів знаходилась лімфома, яку в 2019 році діагностували в 9 тварин (11, 1%), у 2020 році їх кількість зросла до 15 тварин (12,9 %), у 2021 та 2022 роках відсоток котів з лімфомою сягав, відповідно 16,2 % (27) та 25,2 % (59) і стрімко збільшився у 2023 році – 84 тварини (30,5 %) (табл. 3.1).

Таблиця 3.1.

Моніторинг онкологічних захворювань у котів за період 2019–2023 рр. у клініці «Доктор Вет», м. Львів

Новоутворення	2019 рік	%	2020 рік	%	2021 рік	%	2022 рік	%	2023 рік	%	Всього
Пухлини молочних залоз	72	88,9	98	84,5	136	81,4	171	73,1	183	66,5	660
Лімфома	9	11,1	15	12,9	27	16,2	59	25,2	84	30,5	194
Саркома	-	-	1	0,9	2	1,2	1	0,4	3	1,1	7
Мастоцитома	-	-	-	-	1	0,6	1	0,4	2	0,8	4
Первинні новоутворення грудної порожнини	-	-	2	1,7	1	0,6	2	0,9	3	1,1	8
Всього	81	100	116	100	167	100	234	100	275	100	873

Результат статистичного аналізу спонтанних неоплазій у котів показав, що незначний відсоток пухлин припадав на саркому, мастоцитому та первинні

новоутворення грудної порожнини, які знаходились в межах: саркома від 0,4 до 1,2 %; мастоцитома – від 0,4 % до 0,8 %; первинні новоутворення грудної порожнини – від 0,6 % до 1,7 % від усіх неоплазій за період 2019 – 2023 роки.

Зупиняючись на аналізі лімфоми у котів, нами відмічено їх різну локалізацію, що залежало від типу та віку тварин. У дослідний період (2019–2023 рр.) за результатами клінічних досліджень, УЗД та рентгендіагностики, цитологічних та патогістологічних досліджень, проведених у клініці «Доктор Вет» встановлено, що на аліментарну лімфому припадало найбільше випадків – 117 (60,3 %), менший відсоток займала медіастинальна лімфома – 28,4 % (55 випадків), 11,3 % (22 випадки) становили коти з екстранодальною лімфомою (рис. 3.1.). Слід відмітити, що збільшення кількості випадків неоплазій у котів реєстрували у 2022 та 2023 роках, у порівнянні з 2019 роком, що, ймовірно, пов'язано із збільшенням кількості домашніх тварин у власників, а також відкриттям притулків для дрібних тварин.

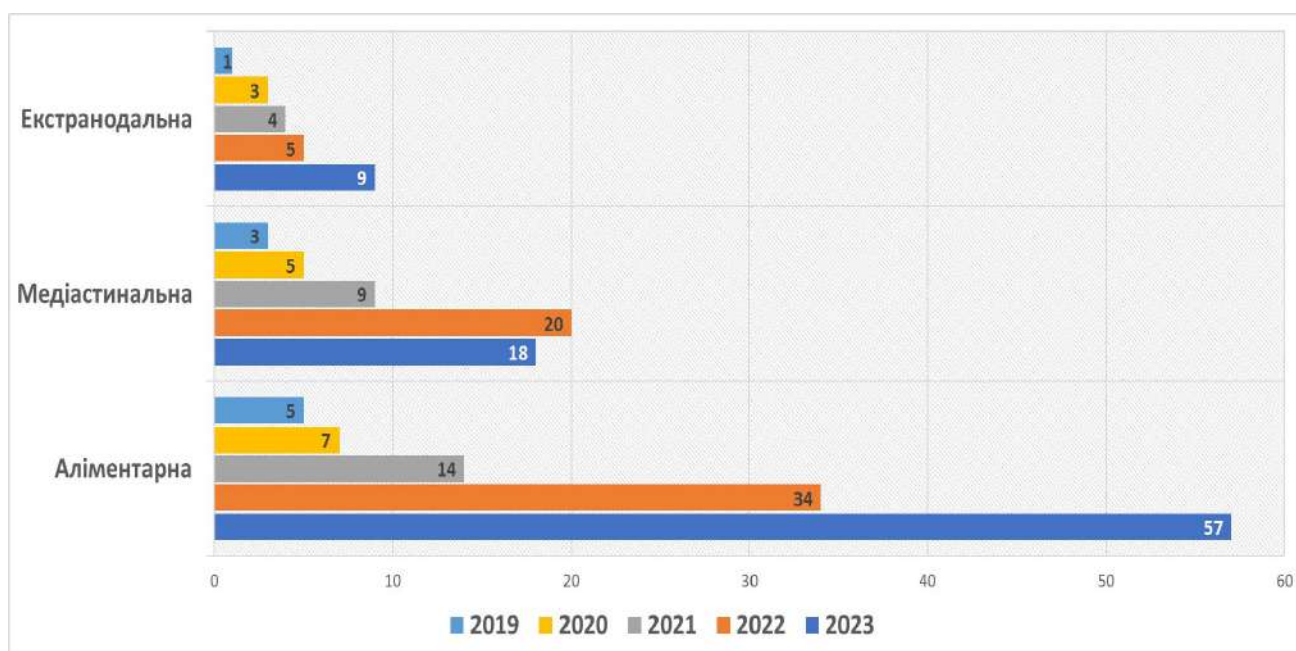


Рис. 3.1. Типи лімфом у котів, які діагностували у ветеринарній клініці «Доктор Вет», м. Львів (2019-2023 рр.).

Результати ретроспективного дослідження, проведеного в клініці «Ветпрактик», засвідчив подібну динаміку збільшення кількості онкологічних захворювань у котів. Встановлено, що ледова частка (74,1 %) усіх неоплазій

припадала на пухлини молочних залоз. Лімфому діагностовано у 23,4 % випадків, саркому та мастоцитому, відповідно, у 0,7 % та 0,4 %; первинні новоутворення грудної порожнини займали 1,4 % від усіх випадків пухлин у котів (табл. 3.2).

При верифікації різних типів лімфоми у котів встановлено, що у 62 % випадків діагностували аліментарну лімфому, у 28,8 % – медіастинальну та 9,2 % – екстранодальну (рис. 3.2). При цьому, вік котів та стать значно варіювали. На аліментарну лімфому, зазвичай, хворіли коти старшого віку – від 10 до 13 років. Медіастинальну лімфому діагностували у молодих котів від 1,5 до 4 років, з яких частина тварин (36 %) мала позитивний тест на FeLV (вірус лейкозу котів). Екстранодальний тип лімфоми, а саме – ренальну форму виявляли у котів від 6 до 9 років.

Таблиця 3.2.

Моніторинг онкологічних захворювань у котів за період 2019–2023 рр. у клініці «Ветпрактик», м. Львів

Новоутворення	2019 рік	%	2020 рік	%	2021 рік	%	2022 рік	%	2023 рік	%	Всь ого
Пухлини молочних залоз	67	84,8	83	80,6	97	74,0	126	70,0	144	70,2	517
Лімфома	11	13,9	18	17,5	32	24,4	47	26,1	55	26,8	163
Саркома	-	-	-	-	1	0,8	2	1,1	2	1,0	5
Мастоцитома	-	-	-	-	-	-	2	1,1	1	0,5	3
Первинні новоутворення грудної порожнини	1	1,3	2	1,9	1	0,8	3	1,7	3	1,5	10
Всього	79	100	103	100	123	100	180	100	205	100	698

Серед котів з діагностованою лімфомою у клініці «Доктор Вет» на самок припадало 70,2 %, на самців 29,8 %, тоді як у клініці «Ветпрактик» самців було дещо більше – 34,6 %, проте тенденція захворюваності самок залишалась високою –

65,4 %. За результатами досліджень не було встановлено жодного зв'язку між приналежністю до породи і захворюваністю котів на лімфому.

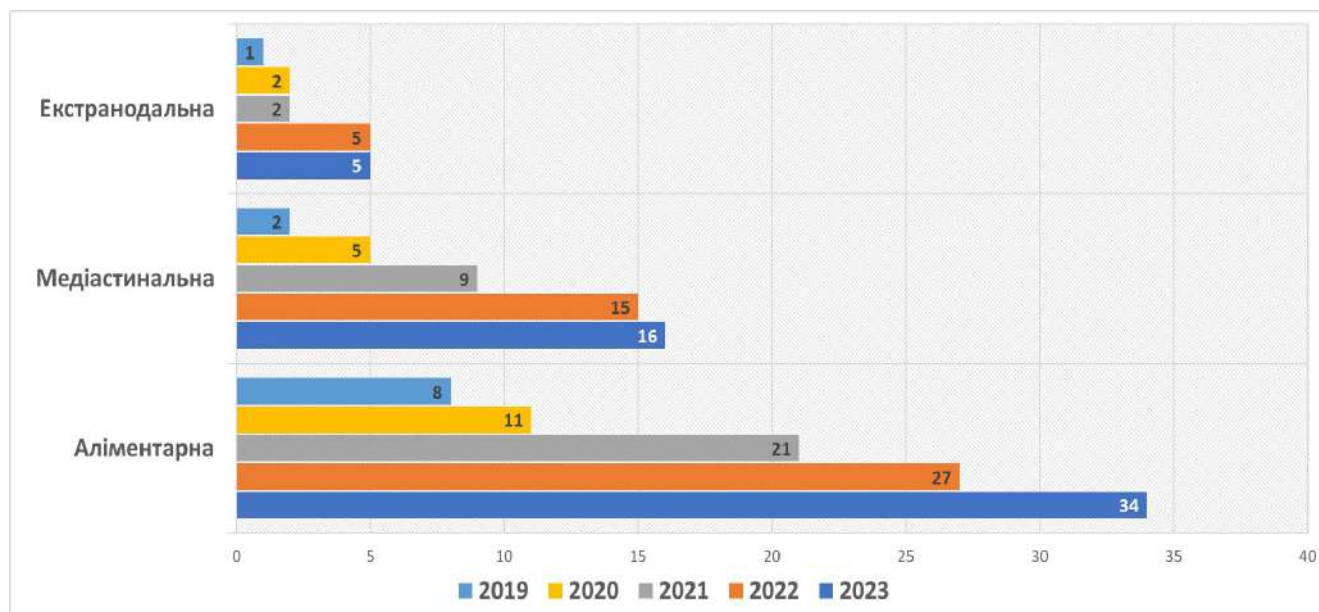


Рис. 3.2. Типи лімфом у котів, які діагностували у ветеринарній клініці «Ветпрактик», м. Львів (2019-2023 рр.).

Серед досліджуваних котів з лімфомою у клініці «Доктор Вет» були сіамські (2,3 %), британські (3,6 %), персидські (1,7 %). Проте, лідерами серед спонтанних випадків лімфоми були безпородні коти (92,4 %). Подібну тенденцію відзначали й у клініці «Ветпрактик», де безпородні коти з діагностованою лімфомою становили 86,3 %, але більшу кількість випадків захворювання фіксували у сіамських (7 %) та британських котів (6,7 %).

3.2. Характеристика аліментарної лімфоми у котів

3.2.1. Клінічні прояви, ультрасонографічна діагностика, гематологічні та біохімічні показники крові у котів за аліментарної лімфоми

Коти з підозрою на аліментарну лімфому були віком від 10 до 13 років (74,3 %), потрапляли до клінік з такими симптомами: періодична блювота та діарея, анорексія. При фізикальному дослідженні виявляли болючість при пальпації в епігастральній ділянці, вузлові потовщення м'якої або щільно-еластичної консистенції у ділянці черевної стінки, обмежено рухливі. Живіт візуально збільшений, слизові оболонки ротової порожнини та очей іктеричні. Експрес тести

на виявлення антитіл до вірусу імунодефіциту та антигену вірусу лейкозу котів були негативними.

Ультрасонографічно між петлями тонкого кишечника котів у 67,4 % випадків виявляли туморозну тканину та невеликих розмірів кістозні утворення. В інших – 32,6 % котів встановлено потовщення стінки шлунка. Краніально дна сечового міхура в ділянці брижі, дистальних відділів тонкого кишечника візуалізується неоднорідне, гіпоехогенне з нерівними контурами, неінкапсульоване утворення з множинними анехогенними включеннями, діаметром 7,8 мм і менше (рис. 3.3 а). Васкуляризація помірно виражена. У іншого кота, між петлями тонкого відділу кишечника встановлено інкапсульований, гіпоехогенної дрібнозернистої структури, бобовидної форми утвір, розміром 13,1x11,3 мм (рис. 3.3 б).

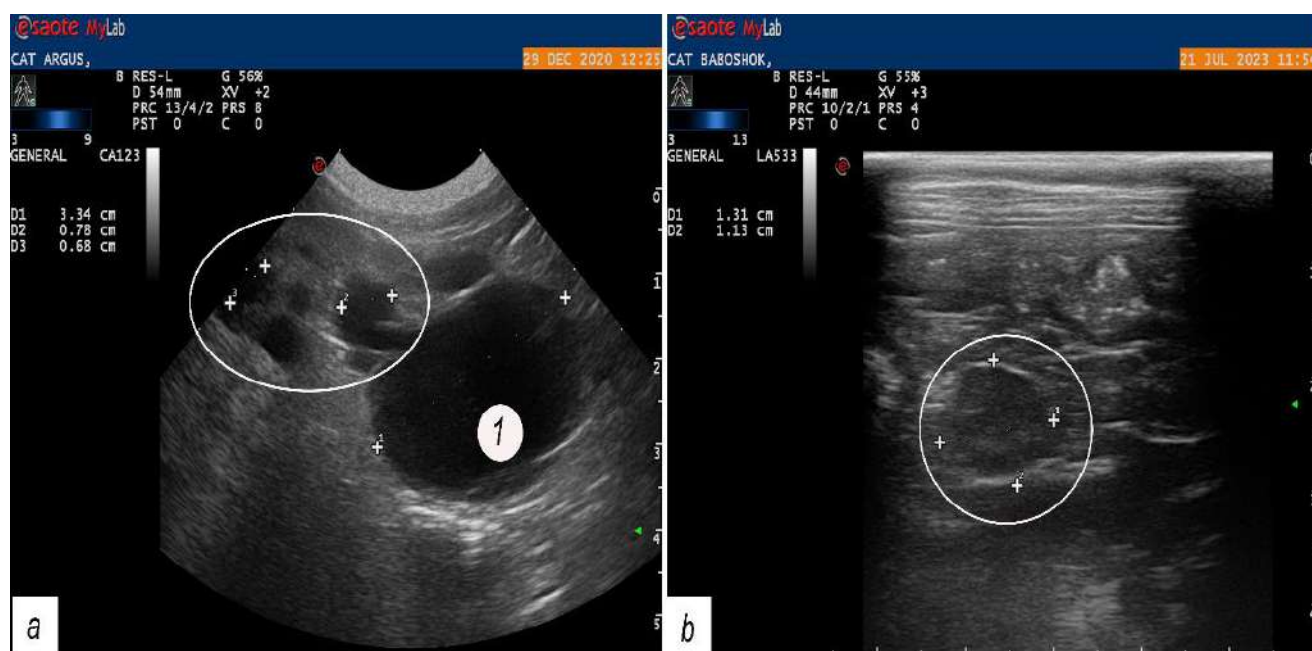


Рис. 3.3. Ультрасонографічне зображення тонкого кишечника котів з аліментарною лімфомою: *a* – мультифокальні новоутворення між петлями тонкого кишечника з проростанням їх у стінку кишечника (позначено колом), сечовий міхур (1); *b* – інкапсульований мезентеріальний лімфатичний вузол гіпоехогенної структури.

Картина аліментарної лімфоми у котів при ультразвуковій діагностиці, зазвичай, була подібною, в переважній більшості випадків відзначали неопластичні ураження кишечника, збільшення брижових лімфатичних вузлів, які мали

виражену гіпоехогенність та хаотичну ангіоархітекτονіку, в 15 % тварин візуалізувались зміни в печінці та селезінці.

Загальний аналіз крові у котів із аліментарною лімфомою, у більшості випадків, характеризувався значним підвищенням кількості лейкоцитів (у 3,2 рази; ($P>0,001$) та кількості сегментоядерних нейтрофілів (у 1,5 рази) ($P>0,001$) при достовірному зниженні лімфоцитів у 2,8 разів та тромбоцитів у 1,6 разів, відносно показників фізіологічно здорових котів (табл. 3.3). У котів відзначали анемію, здебільшого нормохромного і макроцитарного типу, яка прогресувала у випадку загострення хвороби і розглядалась, як прояв пригнічення нормального кровотворення.

Таблиця 3.3.

**Гематологічні показники крові за аліментарної форми лімфоми у котів
($M\pm m$, $n=5$)**

Показники	Одиниці виміру	Показники здорових котів, віком 10-15р.	Результат
Лейкоцити (WBC)	Г/Л	$10,8\pm 1,24$	$34,5\pm 1,34^{***}$
Еритроцити (RBC)	Т/л	$9,72\pm 1,33$	$6,8\pm 1,5$
Гемоглобін (Hb)	г/л	$137\pm 2,01$	$102,0\pm 2,12$
Гематокрит (HCT)	%	$39,3\pm 1,27$	$38,3\pm 1,23$
Тромбоцити (Plt)	Г/Л	$537\pm 1,32$	$328,0\pm 1,75^{***}$
Лейкограма			
Еозинофіли (Eos)	%	$3,0\pm 0,01$	$2,0\pm 0,01$
Палочкоядерні нейтрофіли	%	$2,0\pm 0,02$	$1,0\pm 0,01$
Сегментоядерні нейтрофіли (Grn)	%	$56,0\pm 1,24$	$83,0\pm 0,98^{***}$
Лімфоцити (Lymph)	%	$36,0\pm 0,86$	$13,0\pm 0,87^{***}$
Моноцити (Mon)	%	$3,0\pm 0,01$	$1,0\pm 0,01$

Примітка: $***p>0,001$ у порівнянні до показників фізіологічно здорових котів.

За біохімічного дослідження сироватки крові котів з аліментарною лімфомою встановлено достовірне підвищення активності трансаміназ – аспартатамінотрансферази (АсАТ) у 3,5 рази ($P>0,001$) та аланінамінотрансферази (АлАТ) у 6 разів ($P>0,001$), що може свідчити про розвиток патологічних процесів, а саме пошкодження плазматичних мембран клітин та субклітинних органел із подальшим розвитком некрозу тканин (табл. 3.4). Зростання активності лужної фосфатази в 30 разів ($P>0,001$), супроводжує стан холестазу. Це пов'язано з підвищенням синтезом ензиму і полегшеною його сольобілізацією з клітинних мембран. При ракових захворюваннях зростання активності лужної фосфатази супроводжує метастази у печінку, що викликає холестаз. Крім того, рівень загального білка на пізніх стадіях пухлинного процесу, зазвичай є зниженим, що пов'язують із рядом чинників, таких як втрата апетиту, порушення всмоктування, пошкодження білкового синтезу через метастази в печінку, посилення втрати катаболізму білків. Отримані нами результати свідчать про подібну динаміку, проте вміст загального білка у сироватці крові котів із аліментарною лімфомою був дещо пізвищеним, відповідно на 20,8 % відносно показників фізіологічної норми. Крім того, відзначали зниження концентрації креатиніну у 2,3 рази ($P>0,001$), що можна пов'язувати із збільшенням клубочкової фільтрації. Крім того, встановлено достовірне підвищення кількості загального білірубину сироватки крові, що становило $324,46\pm 3,76$ мкмоль/л проти $1,72\pm 2,72$ мкмоль/л (табл. 3.4).

Таблиця 3.4.

Біохімічні показники крові у котів за аліментарної лімфоми ($M\pm m$, $n=5$)

Показник	Одиниці виміру	Показники здорових котів	Результат
Альбумін (Ab)	г/л	$31,0\pm 1,03$	$39,2\pm 1,12$
Загальний білок (TP)	г/л	$71,0\pm 2,67$	$85,8\pm 3,23^{**}$
Білірубін загальний (Obil)	мкмоль/л	$1,72\pm 2,72$	$324,46\pm 3,76^{***}$
Аланінамінотрансфераза (ALT)	Од/л	$66,3\pm 2,21$	$400,0\pm 3,32^{***}$
Аспартатамінотрансфераза (AST)	Од/л	$45,2\pm 1,04$	$156,1\pm 1,64^{***}$

Продовження таблиці 3.4.

Лужна фосфатаза (Alp)	Од/л	25,0±1,12	730,8±4,12***
Глюкоза (Glu)	ммоль/л	5,4±0,69	5,2±0,87
Сечовина (Urea)	ммоль/л	9,8±1,01	10,7±1,03
Креатинін (Crea)	мкмоль/л	154,3±1,32	67,1±1,76**
Гамма- глутамілтрансфераза (Ggt)	Од/л	3,8±1,12	8,4±1,23*
Холестерин (Chol)	ммоль/л	3,4±1,01	6,3±1,54*
Кальцій (Ca)	ммоль/л	2,05±0,12	2,2±0,11
Фосфор (P)	ммоль/л	1,8±0,97	2,01±1,75

Примітка: * $p > 0,05$; ** $p > 0,01$; *** $p > 0,001$ у порівнянні до показників фізіологічно здорових котів.

У всіх клінічних випадках лімфоми у котів проводили пункційну біопсію брижових лімфатичних вузлів під контролем УЗД із подальшою цитологічною діагностикою. У мазках, забарвлених за Романовським-Гімзою виявляли мономорфну популяцію клітин типу лімфобластів з округлим ядром із зернистим хроматином (рис. 3.4). Клітинний анізоцитоз та анізокаріоз виражені, наявні атипові мітотичні фігури, переважно 2-3 в полі зору (рис. 3.5). Лімфобластні клітини з великими ядрами містили переважно з одне ядерце.

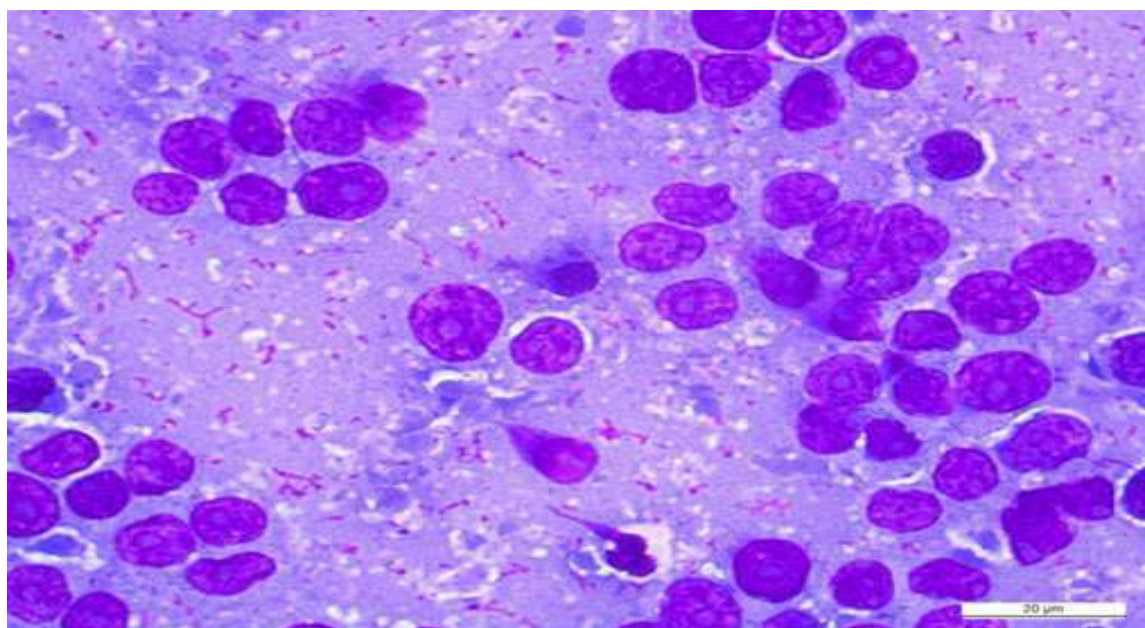


Рис. 3.4. Цитологічний зразок з брижового лімфатичного вузла. Мономорфна популяція лімфобластів з великими ядрами та чіткими ядерцями. Романовський-Гімза. х 1000.

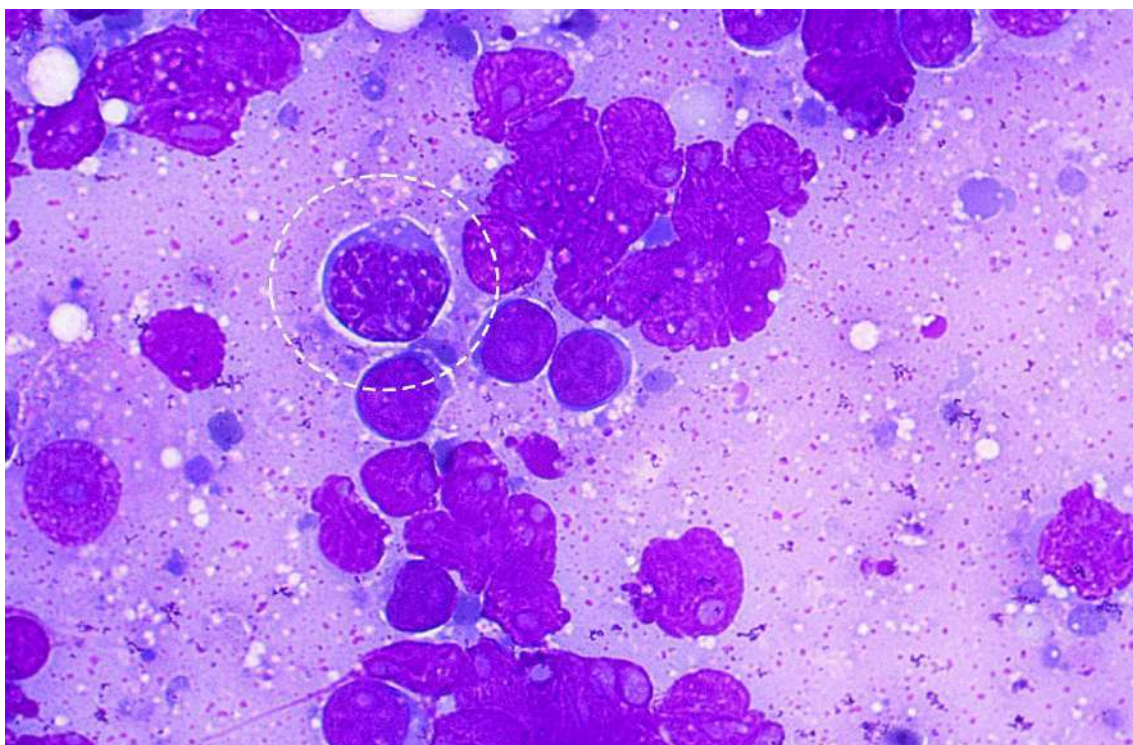


Рис. 3.5. Цитологічний зразок із брижового лімфатичного вузла. Атиповий мітоз (в колі). Романовський-Гімза. x 1000.

Таким чином, за результатами гематологічного та біохімічного дослідження крові не можливо отримати достовірної інформації для постановки діагнозу на лімфому у котів. Використовувати ці дослідження необхідно виключно з прогностичною метою. При проведенні гематологічних досліджень у котів з аліментарною лімфомою встановлено: лімфоцитопенія у 75 % випадків; тромбоцитопенію у 17 %; еритроцитопенію у 12 %. За біохімічного дослідження сироватки крові котів встановлено, що більшість показників знаходились в межах фізіологічних норм за виключенням достовірного підвищення рівня АсАТ, АлАТ, ЛФ, що також може бути пов'язано з віковими змінами, пов'язаними з функціональними відхиленнями в печінці та серці, іншими супутніми патологіями. Однією із найбільш виражених клінічних проявів лімфоми у котів можна виділити гіпо- та анорексію, прогресуючу втрату ваги, рвоту та діарею.

Слід враховувати, що морфологічна діагностика крові використовується як один із суб'єктивних методів для первинної диференціації пухлинного процесу в організмі тварин. В подальшому необхідно проводити цитологічне дослідження

лімфосаркоми, яке найчастіше, стає єдиним доступним методом, що використовують у процесі постановки діагнозу. При вивченні цитограми звертали увагу на бластні лімфоїдні клітини з великими ядрами, які займали більшу площу клітин, хроматин грубий, зернистий. Цитоплазма у вигляді вузького обідка, в окремих клітинах містила дрібненькі вакуолі. Ядерця, переважно розташовувались по периферії. Наявні мітози та амітози.

Отже, клініко-цитологічні методи, які найчастіше застосовують у ветеринарних клініках при діагностиці лімфосаркоми є інформативними, іноді єдиними при постановці заключного діагнозу.

3.2.2. Патологоанатомічні зміни та патогістологічна характеристика органів і тканин у котів за аліментарної лімфоми

При проведенні патологоанатомічного розтину котів з аліментарною лімфомою (n=17) виявлено: різко збільшені брижові лімфатичні вузли, щільно-еластичної консистенції, на розрізі блідо-жовтого кольору або з вираженим мармуровим рисунком (рис. 3.6, 3.7, 3.8). Судини серозної оболонки тонкого відділу кишечника добре кровонаповнені, стінки місцями набряклі, потовщені, слизова оболонка гіперемійована.

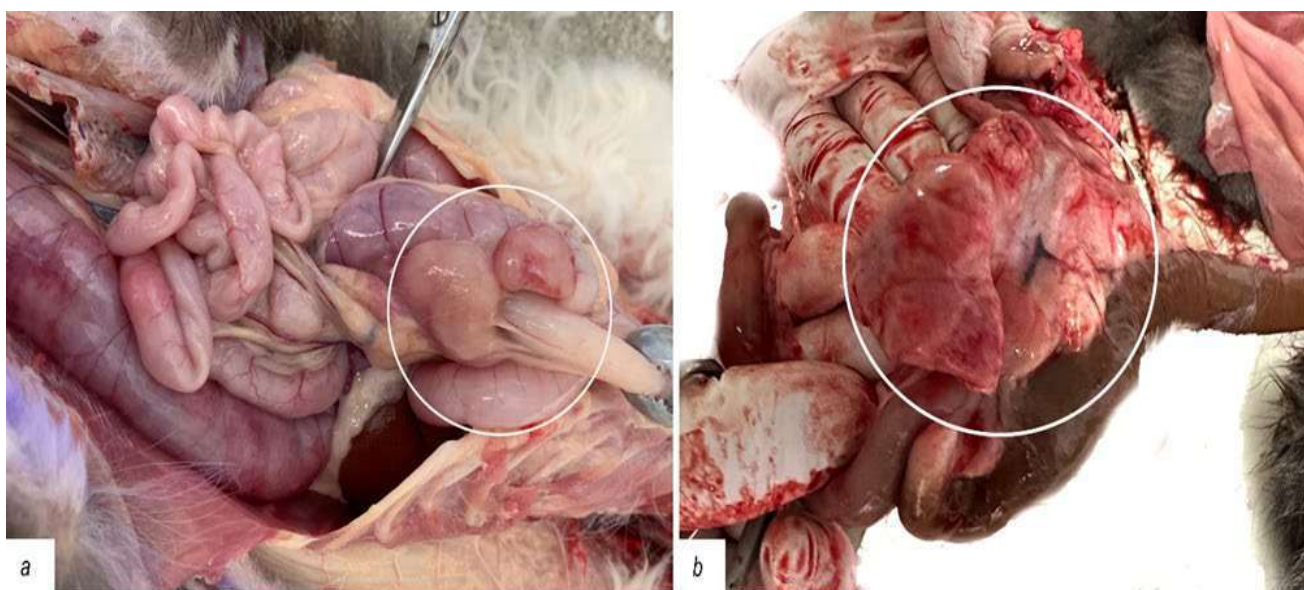


Рис. 3.6. Збільшені брижові лімфатичні вузли (a) та регіонарні лімфатичні вузли сліпої та ободової кишок (b).

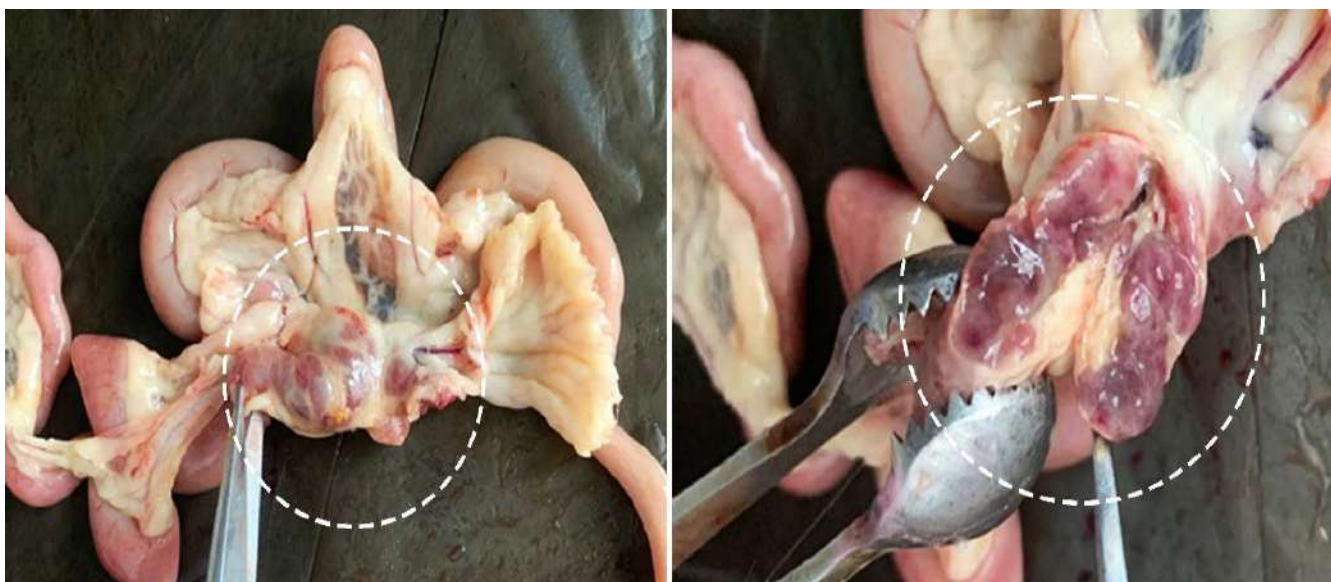


Рис. 3.7. Збільшені брижові лімфатичні вузли, на розрізі ущільнені з мармуровим рисунком.

На слизовій оболонці шлунка та в підшлунковій залозі у 23,5 % ($n=4$) котів, виявляли щільні вузликові утворення (рис. 3.9). Крім того, у 52,9 % ($n=9$) зміни відзначали в паренхіматозних органах – дистрофію печінки з гіперплазією портальних лімфатичних вузлів та множинними туморозними утвореннями на селезінці (рис. 3.10). Збільшення селезінки виявляли тільки у двох котів.

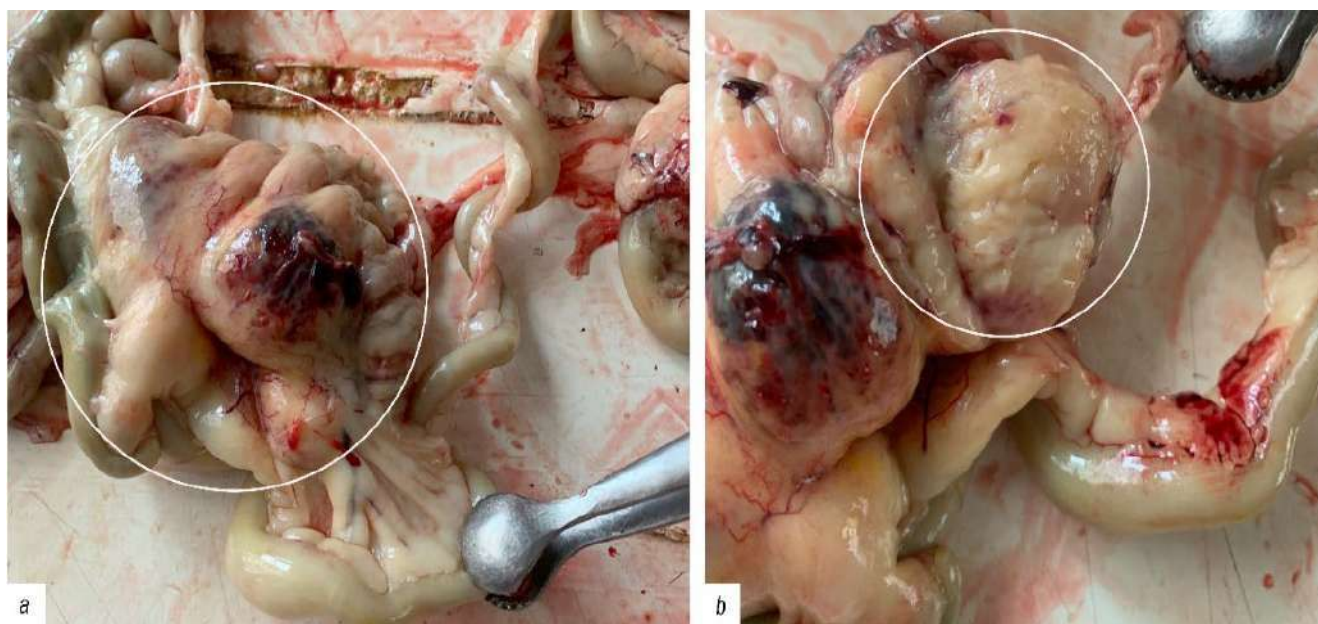


Рис. 3.8. Різко збільшені брижові лімфатичні вузли та потовщені стінки тонкого кишечника (*a*); вигляд брижового лімфатичного вузла на розрізі (*b*) – щільно-еластичний з однорідно жовтуватим відтінком.

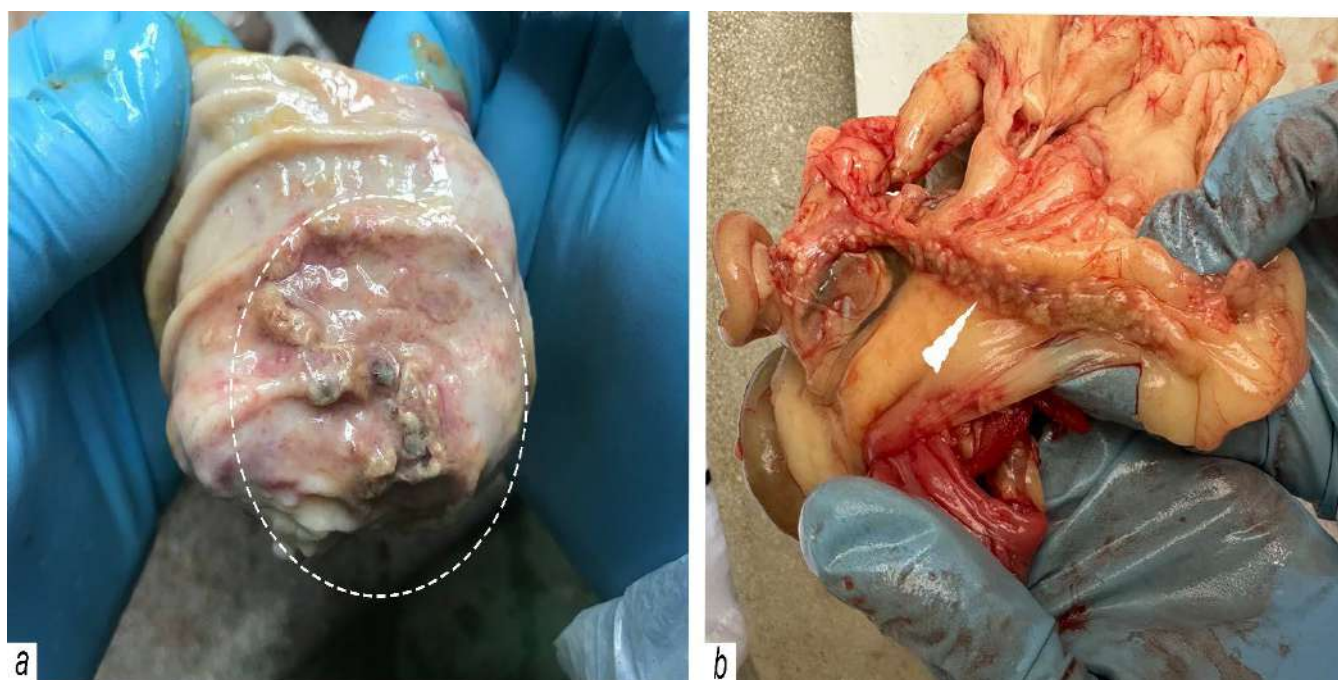


Рис. 3.9. Щільні вузликові утворення на слизовій оболонці шлунку (a) та підшлунковій залозі (b).

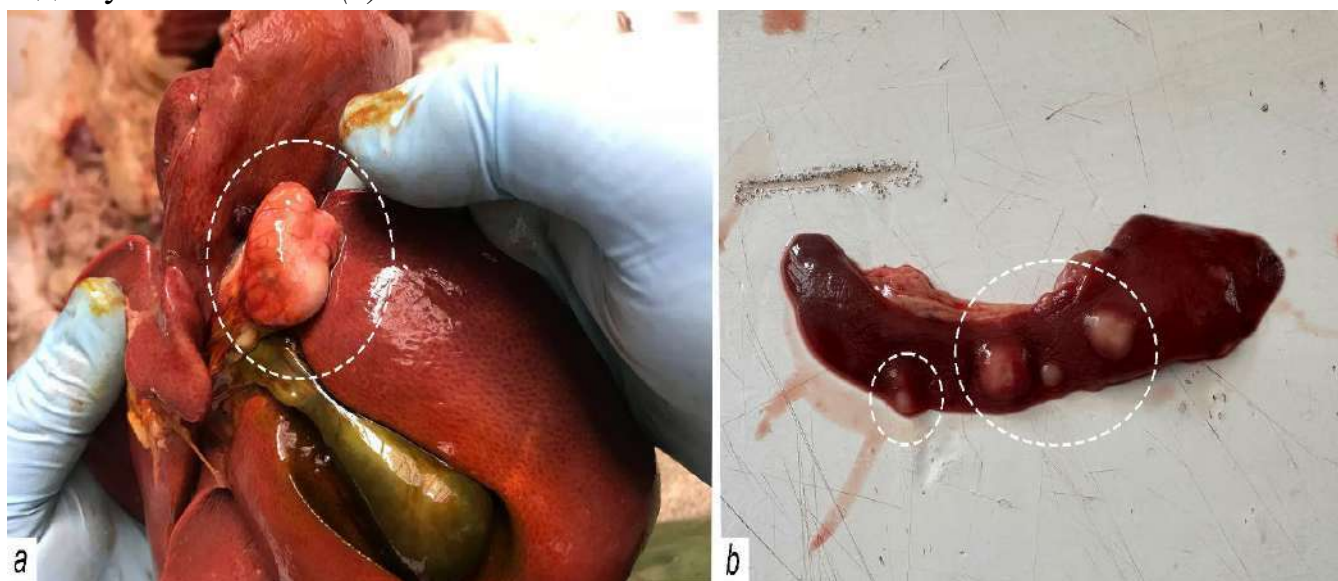


Рис. 3.10. Гіперплазія портальних лімфатичних вузлів (a); туморозні мультифокальні утворення на селезінці (b).

При патогістологічному дослідженні тонкого відділу кишечника встановлено, що найбільш інфільтрованим кишковим сегментом була порожня кишка в якій виявляли масивні мономорфні лімфобластні елементи, що дифузно розміщувались у власне пластинці слизової оболонки, підслизовому та м'язовому шарі (рис. 3.11). Клітинний атипізм не виражений. Цитоплазма цих клітин помірно

відмежована, ядра круглі, гіперхромні, переважно з одним ядерцем, мітотичні фігури атипові, 2-3 в полях зору. Мікроскопічно встановлено різке розширення судин підслизового шару з масивною периваскулярною інфільтрацією лімфобластними клітинами. Морфологічним змінам піддавались і м'язи внутрішнього циркулярного шару, які також знаходились у стані набряку. Зовнішній (поздовжній) шар м'язів порожньої кишки потовщений та інтенсивно інфільтрований лімфобластними клітинами (рис. 3.12). Ворсинки атрофувались, втрачали форму за рахунок масивної проліферації лімфобластів із великими гіперхромними ядрами та вузькою цитоплазмою. Апікальна частина ворсинок з вираженою щітковою облямівкою була збережена і чітко проглядалась (рис. 3.13). Характерною була проліферація лімфобластів у м'язах як циркулярного (рис. 3.14), так і зовнішнього поздовжнього шару порожньої кишки. Проте, виражені зміни фіксували саме у зовнішньому м'язовому шарі.

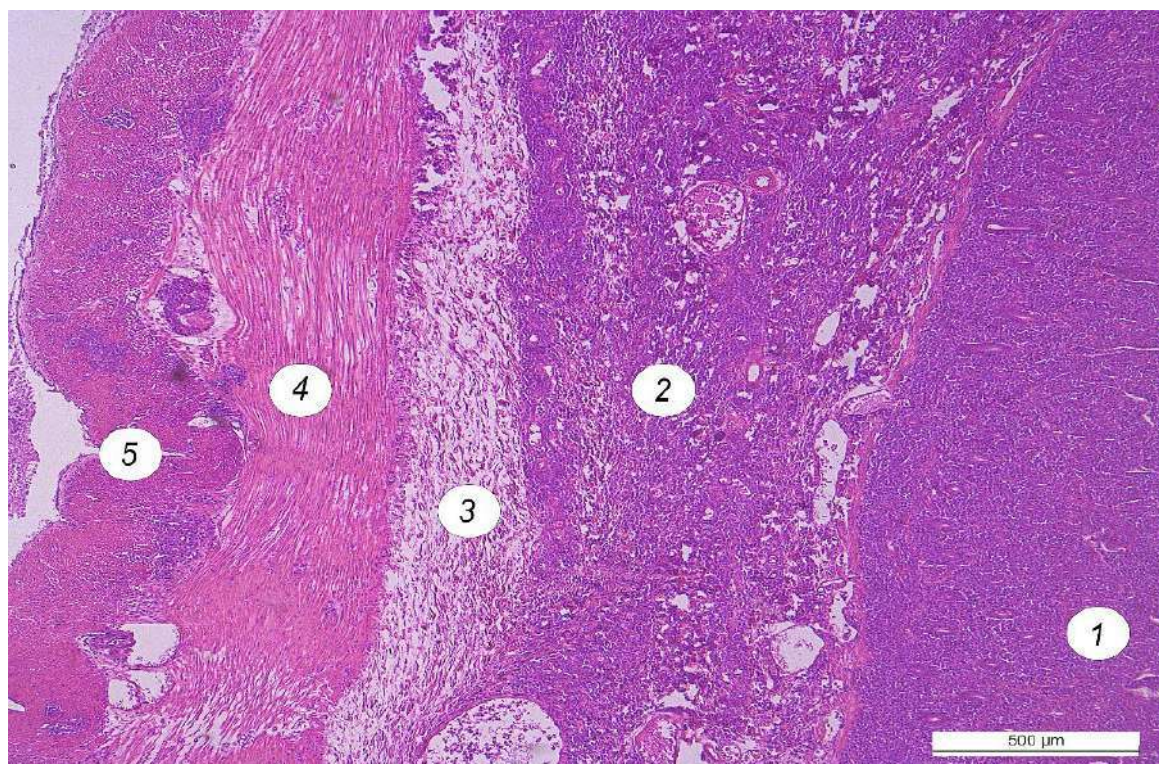


Рис. 3.11. Фрагмент порожньої кишки кота: слизова оболонка (1), проліферація лімфобластами підслизового шару (2), набряк підслизового шару (3), циркулярний шар м'язової оболонки (4), поздовжній шар м'язової оболонки (5). Гематоксилін та еозин. х 50.

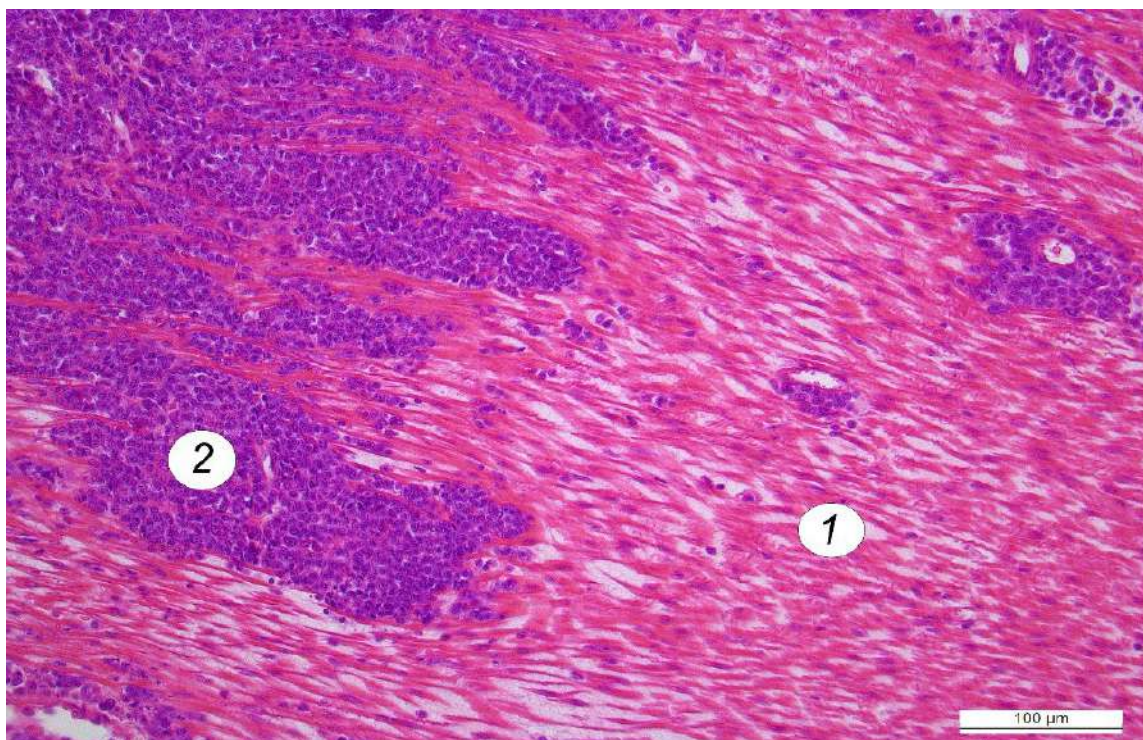


Рис. 3.12. М'язова оболонка порожньої кишки: набряк поздовжнього шару м'язів (1), лімфобластні проліферати (2). Гематоксилін та еозин. х 200.

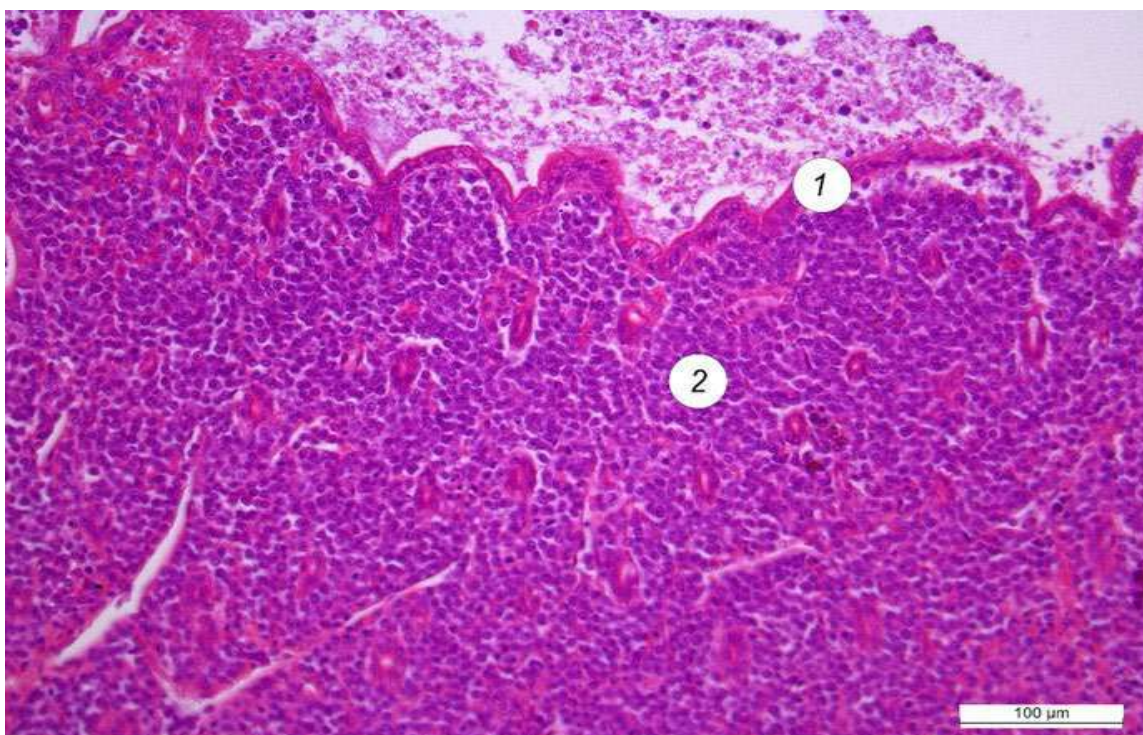


Рис. 3.13. Апікальна частина ворсинки зі збереженою щіточковою облямівкою (1), масивна лімфобластна проліферація у власній пластинці слизової оболонки (2). Гематоксилін та еозин. х 200.

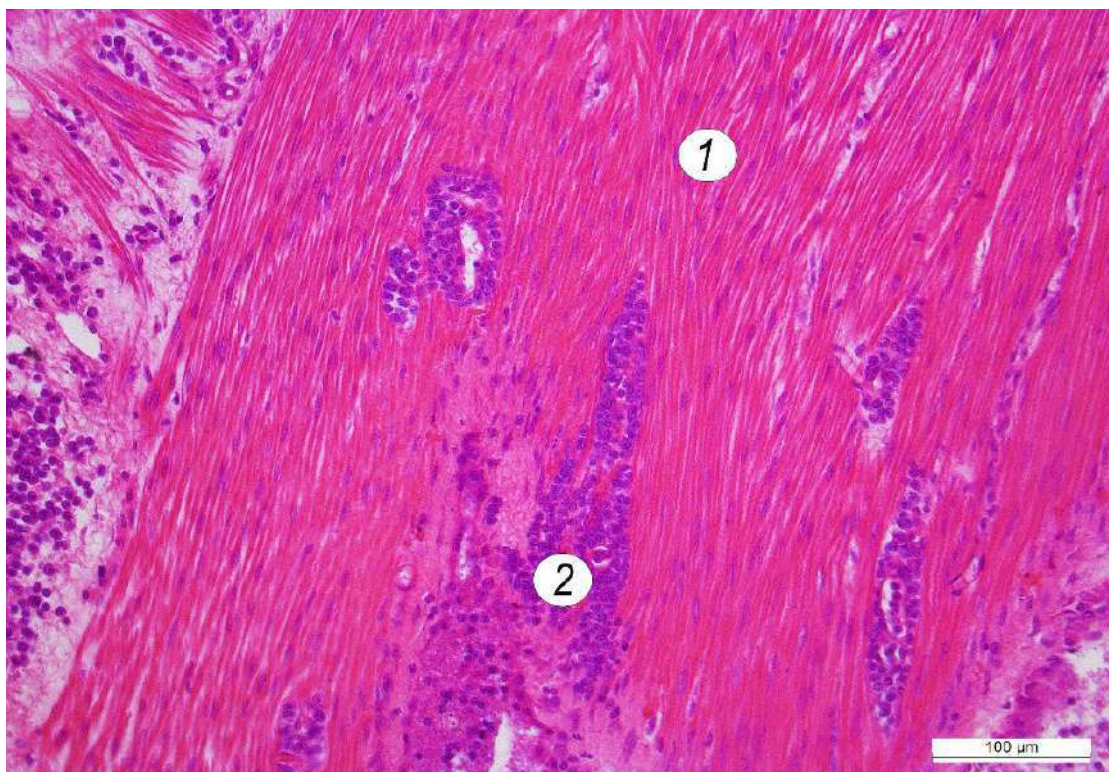


Рис. 3.14. М'язова оболонка порожньої кишки: циркулярний шар м'язів (1), периваскулярні лімфобластні інфільтрати (2). Гематоксилін та еозин. х 200.

Серед масивної лімфобластної інфільтрації слизової оболонки тонкого кишечника виявляли клітини з атиповими мітозами, 2-3 у полях зору (рис. 3.15).

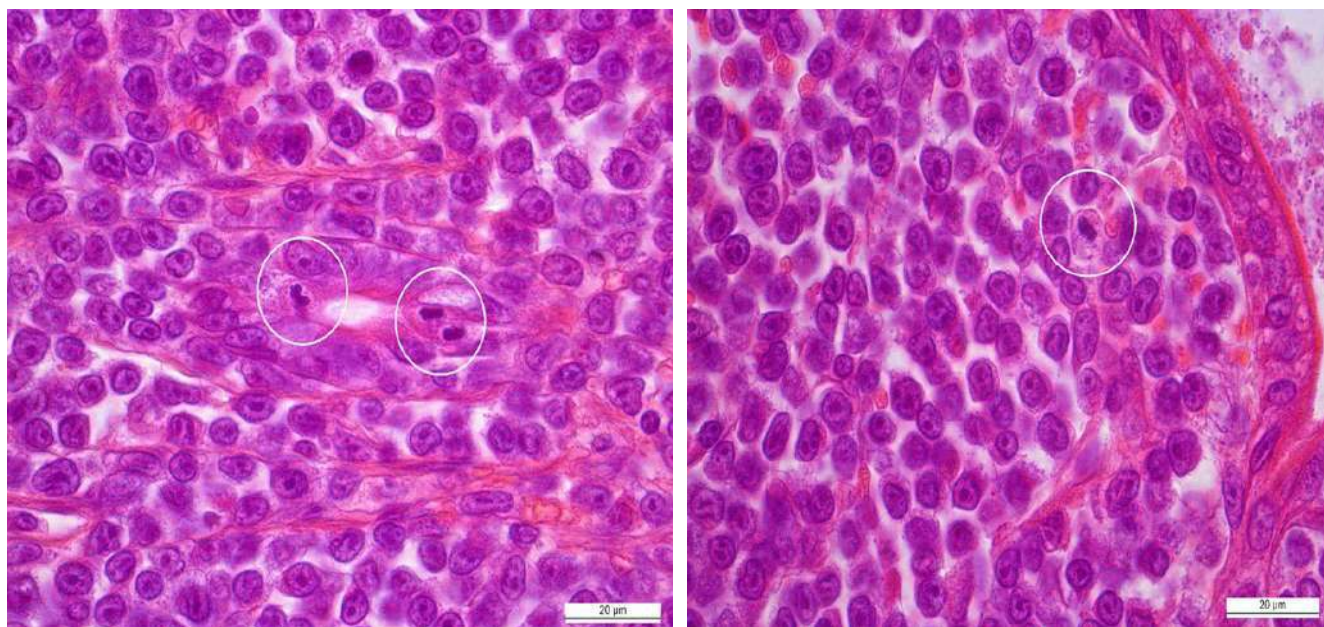


Рис. 3.15. Слизова оболонка порожньої кишки: великі клітини з атиповими мітотичними фігурами (позначені в колі) серед лімфобластних мономорфних проліфератів. Гематоксилін та еозин. х 1000.

Гістохімічними дослідженнями виявлено, що при фарбуванні за Браше, основна кількість лімфобластних клітин, які локалізувались у слизовій оболонці, підслизовому та м'язовому шарах порожньої кишки мали піронінофільну цитоплазму, великі центрально розміщені ядра, переважно з одним ядерцем. Серед мономорфних клітинних проліфератів візуалізувались гігантські клітини з атипovими мітотичними фігурами (рис. 3.16).

Окрім масивної лімфобластної проліферації стінки порожньої кишки у котів відзначали морфологічні зміни у брижових лімфатичних вузлах у яких візуалізувалось розширення судин крайового синуса (рис. 3.17), стаз, дифузну інфільтрацію лімфобластами як кіркової речовини, так і лімфоїдних вузликів (рис. 3.18).

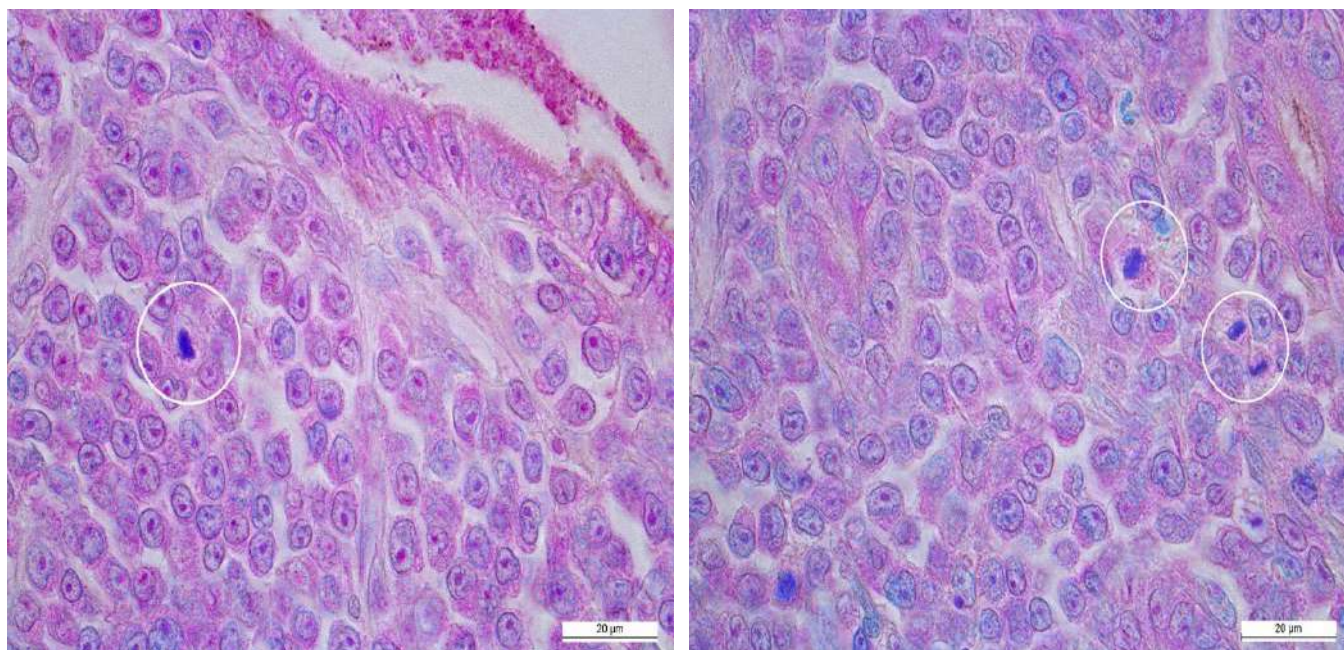


Рис. 3.16. Слизова оболонка порожньої кишки: великі клітини з атипovими мітотичними фігурами (позначені в колі) та піронінофільною цитоплазмою серед лімфобластних мономорфних проліфератів. Фарбування за методом Браше. x 1000.

Серед загальної маси мономорфних лімфобластних клітин чітко проглядались плазматичні клітини, цитоплазма яких яскраво піронінофільна, ексцентрично розміщене велике ядро з одним ядерцем (рис. 3.19). Поміж лімфобластів візуалізувались клітини з атипovими мітозами, 4-5 в полях зору (рис. 3.20).

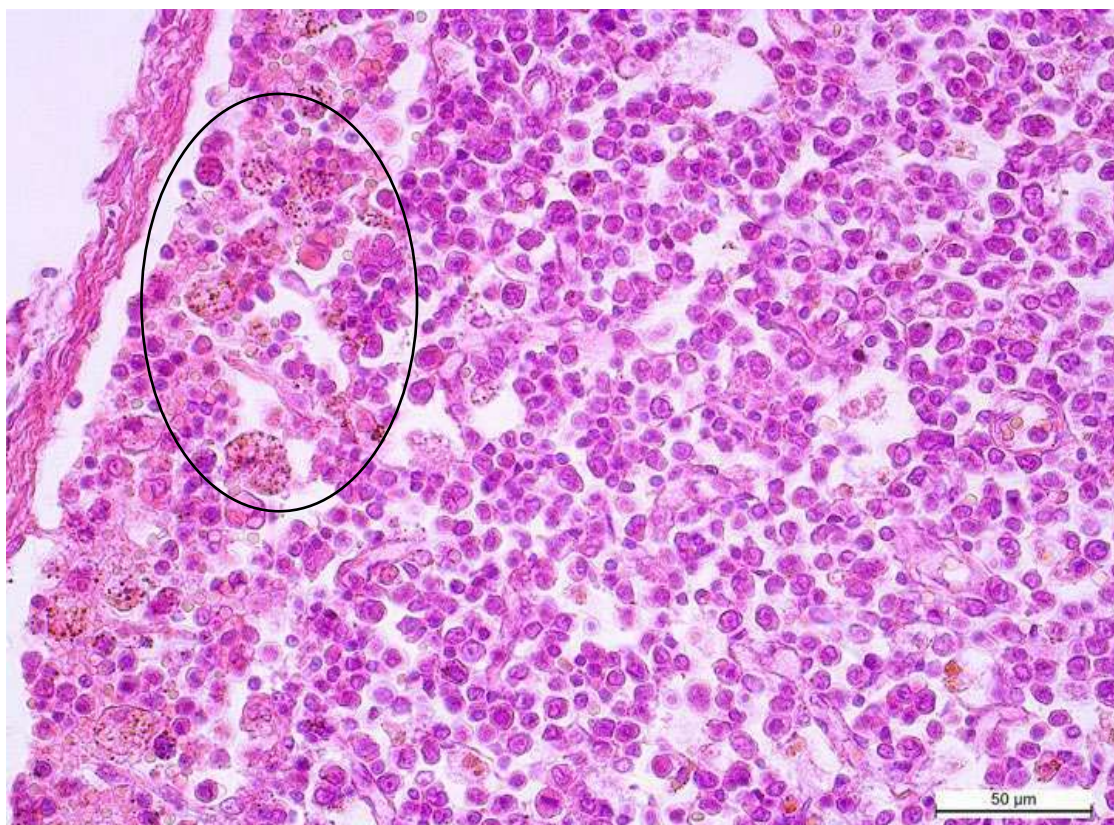


Рис. 3.17. Брижовий лімфатичний вузол. Розширення судин крайового синуса (позначено в колі). Гематоксилін та еозин. х 400.

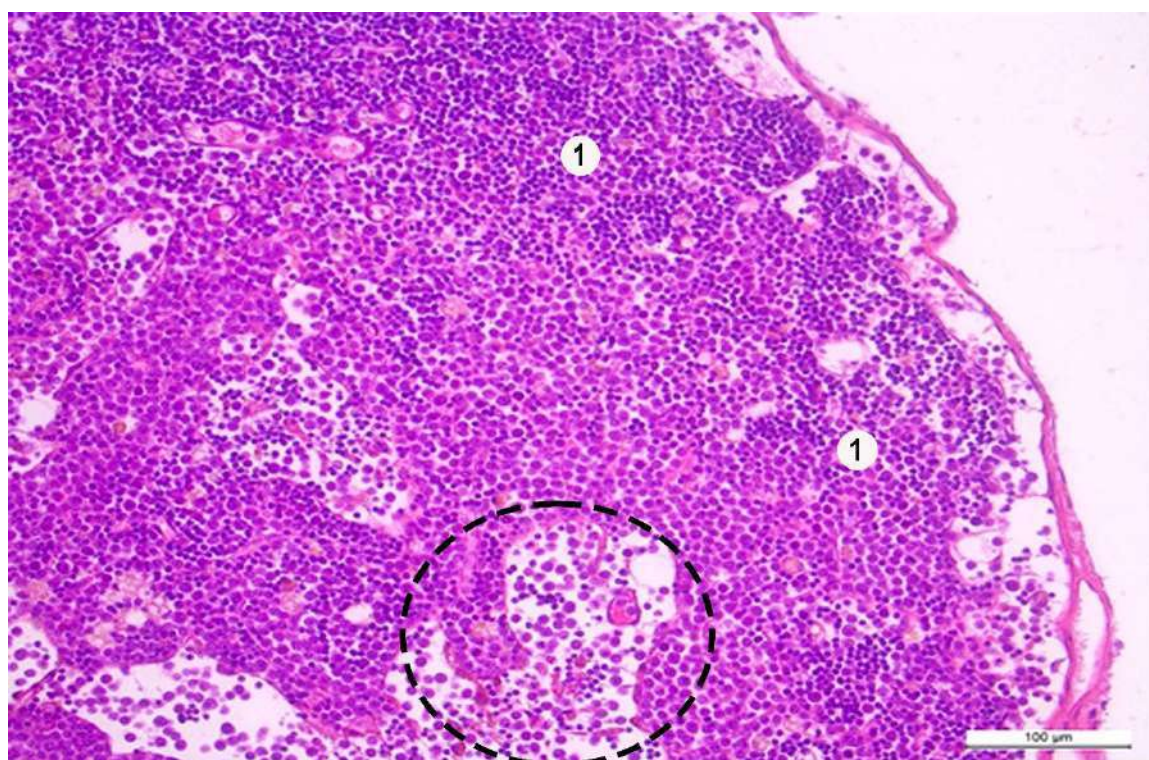


Рис. 3.18. Брижовий лімфатичний вузол. Лімфобластна проліферація кіркової речовини (1), розширені кортикальні синуси (в колі). Гематоксилін та еозин. х 200.

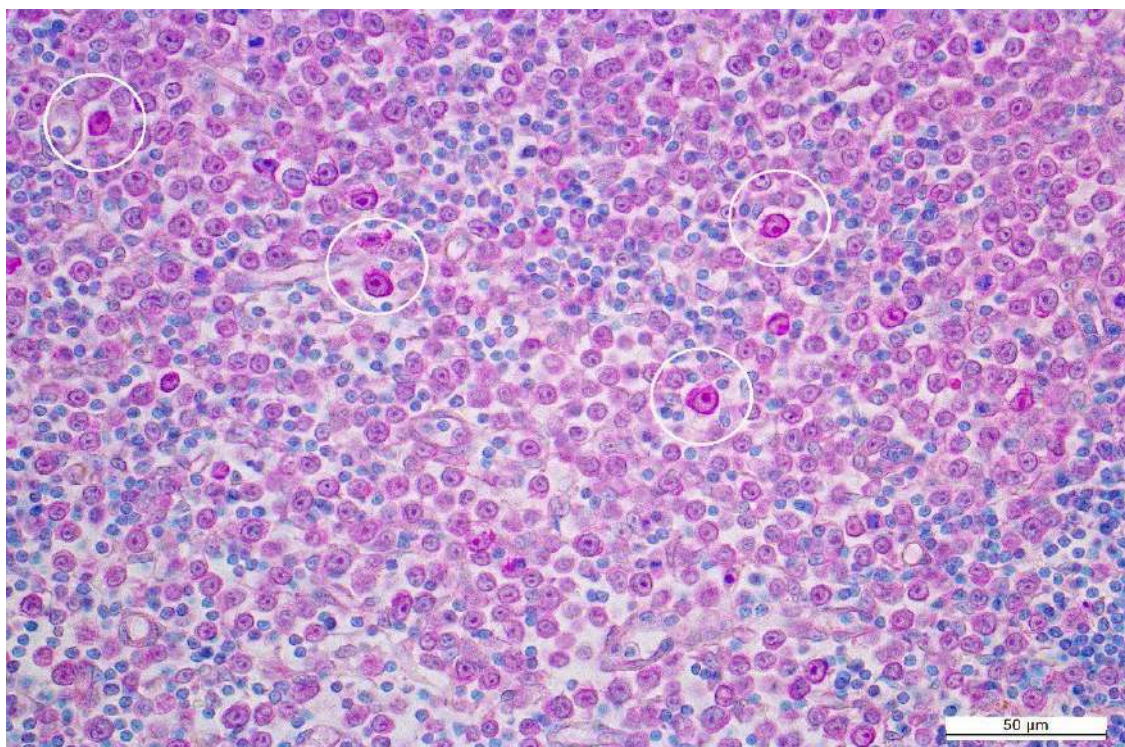


Рис. 3.19. Брижовий лімфатичний вузол. Піронінофільні плазматичні клітини, що дифузно розміщуються в кірковому шарі (в колі). Фарбування за Браше. х 400.

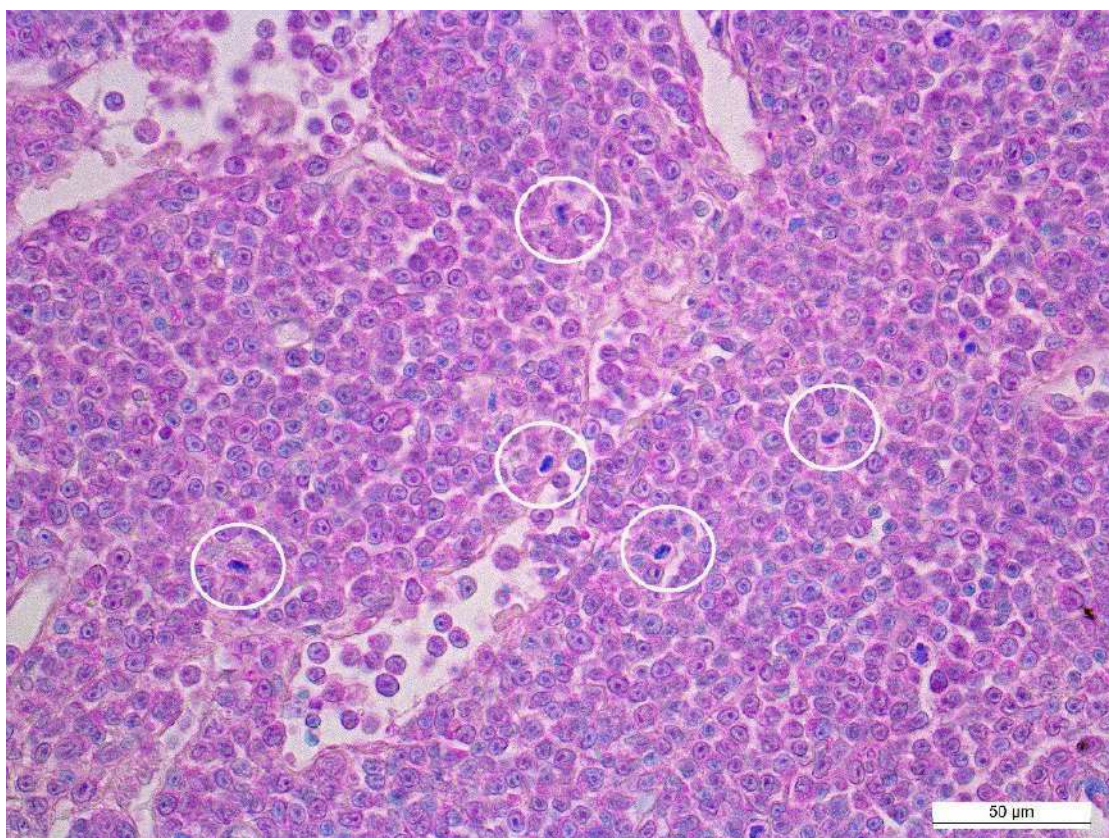


Рис. 3.20. Брижовий лімфатичний вузол. Клітини з атиповими мітозами (позначені в колі) серед мономорфних лімфобластів. Фарбування за Браше. х 400.

При патогістологічному дослідженні печінки котів виявляли периваскулярний тропізм неопластичних клітин (рис. 3.21, 3.22). В переважній більшості, лімфобластні клітини формували масивні фокуси навколо центральних вен, які були переповнені кров'ю, а також заповнювали простори синусоїдальних капілярів. Мікроскопічно гепатоцити знаходились у стані зернистої дистрофії, в центральній частині часточки – некрозу з вираженим пікнозом та каріолізісом. Неопластичні інфільтрати візуалізувались також і в селезінці та підшлунковій залозі. Червона пульпа селезінки дифузно інфільтрована лімфобластами на тлі порушення нормальної архітекτονіки органу (рис. 3.23). Пульпа забарвлена у червоний колір, лімфоїдні вузлики та трабекули практично не візуалізувались. Венозні синуси і судини розтягнуті та переповнені кров'ю. Крім того, відзначали появу значної кількості великих поліморфних мегакаріоцитів, які розміщувались дифузно по всій площі червоної пульпи (рис. 3.24, 3.25).

Взаємодія між пухлинними клітинами лімфоми та їх мікрооточенням відіграє важливу роль у злоякісності неоплазії. Тромбоцити та їхні клітини-попередники, мегакаріоцити, відіграють одну з ключових ролей у формуванні мікрооточення пухлини, адже клітини лімфоми потребують факторів росту та цитокінів для свого живлення. Тромбоцити, які виділяють тромбопоетин – головний цитокіновий регулятор мегакаріопоезу, що підтримує гомеостаз гемопоетичних стовбурових клітин та регулює утворення значної кількості мегакаріоцитів, які в даному випадку, сприяють системному запаленню через мікровезикули, сприяє подальшому прогресуванню пухлини та поширення в її інші органи. Нами встановлено, що у котів з аліментарною лімфомою в яких у селезінці та лімфатичних вузлах виявляли значну кількість мегакаріоцитів, відзначали посилене прогресування лімфоми із метастатичним ураженням печінки та підшлункової залози. Наявність аномальних гігантських клітин зі злоякісним потенціалом або неопластичними характеристиками є відносно поширеним явищем, що має важливе значення для розвитку неоплазій, подальшого їх прогресування або метастазування.

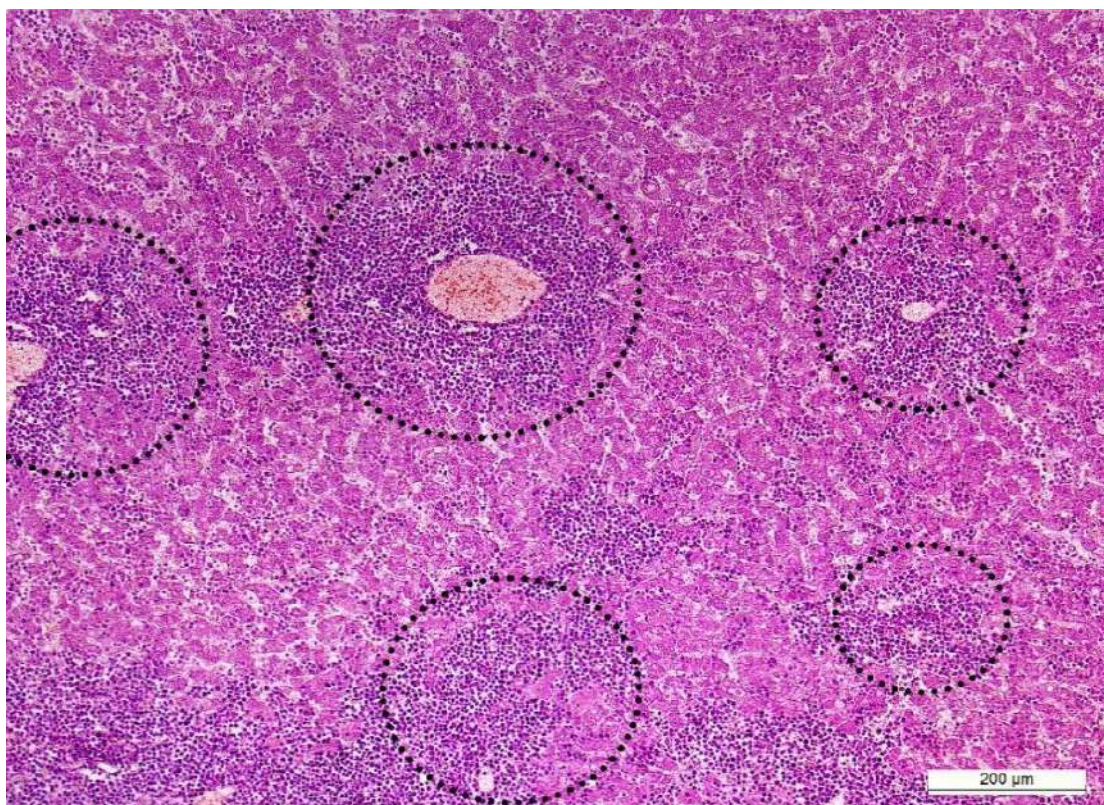


Рис. 3.21. Печінка кота. Периваскулярна інфільтрація лімфобластами паренхіми печінки (позначено в колі). Гематоксилін та еозин. х 100.

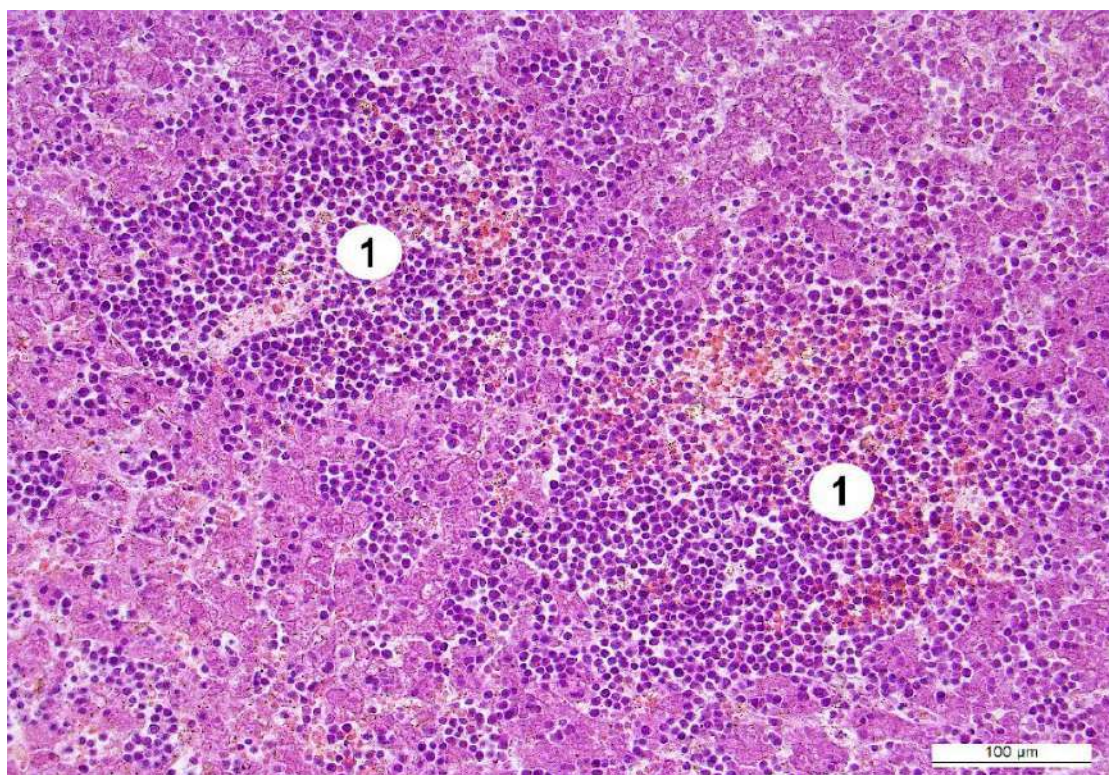


Рис. 3.22. Печінка кота. Мономорфні лімфобластні клітини в паренхімі печінки (1), зерниста дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін та еозин. х 200.

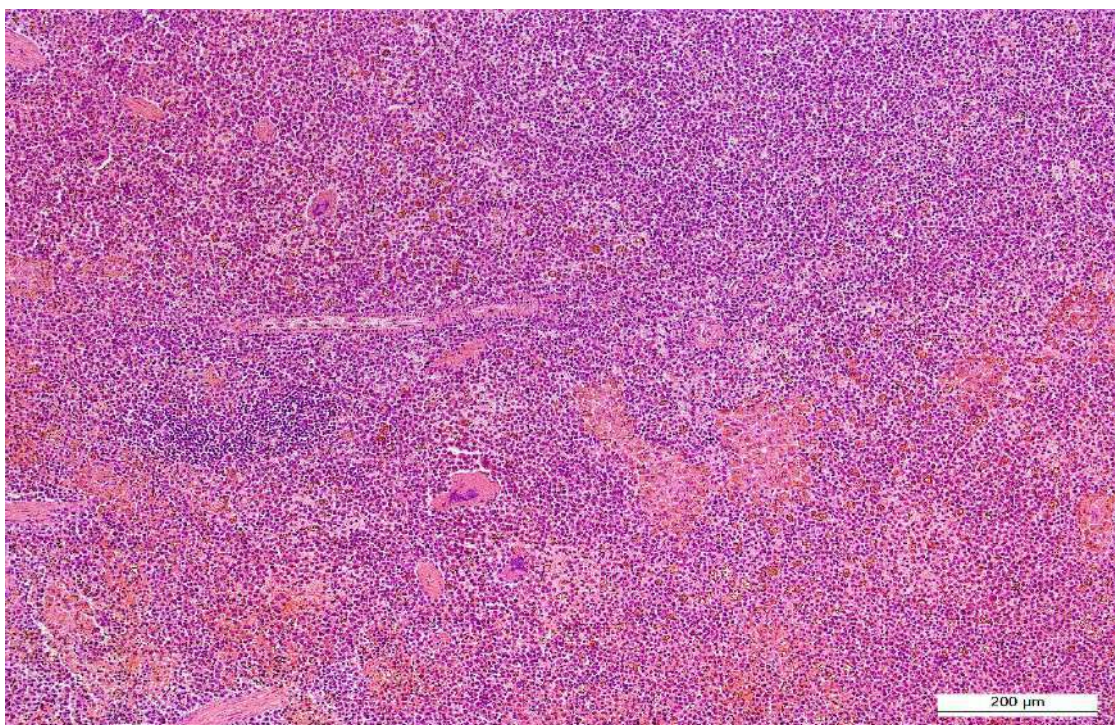


Рис. 3.23. Селезінка кота. Дифузна лімфобластна інфільтрація червоної пульпи селезінки. Гематоксилін та еозин. x 100.

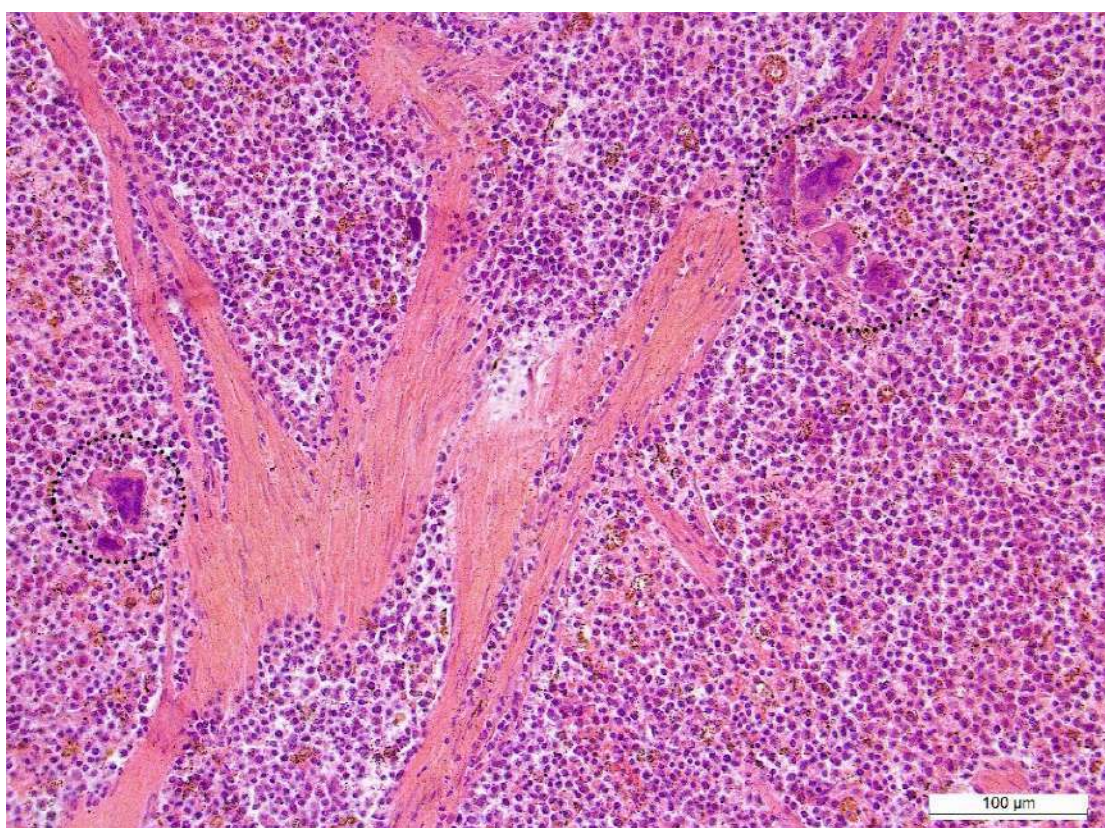


Рис. 3.24. Селезінка кота. Дифузна лімфобластна проліферація червоної пульпи, поява мегакаріоцитів (позначено в колі). Гематоксилін та еозин. x 200.

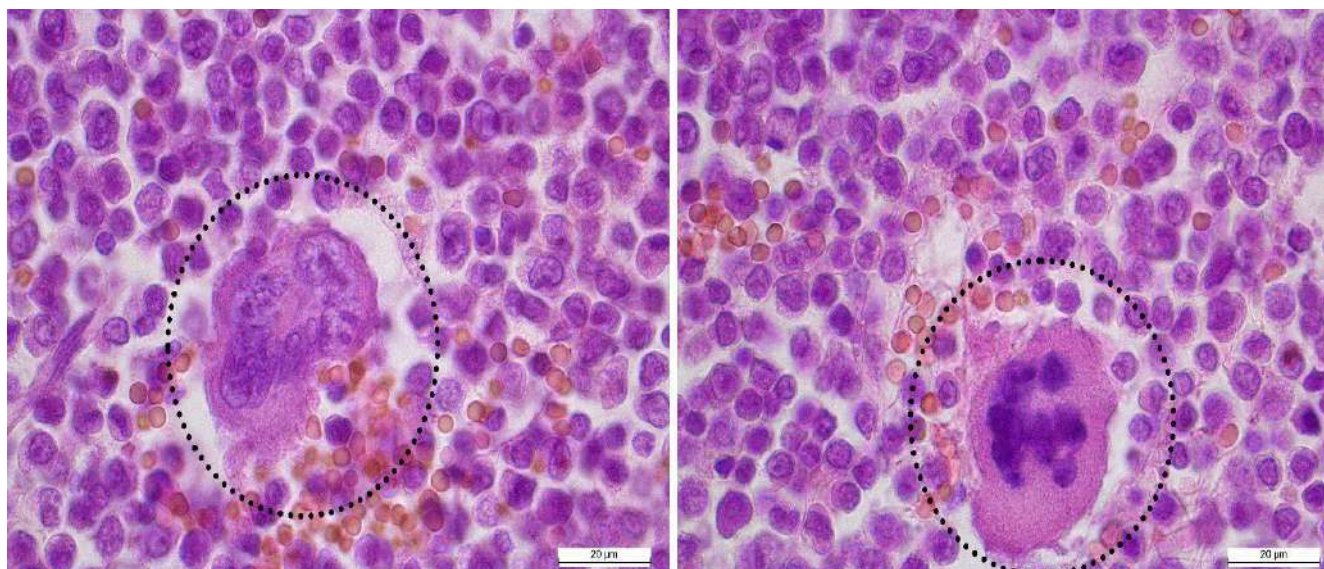


Рис. 3.25. Селезінка кота. Поліморфноядерні мегакаріоцити з гіперхромними ядрами. Гематоксилін та еозин. x 1000.

Мононуклеарну периваскулярну проліферацію виявляли і у підшлунковій залозі (рис. 3.26) з помірною інфільтрацією міжчасточкової сполучної тканини органу (рис. 3.27), атиповими мітозами, 2-3 в полях зору.

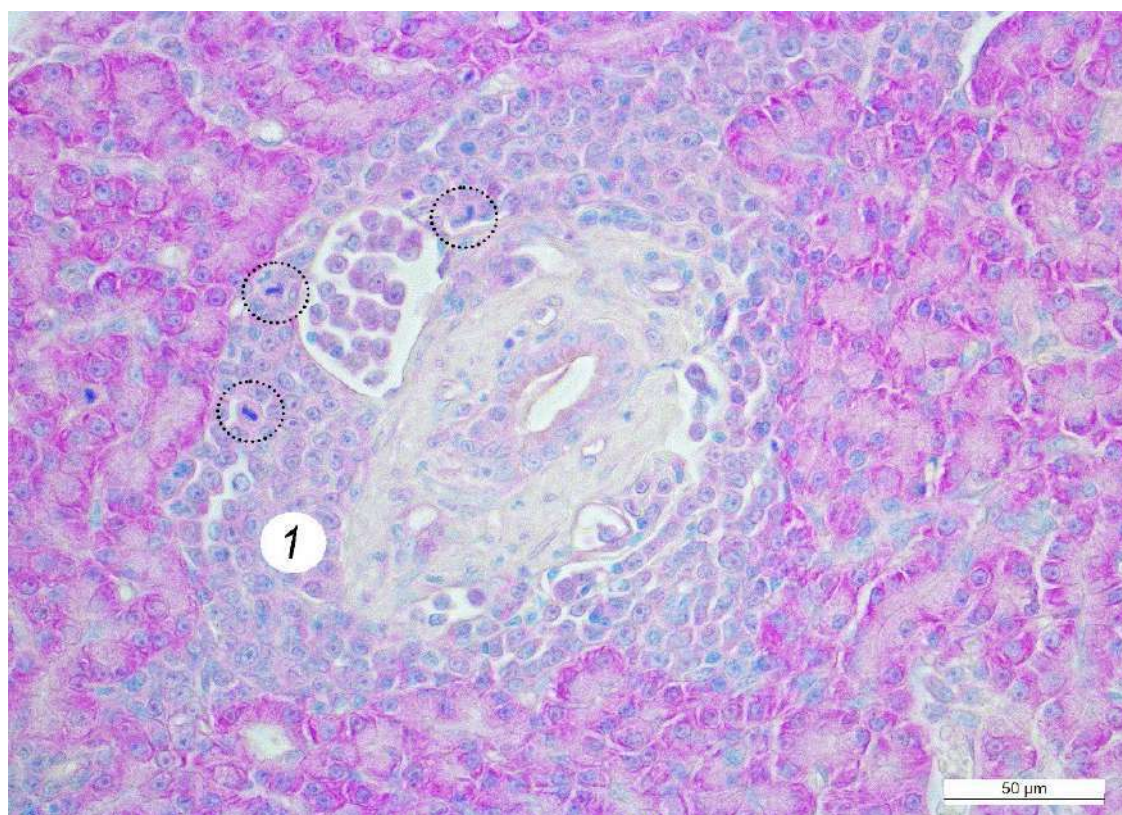


Рис. 3.26. Підшлункова залоза кота. Набряк стінки судини з проліферацією лімфобластними клітинами (1), мітози (позначені в колі). Фарбування за Браше. x 400.

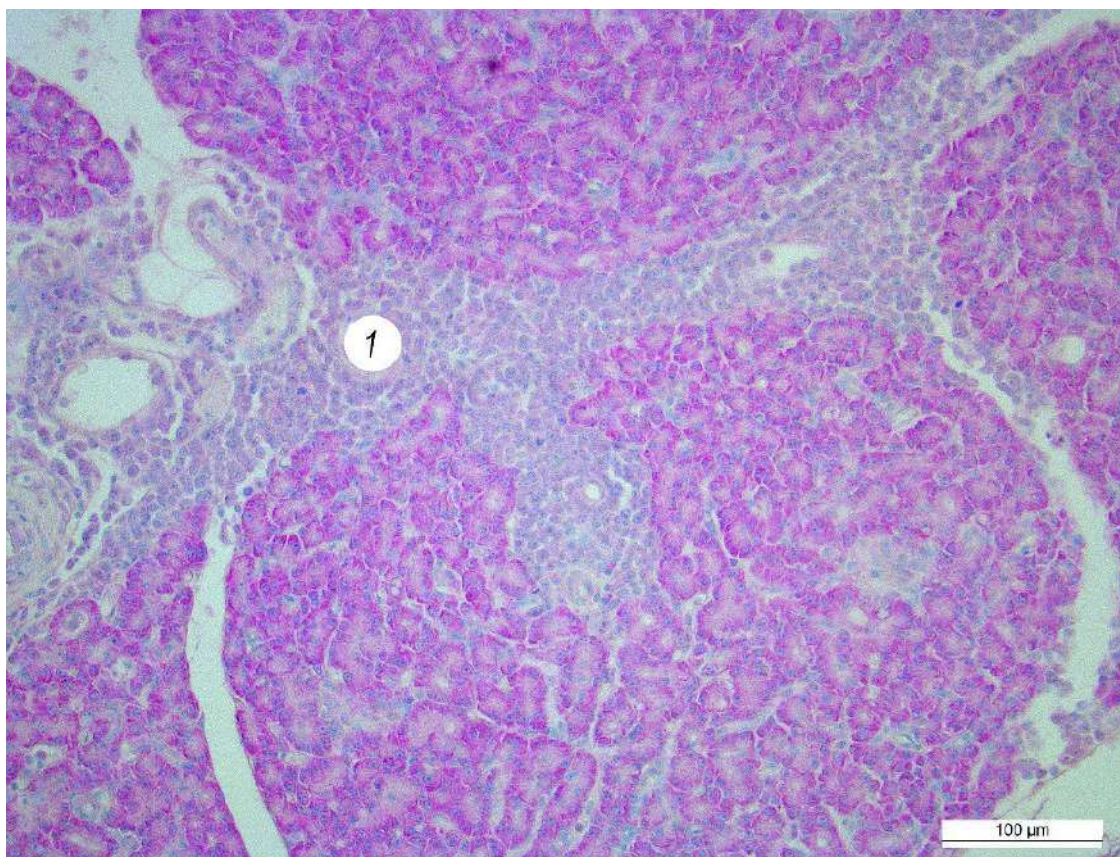


Рис. 3.27. Підшлункова залоза кота. Дифузна проліферація лімфобластними клітинами міжчасточкової сполучної тканини (1). Фарбування за Браше. х 200.

При діагностиці лімфоми у котів надважливим є застосування імуногістохімічних методів досліджень з метою верифікації фенотипу пухлини. У своїх дослідженнях нами застосовано Т-клітинний маркер – CD3 та В-клітинний маркер – CD 79а, що дозволило морфологічно їх диференціювати. За результатами досліджень встановлено, що тринадцять лімфом (76,5 %) мали позитивну експресію до маркера CD 79а (рис. 3.28, 3.29) та були класифіковані, як великоклітинні В-лімфобластні лімфоми у яких чітко візуалізувались крупні округлі ядра з вираженим центральним розміщеним ядерцем, негативні до CD 3 маркера (рис. 3.30). Тоді, як у 4 котів (23,5 %) встановлено виражену експресію до CD3 маркера, що дозволило верифікувати Т-клітинну лімфому (рис. 3.31) з поодинокими мітозами.

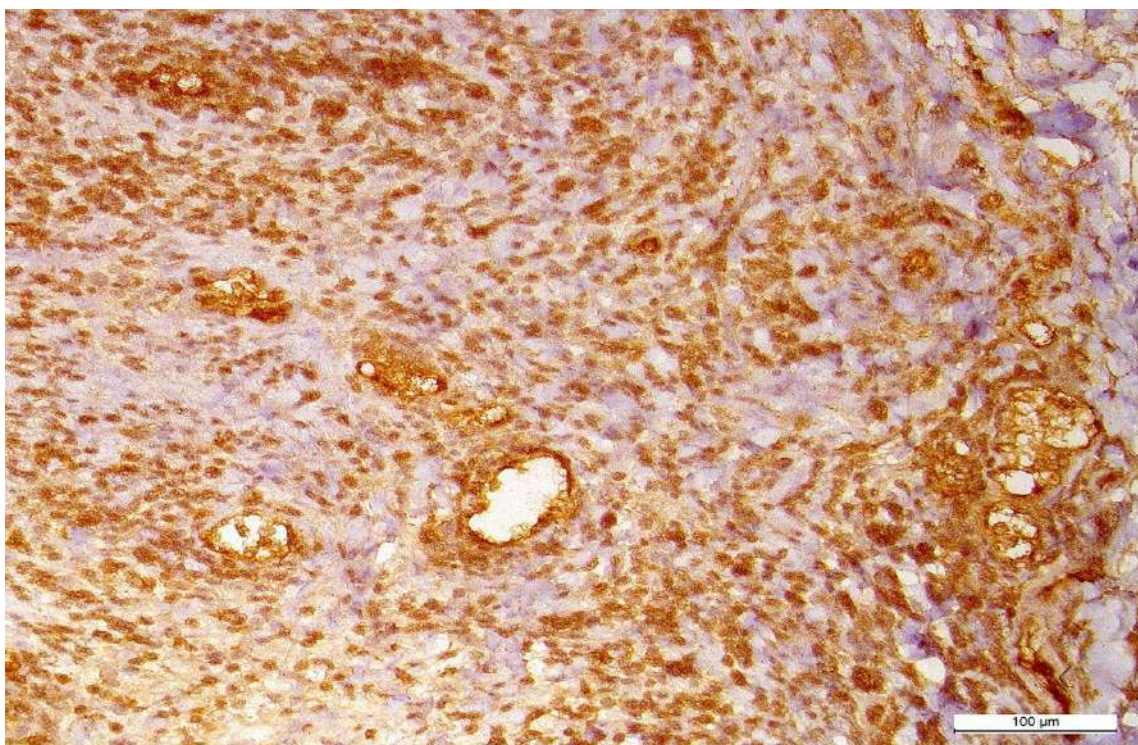


Рис. 3.28. Аліментарна В-клітинна лімфома. Інтенсивна експресія лімфобласних клітин CD79a+ у підслизовому шарі порожньої кишки. Імуногістохімічне забарвлення CD79a маркером. х 200.

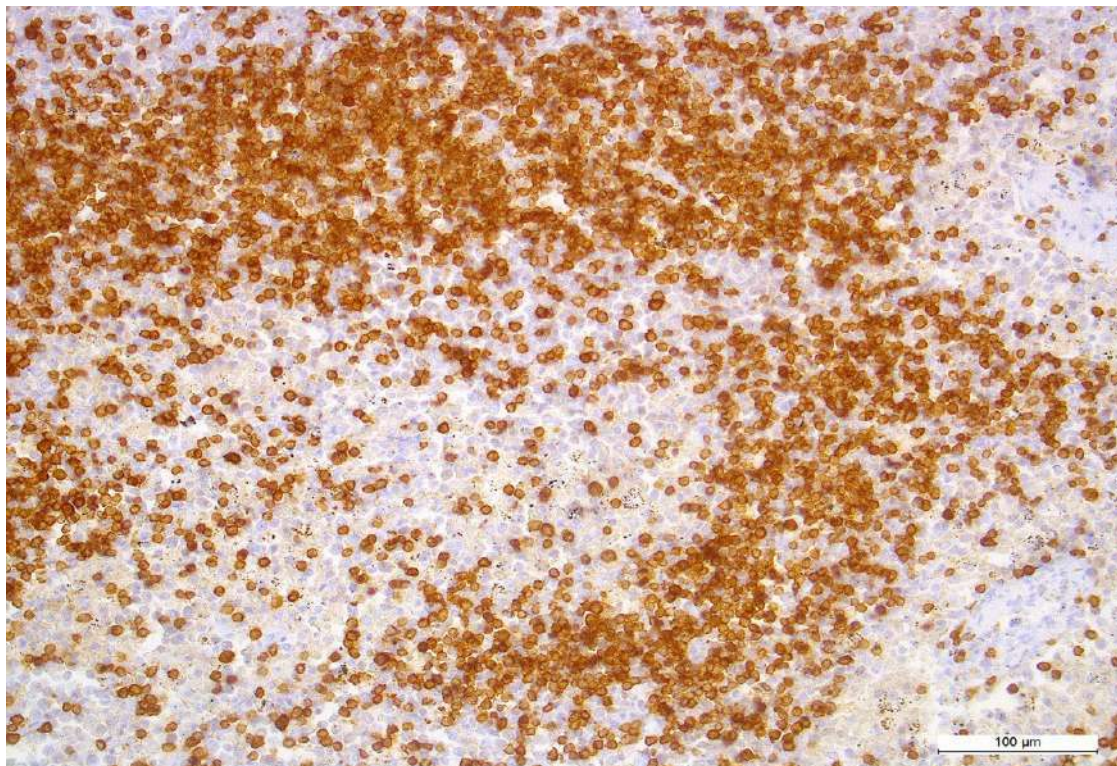


Рис. 3.29. Аліментарна В-клітинна лімфома. Брижовий лімфатичний вузол. Експресія лімфобласних клітин CD79a+ кортикальної зони. Імуногістохімічне забарвлення CD79a маркером. х 200.

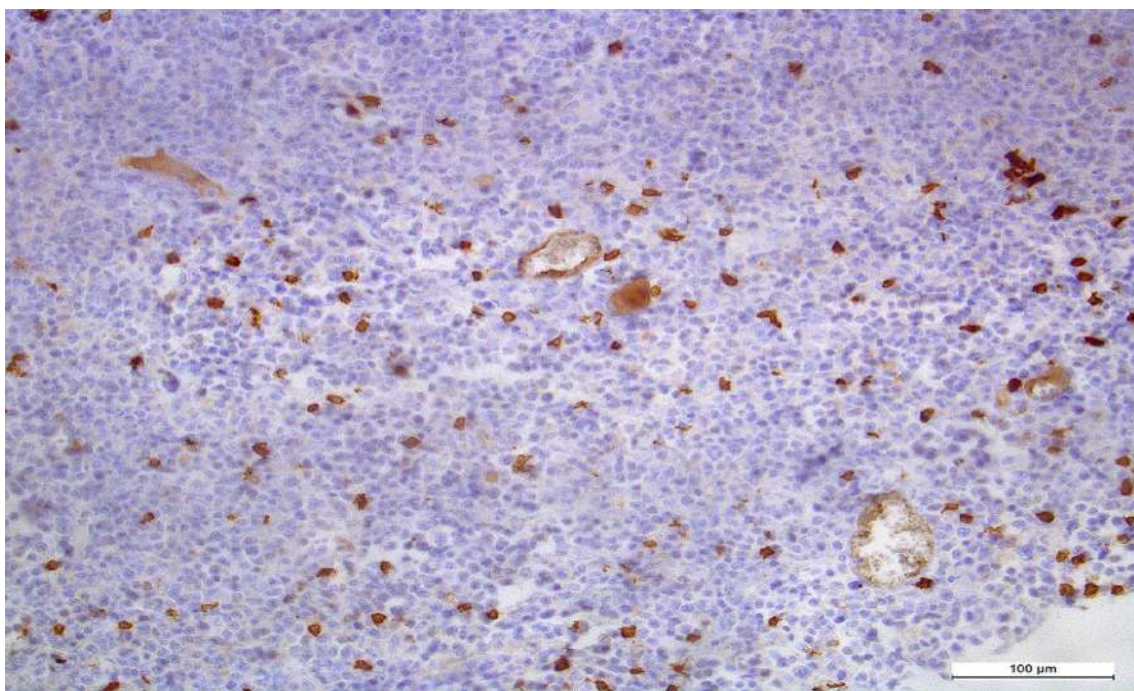


Рис. 3.30. Аліментарна форма В-клітинна лімфома. Брижовий лімфатичний вузол. Поодинокі лімфобласні клітини з позитивною експресією CD3 маркером. Імуногістохімічне забарвлення CD3 маркером. х 200.

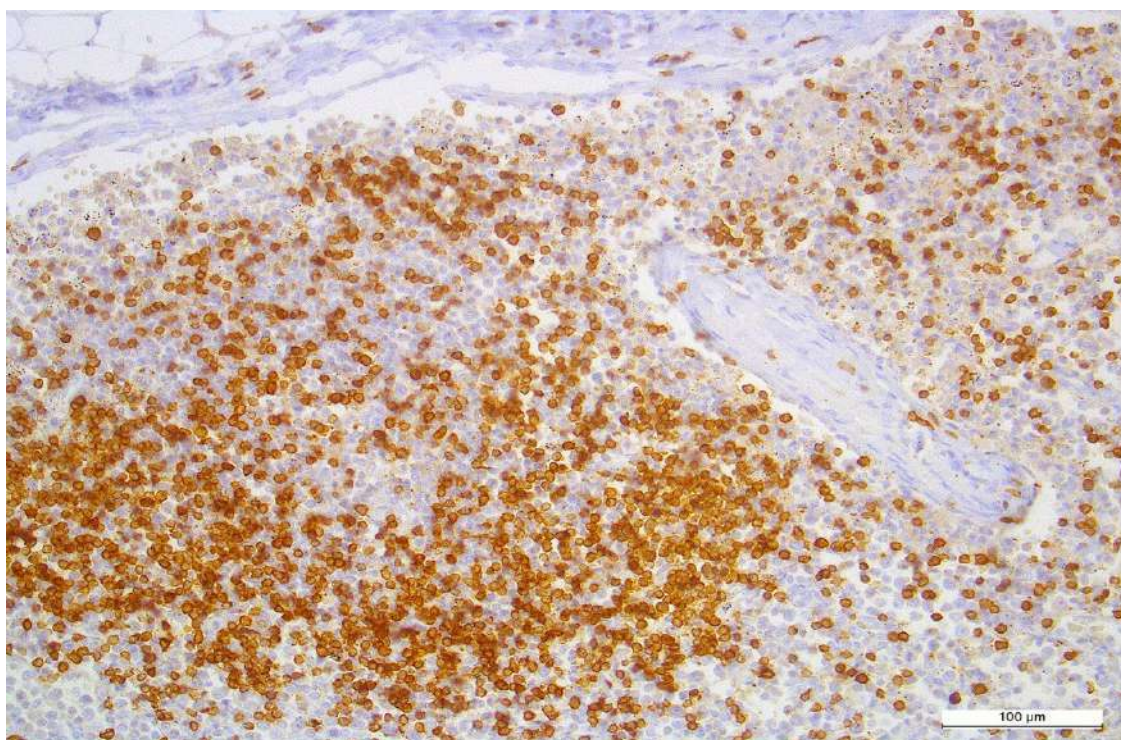


Рис. 3.31. Аліментарна Т-клітинна лімфома. Брижовий лімфатичний вузол. Інфільтрація лімфобластами кортикального шару лімфатичного вузла з інтенсивною CD3⁺ експресією. Імуногістохімічне забарвлення CD3 маркером. х 200.

За результатами оцінки проліферативної активності встановлено, що кількість Ki-67+ клітин незначна, становила за аліментарної В-лімфобластної лімфоми, в середньому, $9,27 \pm 2,2$ %, Т-лімфобластної – $5,17 \pm 1,4$ %. Вираженої закономірності щодо локалізації Ki-67+ клітин не виявлено, розміщувались хаотично та поодинокі (рис. 3.32). Таким чином, при аліментарній лімфомі з низьким рівнем клітинної проліферації, зазвичай будуть відзначати більшу стійкість до хіміо- або променевої терапії та вищі шанси рецидиву.

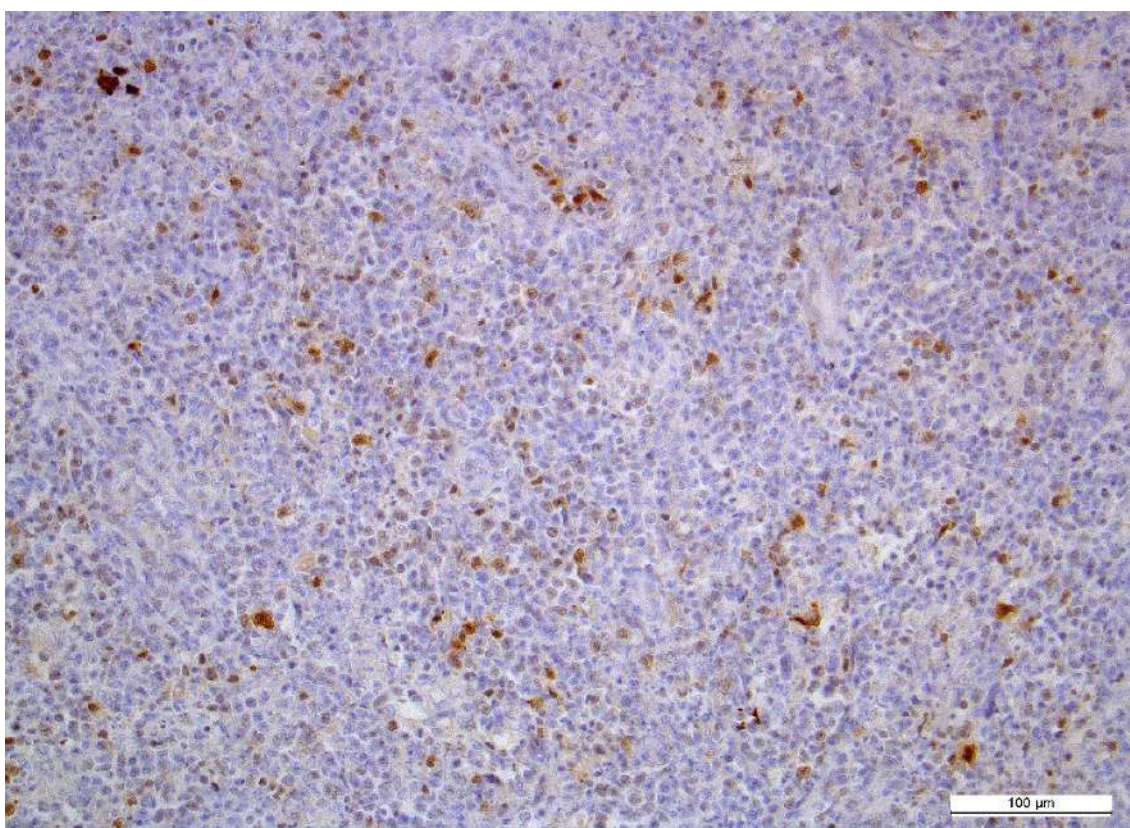


Рис. 3.32. Аліментарна лімфома. Лімфатичний вузол. Позитивна імунопероксидазна реакція клітин, мічених антитілами Ki-67. Імуногістохімічне забарвлення Ki-67 маркером. x 200.

Морфометричними дослідженнями встановлено, що площа цитоплазми лімфобластних клітин при В-клітинній та Т-клітинній аліментарній лімфомі у котів дещо варіювала і в середньому займала: при В-клітинній $38,72 \pm 1,68$ мкм², а при Т-клітинній $36,71 \pm 1,45$ мкм² (табл. 3.5). Натомість середня площа ядра при В-клітинній лімфомі становила $25,62 \pm 0,86$ мкм², а при Т-клітинній – $19,45 \pm 1,02$ мкм².

Ядерно цитоплазматичне відношення дорівнювало $0,66 \pm 0,02$ та $0,53 \pm 0,03$, відповідно.

Таблиця 3.5.

Морфометричні показники лімфобластних клітин при аліментарній лімфомі у котів (брижові лімфатичні вузли)

Показники	В-клітинна лімфома	Т-клітинна лімфома
Площа цитоплазми, мкм ²	$38,72 \pm 1,68$	$36,71 \pm 1,45$
Площа ядра, мкм ²	$25,62 \pm 0,86$	$19,45 \pm 1,02$
Ядерно-цитоплазматичне відношення	$0,66 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,03$

Аналізуючи тонку структуру клітинного пулу брижових лімфатичних вузлів у котів відзначили, що для більшості клітин характерними були крупні округлі або неправильної форми ядра з невеликою цитоплазмою (рис. 3.33). Ядерця розміщувались переважно ексцентрично. Іноді траплялись клітини з двома ядерцями, а також клітини з атиповими мітозами. Форма і розміри лімфобластних клітин варіювали. Ймовірно, саме за рахунок проліферації цих клітин і відбувається ріст пухлини.

Відомо, що основним механізмом утворення нових кровоносних судин у пухлинах є ангиогенез. Клітини лімфоми можуть індукувати утворення нових кровоносних судин за допомогою як ангиогенних, так і неангиогенних механізмів. Ангиогенез є прогностичним показником для пухлин, особливо для оцінки метастазування. Кровоносні судини лімфоми не утворюються на стадії цитогенезу, коли йде формування паренхіми новоутворення. По мірі організації гістологічної структури, дозрівання її компонентів, судини починають формуватись спершу в стромальних компонентах, згодом у паренхімі між лімфобластними клітинами. На напівтонких зрізах лімфатичного вузла між лімфобластними клітинами чітко візуалізувались різного розміру капіляри, навколо яких розміщувались лімфобласти (рис. 3.34).

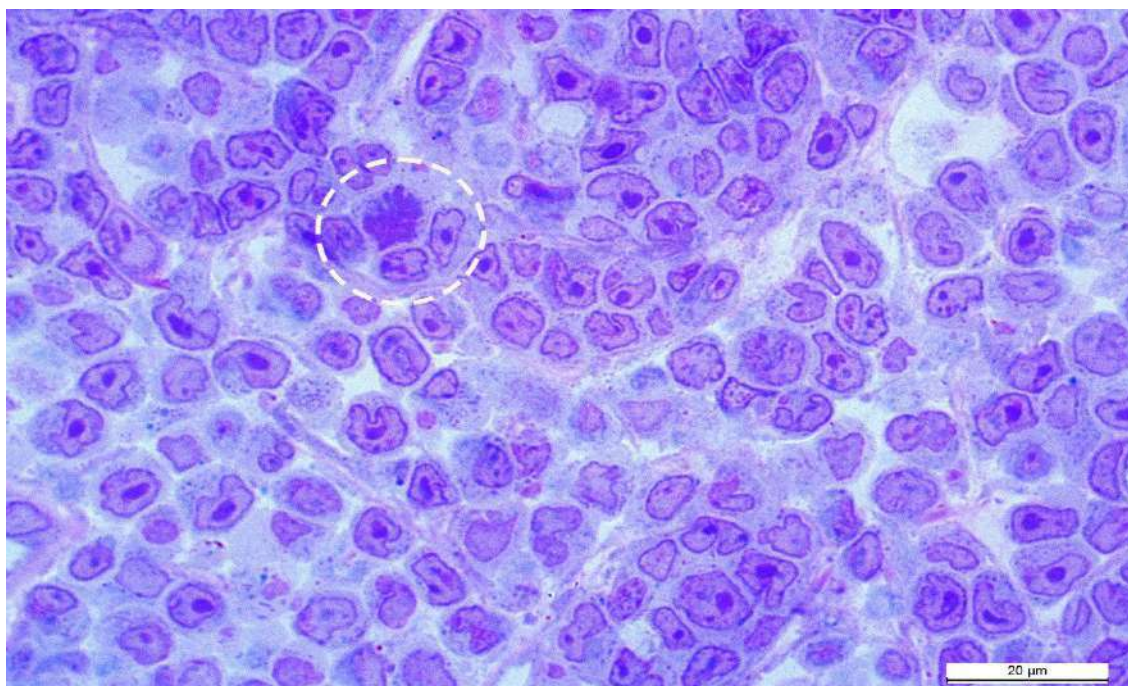


Рис. 3.33. Тонка морфологічна організація лімфобластних клітин лімфатичного вузла kota. В-клітинна аліментарна лімфома. Атиповий мітоз (позначено в колі). Лімфобластні клітини з ядрами різної форми. Напівтонкі зрізи забарвлені метиленовим синім. x 1000.

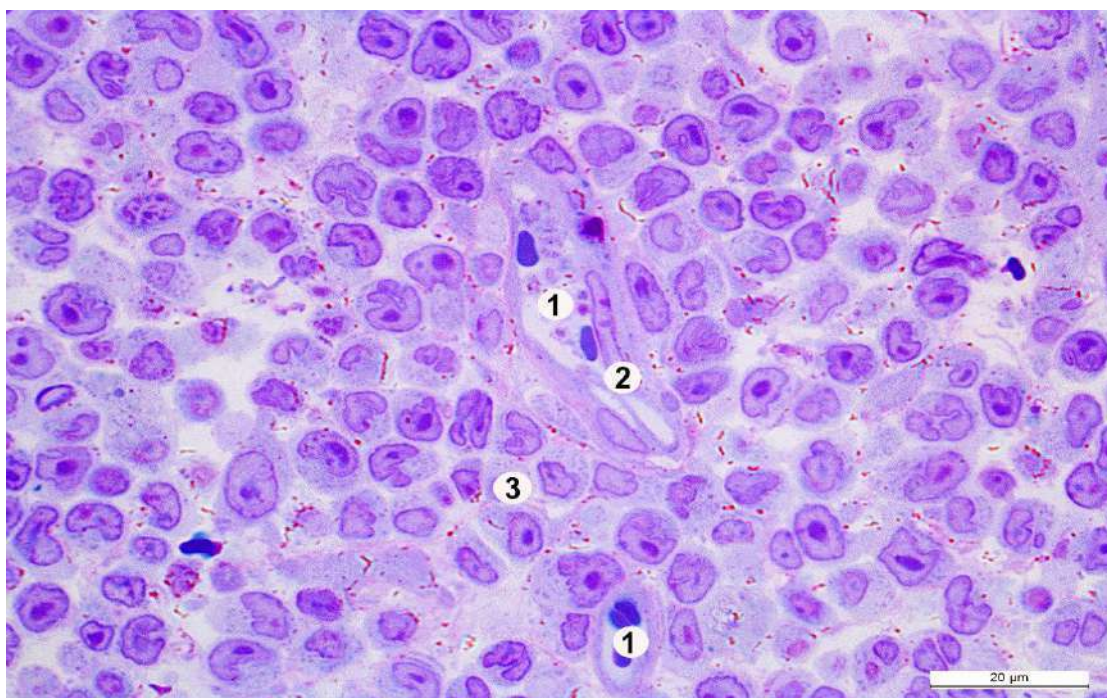


Рис. 3.34. Морфологічна організація В-клітинної аліментарної лімфоми. Просвіт капілярів (1), ендотеліоцит (2). Лімфобластні клітини з великими атиповими ядрами (3). Напівтонкі зрізи забарвлені метиленовим синім із дофарбуванням еозином. x 1000.

При визначенні морфометричних параметрів лімфобластних клітин брижових лімфатичних вузлів на напівтонких зрізах, у порівнянні з гістологічними препаратами, було встановлено деякі відмінності. Цитоплазма лімфобластних клітин при В-клітинній лімфомі займала дещо більшу площу і становила $47,03 \pm 1,34$ мкм², площа ядра дорівнювала $30,87 \pm 1,16$ мкм², площа ядерця – $3,39 \pm 0,51$ мкм². При Т-клітинній аліментарній лімфомі у котів лімфобласти були дещо меншими, площа цитоплазми займала $45,06 \pm 1,76$ мкм², площа ядра – $24,71 \pm 0,92$ мкм² і $2,25 \pm 0,43$ мкм² становила площа ядерця (табл. 3.6). Незважаючи на більші розміри клітин, ядерно-цитоплазматичне відношення залишалось незмінним і дорівнювало, при В-клітинній лімфомі $0,66 \pm 0,21$, Т-клітинній $0,54 \pm 0,11$. Крім того, визначили ядерно-ядерцеве відношення у лімфобластних клітинах при В-клітинному фенотипі, що становило $0,11 \pm 0,01$, Т-клітинному фенотипі – $0,09 \pm 0,01$.

Таблиця 3.6.

Морфометричні показники лімфобластних клітин при аліментарній лімфомі у котів (брижові лімфатичні вузли), отримані на напівтонких зрізах

Показники	В-клітинна лімфома	Т-клітинна лімфома
Площа цитоплазми, мкм ²	$47,03 \pm 1,34$	$45,06 \pm 1,76$
Площа ядра, мкм ²	$30,87 \pm 1,16$	$24,71 \pm 0,92$
Площа ядерця, мкм ²	$3,39 \pm 0,51$	$2,25 \pm 0,43$
Ядерно-цитоплазматичне відношення	$0,66 \pm 0,21$	$0,54 \pm 0,11$
Ядерно-ядерцеве відношення	$0,11 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$

Отже, виявлене нами збільшення ядерного-цитоплазматичного та ядерно-ядерцевого відношення клітинного пулу лімфатичних вузлів котів за різних типів аліментарної лімфоми вказує на ознаки клітинної атипії та їх подальшу малігнізацію.

3.2.3. Ультраструктурні зміни в брижових лімфатичних вузлах котів за аліментарної лімфоми

За ультрамікроскопічного дослідження лімфатичних вузлів котів нами було відмічена проліферація зрілих та незрілих клітин лімфоїдного ряду. Зрілі клітини, які займали незначну частину туморозних утворень, фактично не містили специфічних відхилень, тоді як популяція лімфобластичних клітинних елементів була достатньо неоднорідною (рис. 3.35). Ступінь диференціювання нуклеоплазми, на нашу думку, є одним із головних критеріїв для визначення зрілості клітин лімфоїдного ряду. Нами встановлено, що клітини з низьким ступенем диференціювання вирізнялись значними розмірами, мали невисоке ядерно-цитоплазматичне відношення. Нуклеоплазма в цих клітинах була більш прозорою, хроматин розміщувався рівномірно по периферії ядра, ядерця переважно крупні (рис. 3.36).

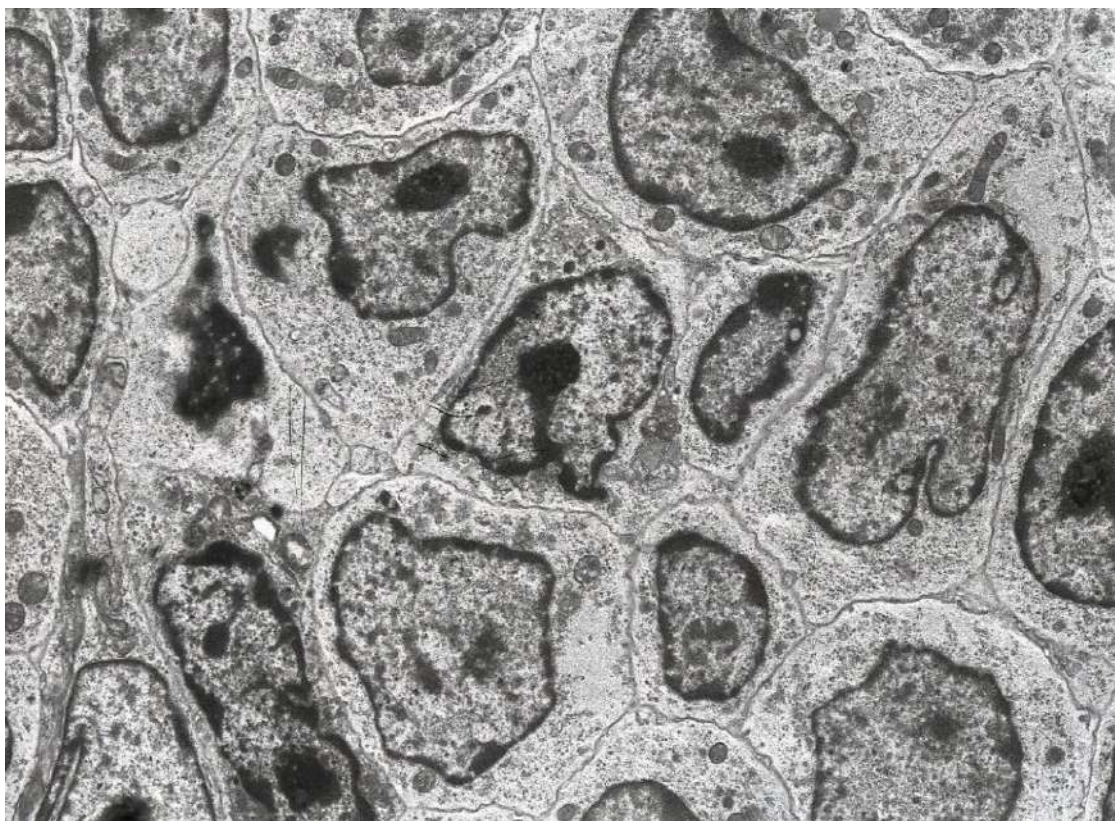


Рис. 3.35. Лімфосаркома. Різні за розмірами лімфобластні клітини з ядрами неправильної форми з ядерними інвагінаціями та високою електронною щільністю ядерця. В цитоплазмі наявні поодинокі мітохондрії. x 4000.

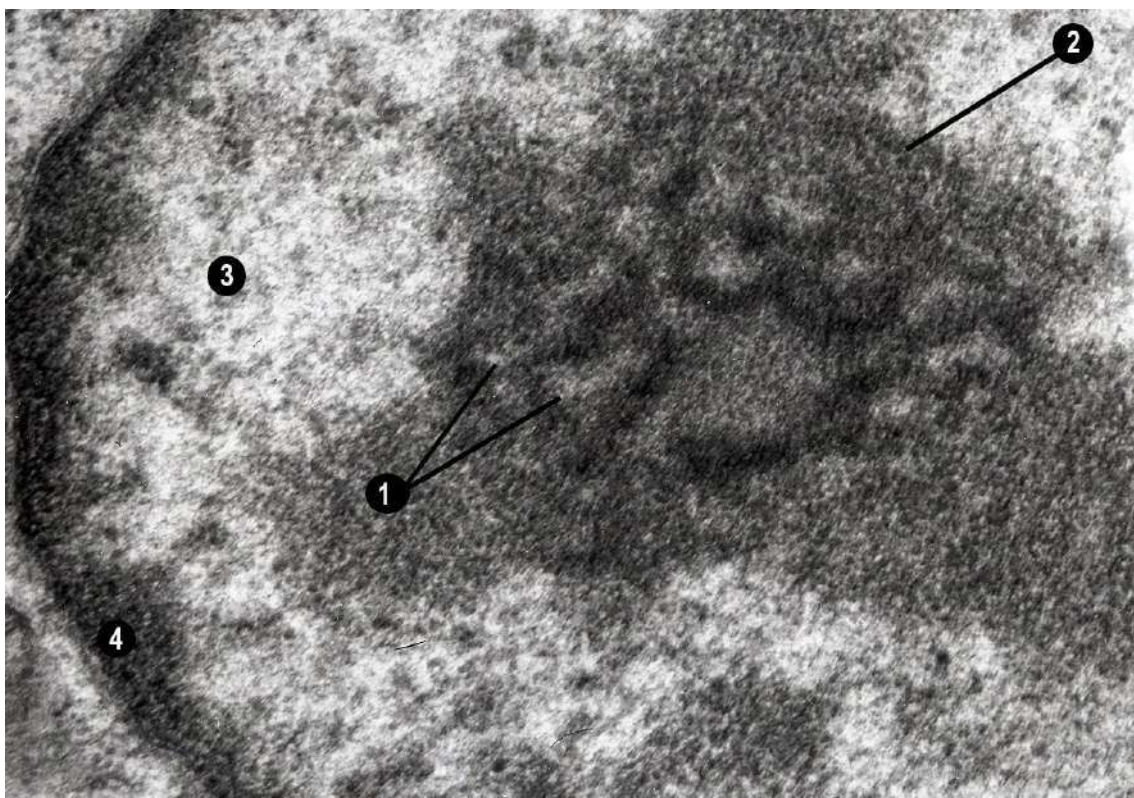


Рис. 3.36. Гіпертрофоване ядерце з невираженими фібрилярними центрами та вираженою волокнистою (2) і зернистою (1) речовиною. Еухроматин (3), гетерохроматин (4). x 29000.

У цих клітинах спостерігалась значна кількість вільних рибосом, полірибосом. Траплялись везикули і цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, комплекс Гольджі, мітохондрії.

Більш диференційовані клітини дещо меншого розміру з високим ядерно-цитоплазматичним відношенням, нуклеоплазма в цих клітин чітко диференційована на електроннощільні та електроннопрозорі ділянки. Ядерця темні, дещо кільцевидні з вираженими фібрилярними та гранулярними центрами (рис. 3.37, 3.38). У цитоплазмі відмічена значна кількість рибосом, де-не-де містились мультивезикулярні тільця та тільця Голла, що представлені у вигляді електроннощільних осміофільних гранул, оточених одношаровою мембраною. Ультраструктурно відзначали між цими двома типами клітин перехідні форми.

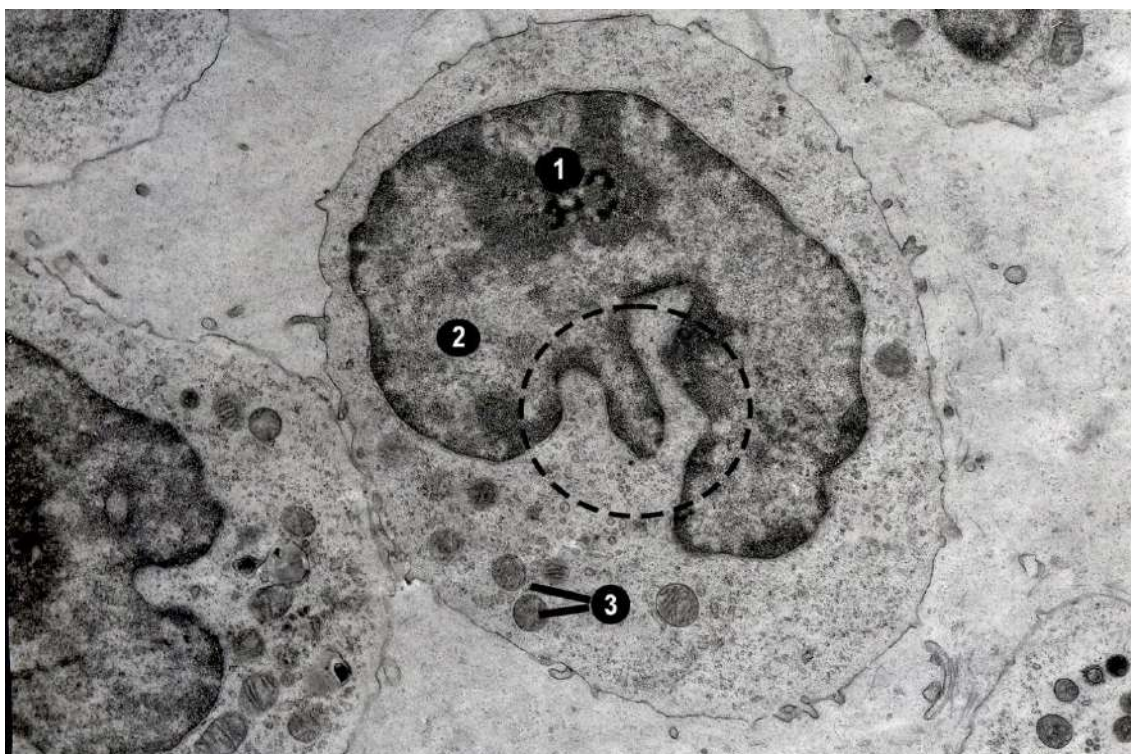


Рис. 3.37. Лімфобласт. Інвагінація каріолеми (в колі), ядерце з фібрилярними центрами та гранулярними центрами (1). Еухроматин (2), мітохондрії (3). х 6000

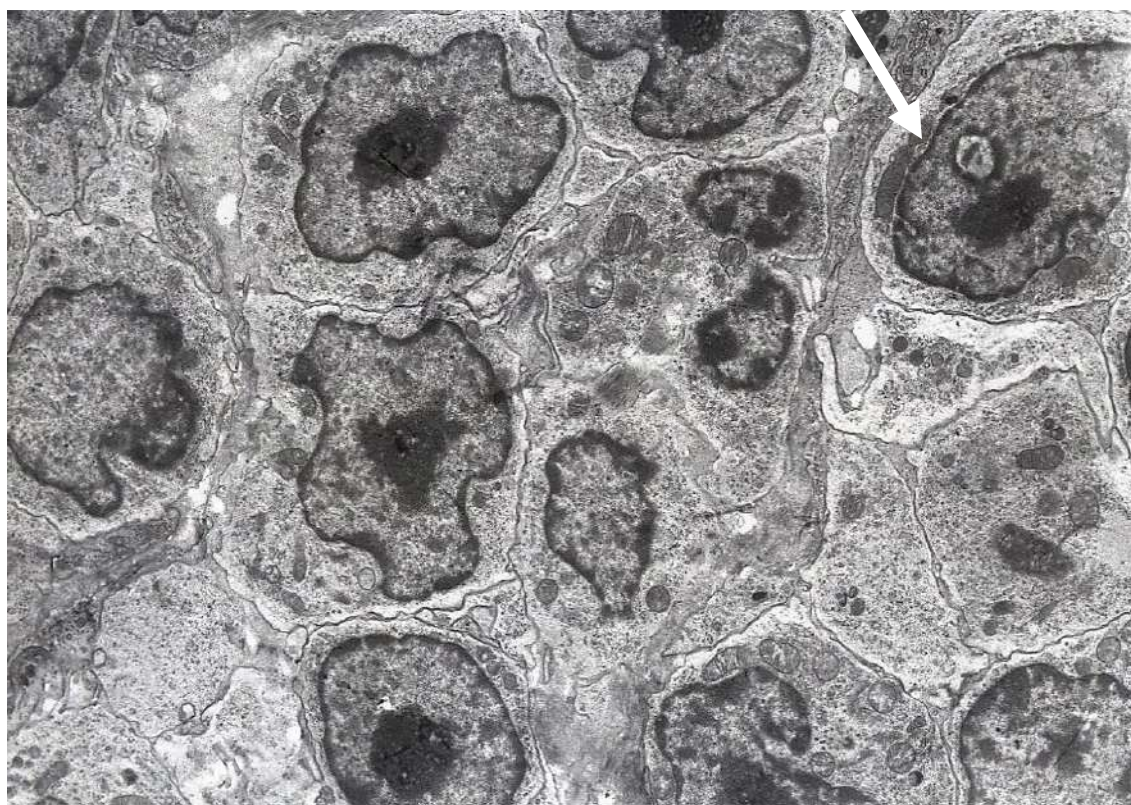


Рис. 3.38. Лімфосаркома. Гіпертрофія ядерця, інвагінації каріолеми, вакуолізація каріоплазми (стрілка). х 4000.

На електронограмах відмічено наявність клітин двох типів – з округлими ядрами та ядрами з інтердигітальними інвагінаціями ядерної мембрани, інколи навіть до сегментації ядра з утворенням ядерних кишень та вакуолізацією цитоплазми (рис. 3.38), інтрацитоплазматичними включеннями, розширеними просторами між кристами та структурними дефектами у мітохондріальному матриксі (рис. 3.39, 3.40, 3.41). Поява цих клітинних елементів, на нашу думку, свідчить про несприятливий перебіг захворювання.

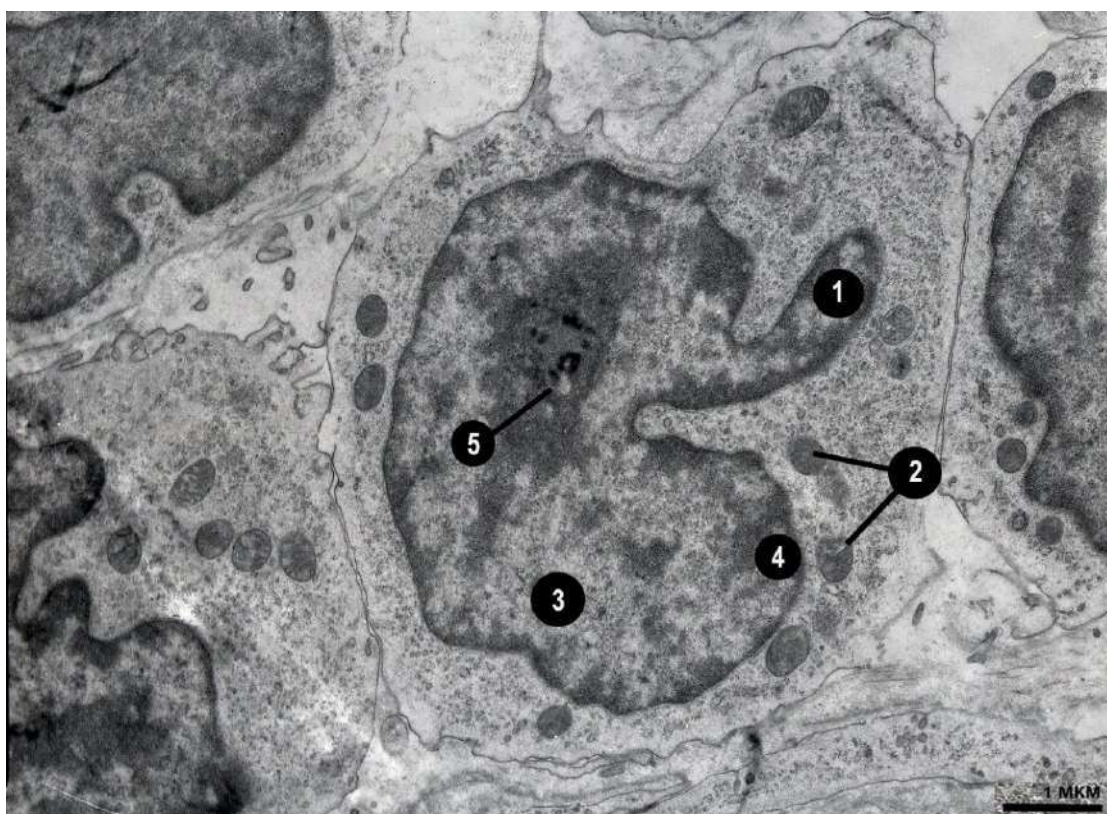


Рис. 3.39. Лімфобласт. Значні інвагінації каріолеми (1) з осмофільною волокнистою речовиною, незначною кількістю мітохондрій (2). Еухроматин (3), гетерохроматин (4), фібрилярний центр (5), гранулярний центр. х 6000.

Клітини округлої форми з округлими ядрами, переважно середніх та великих розмірів, на нашу думку, відповідали лімфобластам I та II типу. Ядра неправильної округлої форми, рідко траплялись клітини з порізаними контурами плазматичної мембрани, хроматин дисперсний, цитоплазма незначна, містила поодинокі мітохондрії та профілі гранулярного ендоплазматичного ретикулуму.

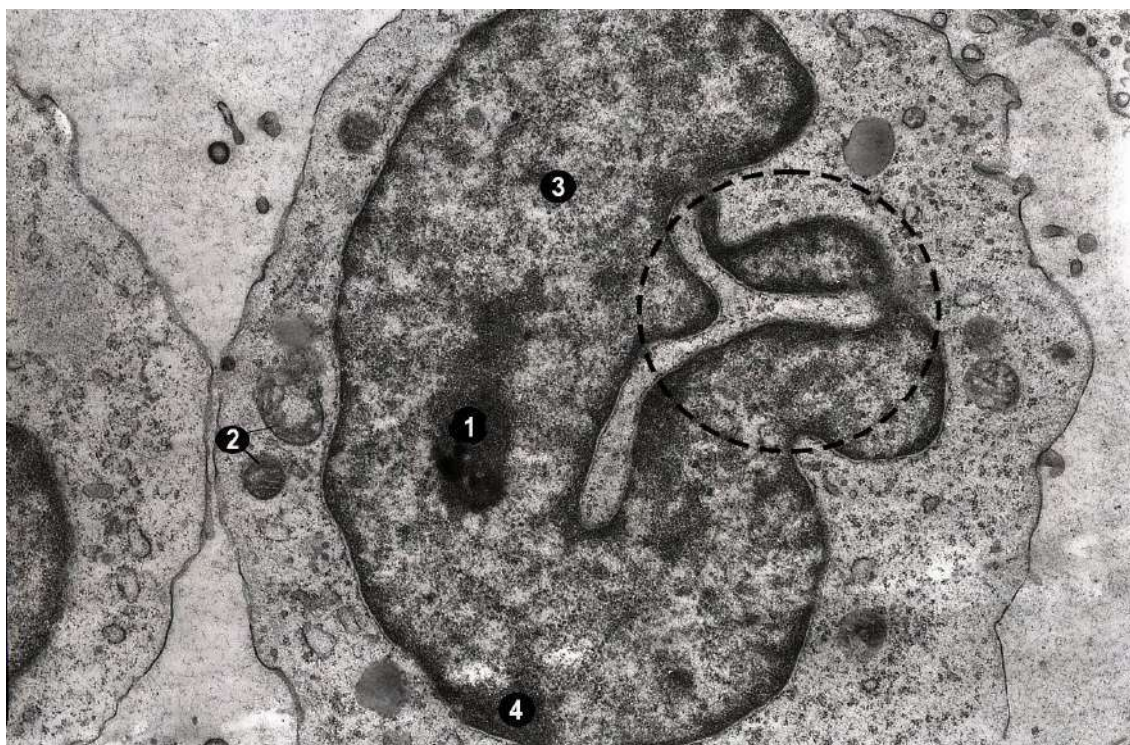


Рис. 3.40. Лімфобласт. Значні інвагінації ядра (в колі), ядерце (1), мітохондрії (2), еухроматин (3), гетерохроматин (4). x 8000.

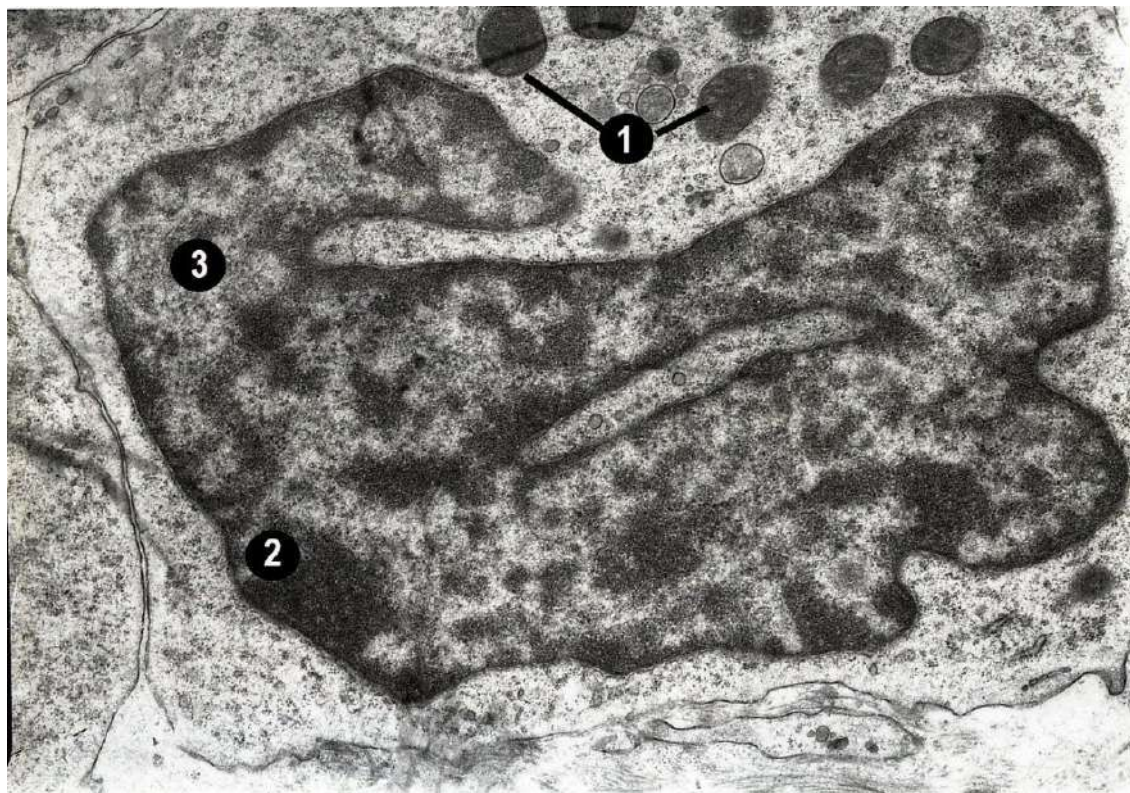


Рис. 3.41. Інтердигітуюча ретикулярна клітина паракортикальної зони лімфатичного вузла. Мітохондрії (1), гетерохроматин (2), еухроматин (3). x 8000.

В цитоплазмі багато рибосом, полісом, мітохондрій, поодинокі наявні мієлінові структури (рис. 3.42). Ядерце гіпертрофоване, електронно щільне з вираженими фібрилярними центрами (рис. 3.43). Клітини другого типу містили ядра з глибокими інвагінаціями, що надавали їм звивистого характеру. Нуклеолема, у переважній більшості, неправильної форми. Наявна значна кількість відкритих ядерних пор. У ядрах, крім інтердигітуючих інвагінацій чітко візуалізуються різних розмірів вакуолі (рис. 3.43). Основна маса цитоплазми цих клітин заповнена чисельними рибосомами та полісомами, мітохондріями з чітко вираженими кристами (рис. 3.44). Гетерохроматин розміщувався по периферії у вигляді щільних грудок, еухроматин просвітлений, розміщувався, переважно в центральній частині ядра.

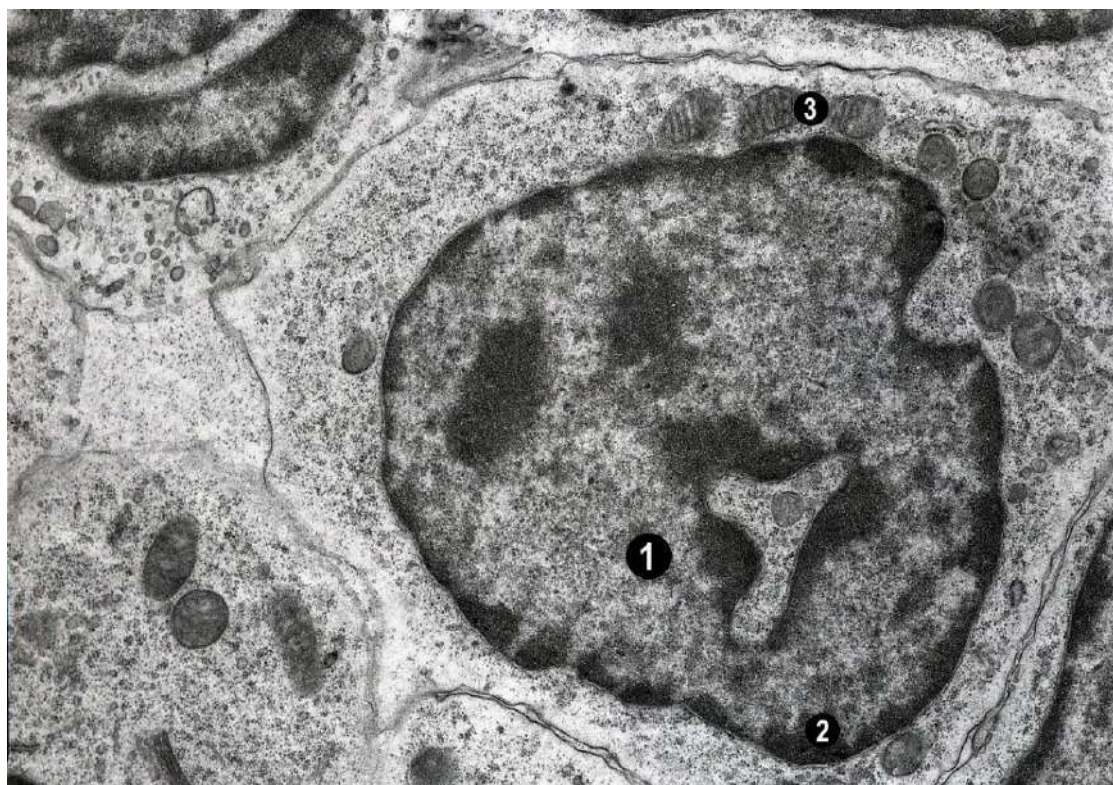


Рис. 3.42. Лімфобласт. Еухроматин (1), гетерохматин (2), мітохондрії (3), інвагінації ядра. x 8000.

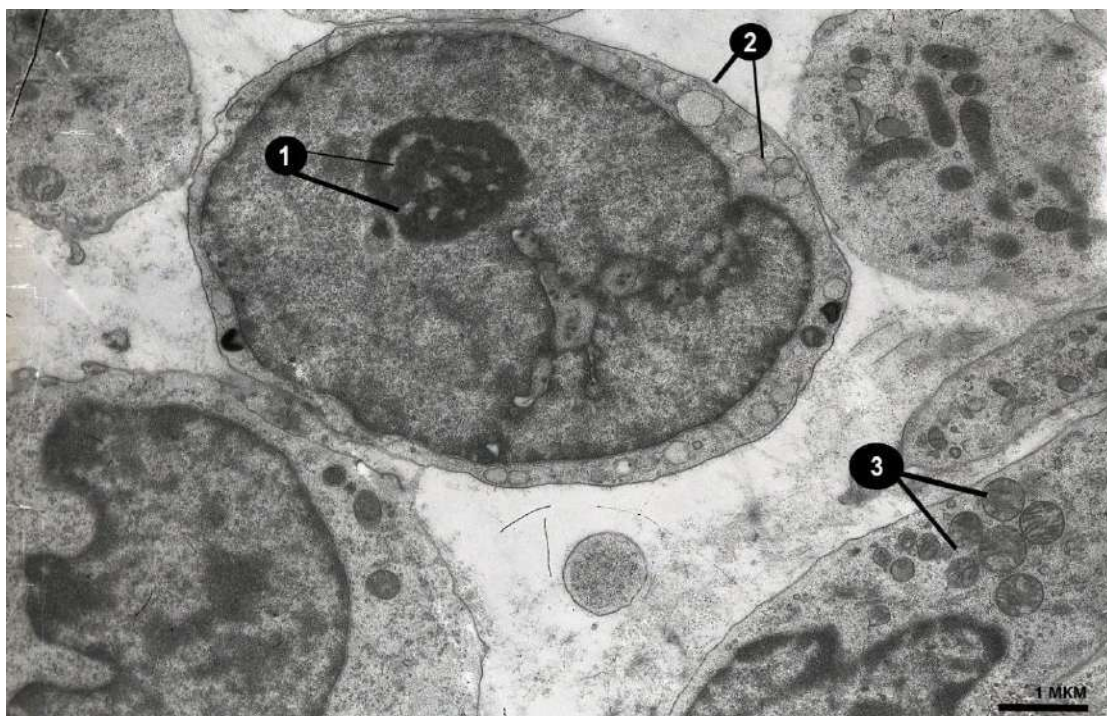


Рис. 3.43. Лімфобласти. Гіпертрофоване електронно щільне ядерце з вираженими фібрилярними центрами (1), чисельна вакуолізація нуклеоплазми (2), мітохондрії (3). x 6000.



Рис. 3.44. Лімфобласт. Інвагінація каріолеми (в колі), цитоплазма містить мітохондрії (1) та рибосоми, ядерце (2), ядерні пори (3). x 8000.

Кровоносне русло лімфоми, в основному, представлене капілярами, диференціювання яких зі збільшенням новоутворення відносно та проявляється збільшенням у внутрішньому шарі ендотеліоцитів, наявністю перицитів, вазодилатацією, потовщенням шару колагенових волокон.

Просвіт гемокапілярів заповнений плазмою помірної електронної щільності, перицити містять ядра з вираженими ядерцями у яких візуалізуються гранулярні центри. Ядерні пори місцями відкриті з рівномірним розміщенням еухроматину, який знаходився у центральній частині ядра та гетерохроматином, що локалізувався периферично нуклеолеми. У цитоплазмі наявні поодинокі мітохондрії, рибосоми, елементи комплексу Гольджі. Перицити гемокапілярів містили видовжені ядра, подекуди наявне розширення пластинчастого комплексу. В цитоплазмі проглядались осміофільні гранули та поодинокі мітохондрії. На люмінальній поверхні візуалізувались мікропіноцитозні везикули. Мітохондрії, здебільшого, округлі з вираженими кристами, помірно осміофільні. Міжклітинні з'єднання представлені півскладними стиками. Гемокапіляри оточені базальною мембраною, місцями дещо розволоненою із незначним набряком (рис. 3.45, 3.46). Основна маса ендотеліальних клітин представлена світлими клітинами. Відсутні м'язеві та еластичні волокна.

Відсутність чіткого диференціювання судинної стінки продиктовано спрощенням та розвитком по ембріональному типу. Також слід зазначити, що рушійною силою неоангіогенезу пухлини є гіпоксія, тому фрагменти новоутворення зі слабкою васкуляризацією проявляють в своєму клітинному складі ознаки диференціації, у порівнянні з оточуючою тканиною. Саме нерівномірність ангіопроліферативних процесів веде до ензиматичного дисбалансу, що проявляється різним ступенем гліколітичних та окисно відновних процесів. Циклічні повторення процесів бластної трансформації призводять до значної диференціації, зникнення просторової гетерогенності тканини та зниження системного тканинного поліморфізму.

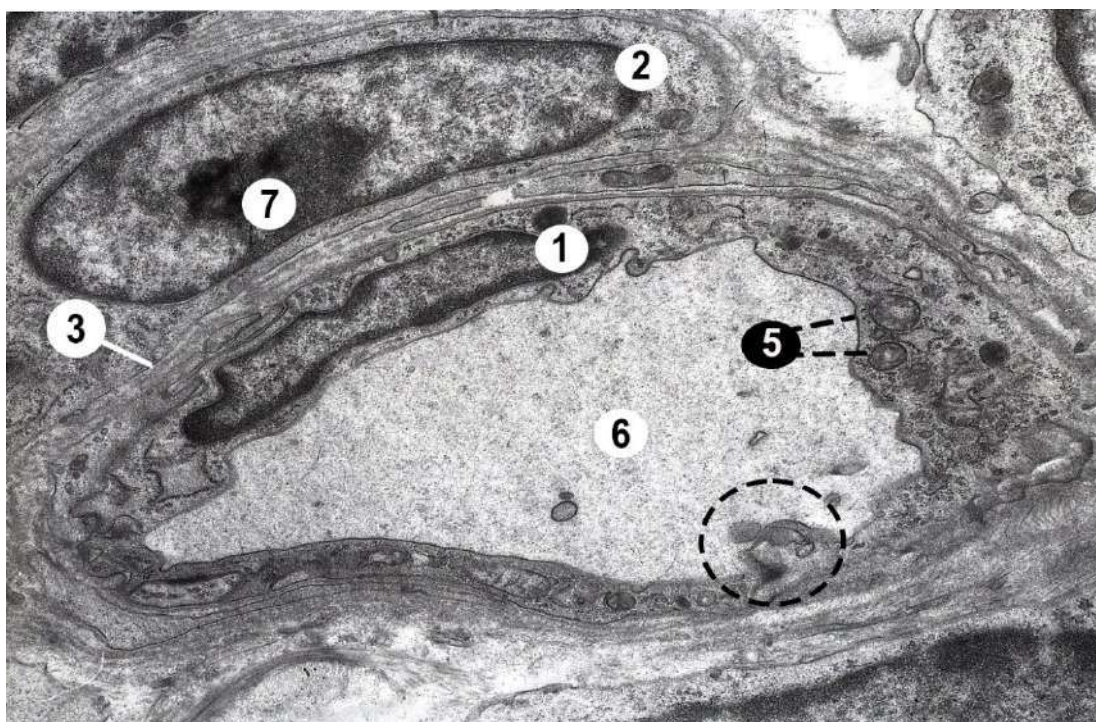


Рис. 3.45. Капіляр. Ендотеліоцит (1), перицит (2), базальна мембрана (3), мікропіноцитозна везикула (в колі), мітохондрії (5), просвіт капіляра (6), ядро перицита (7). x 8000.

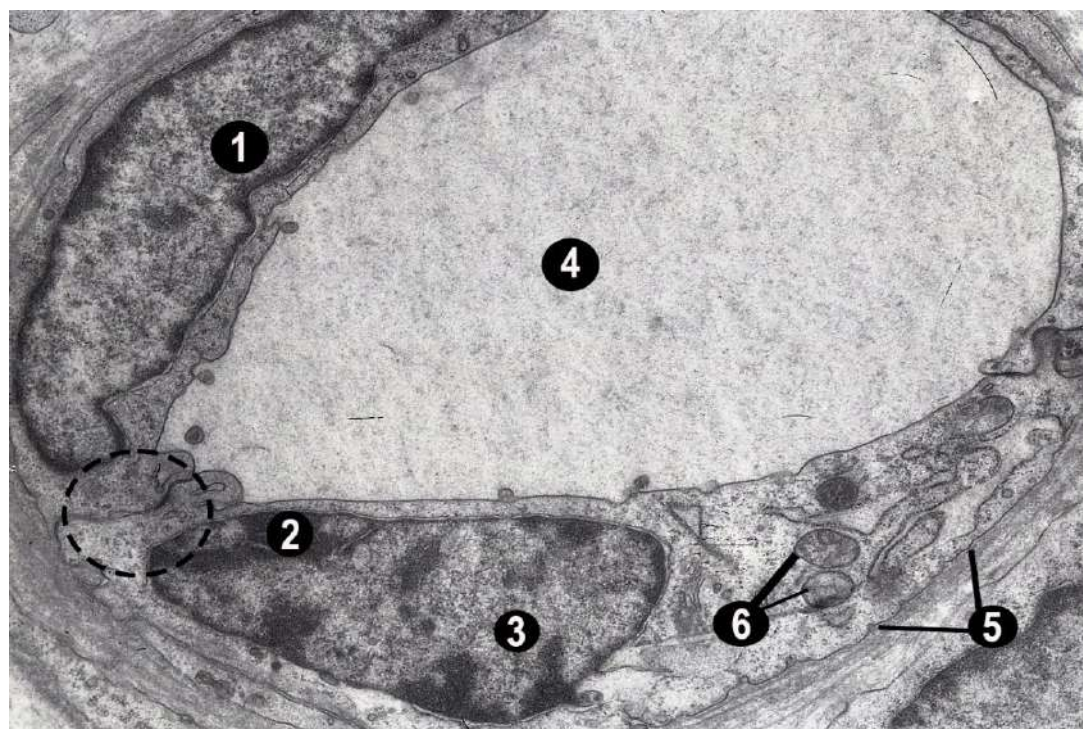


Рис. 3.46. Капіляр. Ендотеліоцити (1), гетерохроматин (2), еухроматин (3), просвіт гемокапіляра (4), базальна мембрана (5), мітохондрії (6), півскладний стик – з'єднання між двома ендотеліальними клітинами (в колі). x 8000.

У лімфобластичних клітинах візуалізувались атипові мітози, представлені в основному асиметричними мітозами (рис. 3.47).

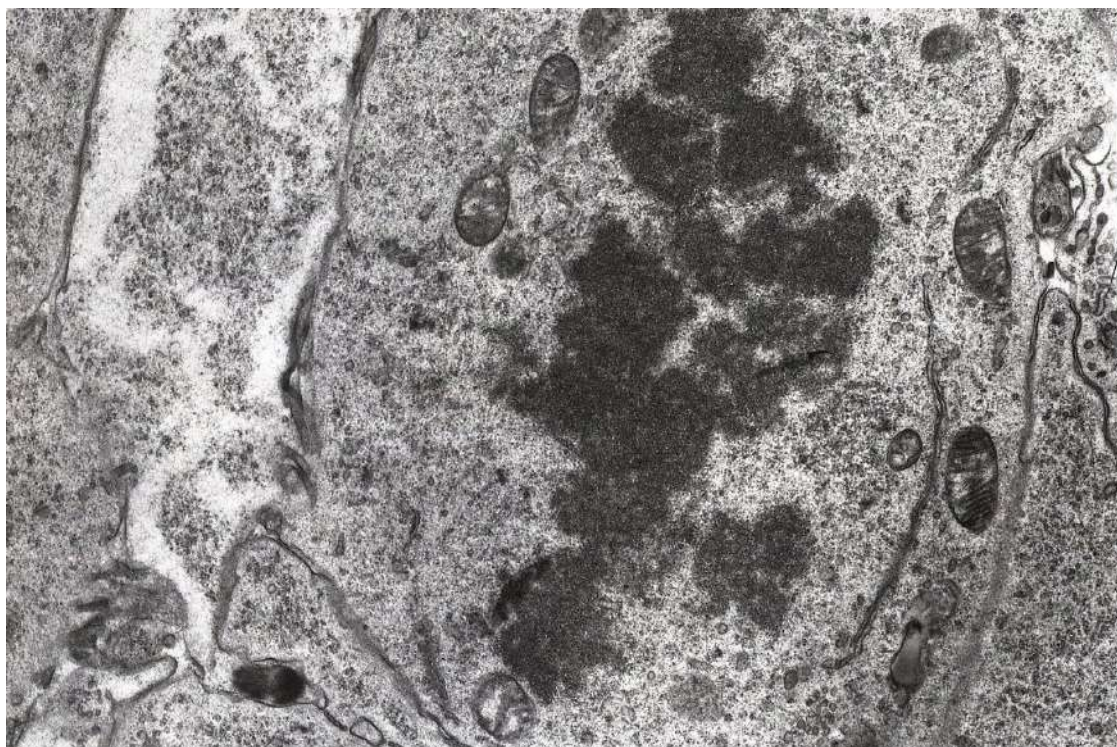


Рис. 3.47. Конденсований хроматин під час метафази, відсутність ядерця та ядерної оболонки. Асиметричний мітоз. Мітохондрії, лімфобласт x 8000.

Таким чином, при використанні трансмісійної електронної мікроскопії підтверджено наявність клітинних популяцій двох типів, що може бути використано у диференційній діагностиці лімфоми від пухлин іншого гістогенезу системи крові. Нами не виявлено у лімфобластичних клітинах лімфоми спеціалізованих контактів, у клітин відсутня базальна мембрана. Як правило цитоплазма не містила глікогену та філаментів. У ній переважали рибосоми, полісоми. Інші органелли розвинуті слабо. Клітини не утворювали залозистих структур, а деякі форми містили чудернацькі ядра (своєрідну будову ядра).

Результати досліджень опубліковані у наукових працях:

Орехова Х.В., Щербетовська О.М. [196, 197].

3.3. Характеристика медіастинальної лімфоми у котів

3.3.1. Клінічна картина, рентгенологічні зміни, гематологічні та біохімічні показники крові у котів за медіастинальної лімфоми

Упродовж 2019–2023 років у клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик» реєстрували 102 випадки із підозрою на медіастинальний тип лімфоми. З анамнестичних даних відомо, що у котів, час від часу, з'являлись ознаки задишки, утруднене ковтання, відсутній апетит. Під час клінічного огляду виявляли ціанотичність та блідість слизових оболонок, кахексію. Згідно протоколу клінічних досліджень котам проводили відбір крові для гематологічних та біохімічних досліджень, рентгенологічну діагностику органів грудної порожнини та тонкоголково біопсію, безпосередньо тканин середостінних лімфатичних вузлів та випітної рідини. Крім того, проводили дослідження крові експрес тестами на виявлення вірусу лейкозу. За результатами досліджень встановлено, що 69,6 % (71 випадок) котів були FeLV+. Через важкий стан та пізні звернення за допомогою до ветеринарних клініки 11 котів були інкурабельні та невдовзі загинули природньою смертю ще до початку призначення лікування, з яких чотири коти мали позитивний тест на FeLV. За результатами рентгендіагностики та КТ у 80,4 % котів встановлено ураження середостінних лімфатичних вузлів без ураження легень, у 15,6 % тварин неопластичні процеси поширювались на лімфатичні вузли та легені і у 4 % крім лімфатичних вузлів середостіння у патологічний процес були втягнуті внутрішні грудні та внутрішні міжреберні м'язи та м'язи діафрагми.

За рентгенологічного дослідження грудної порожнини виявляли значні ділянки з підвищеною рентгенконтрастністю (рис. 3.48), різке зміщення легень дорсально, наявний плевральний випіт, що пояснює задишку в тварин. Через масивну ущільнену ділянку практично не проглядався контур серця тварин.

За результатами КТ встановлено, що об'єм легень зменшений, візуалізувалось інтерстиціальне та альвеолярне затемнення. В каудальній частці лівої легені наявне вузликове утворення діаметром 3 мм, край легені помірно заокруглений. Звужена порожнина бронха краніальної частки лівої легені (рис. 3.49).

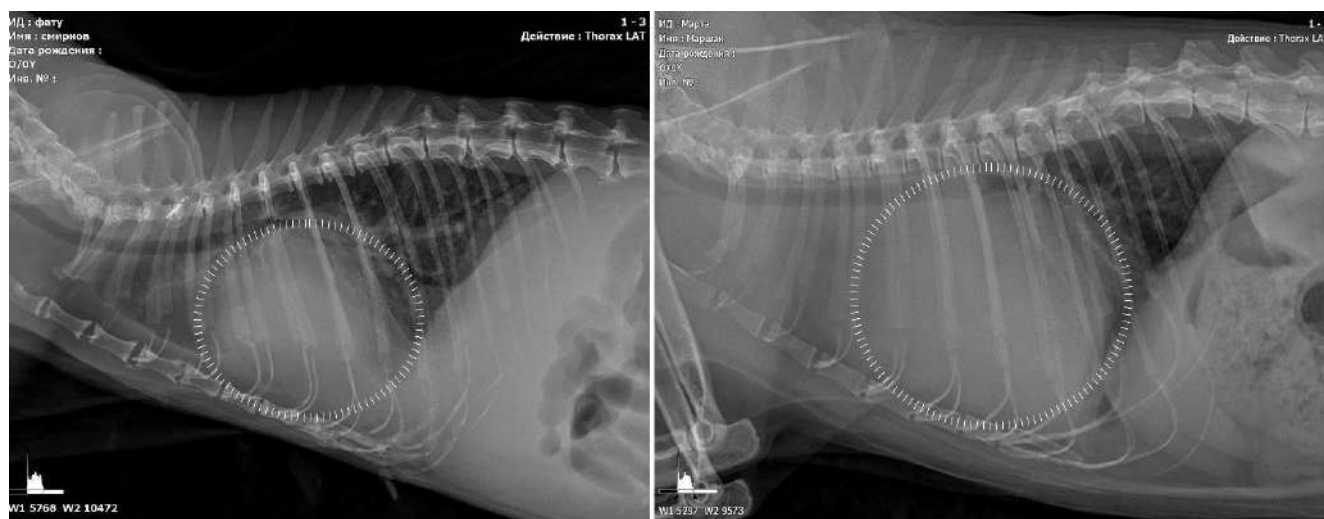


Рис. 3.48. Рентгенограма грудної клітки кішок в бічному положенні. Збільшення рентгенконтрастності м'яких тканин в ділянці грудини.

Просвіт трахеї не змінений, проте сама трахея значно зміщена вправо. Відзначали помірне збільшення трахеобронхіального лімфатичного вузла. Плевральна порожнина розширена, заповнена вмістимим, щільності 73 HU (рис. 3.49). Легеневі артерії добре контрастувались, аорта була зміщена дорсально. В порожнині краніального середостіння візуалізувалась маса з нерівномірно посиленням контрастом з поширенням під серцевий силует, розміром 98*35 мм. Порожнина стравоходу не змінена, деструктивних змін у кістках також не виявлено.

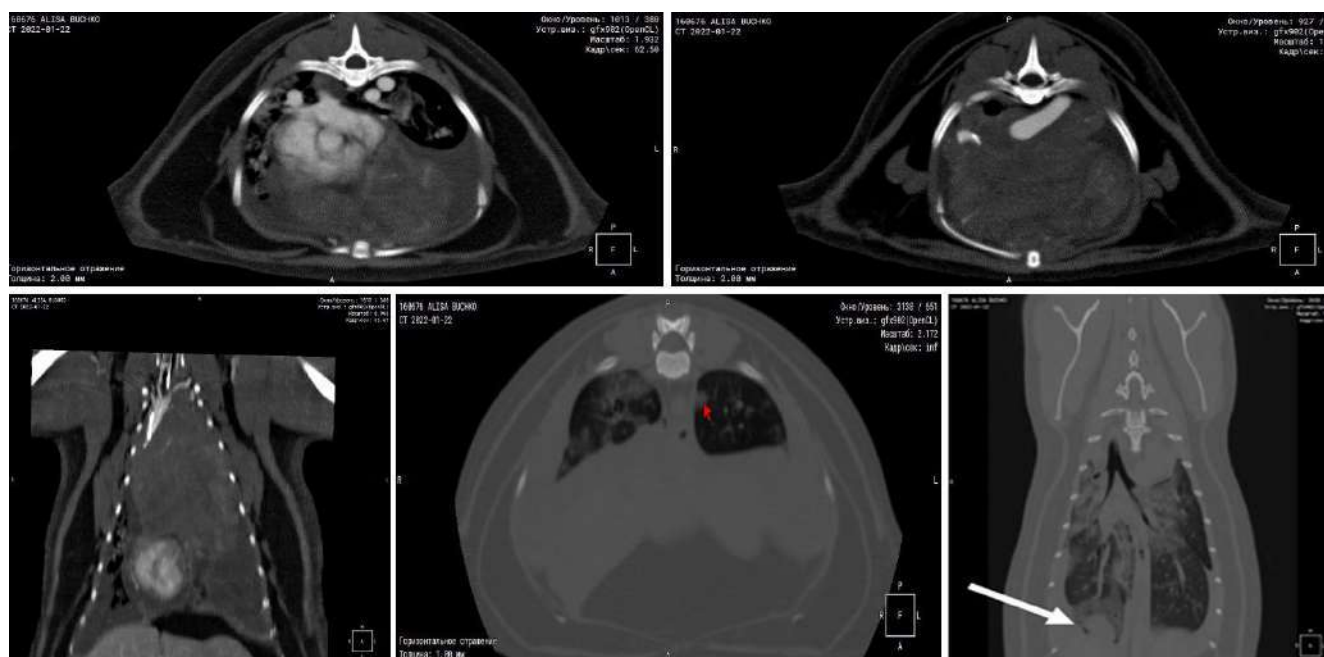


Рис. 3.49. Компютерна томографія при медіастинальній лімфомі у котів.

За результатами гематологічних досліджень встановлено: у котів з позитивним тестом FeLV відзначали еритропенію ($P<0,001$), лейкоцитопенію ($P<0,001$), зниження гемоглобіну (1,6 раз) та гематокриту (1,7 раз). Тоді, як у котів FeLV негативних виявляли достовірне підвищення лейкоцитів до $16,6\pm1,45$ Г/л проти $8,95\pm1,03$ Г/л за рахунок збільшення кількості сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів до $73,0\pm1,12$ % проти $53,0\pm0,98$ % та лімфоцитопенію – $16,0\pm1,03$ % проти $39,0\pm1,09$ % у здорових котів (табл. 3.7).

Таблиця 3.7.

**Гематологічні показники крові у котів за медіастинальної форми лімфоми
($M\pm m$, $n=5$)**

Показники	Одиниці вимірювання	Показники клінічно здорових котів (до 5р.)	Результати досліджень FeLV+	Результати досліджень FeLV-
Лейкоцити (WBC)	Г/л	$8,95\pm1,03$	$2,8\pm1,19^{***}$	$16,6\pm1,45^{**}$
Еритроцити (RBC)	Т/л	$10,15\pm0,75$	$3,4\pm0,34^{***}$	$9,65\pm0,67$
Гемоглобін (Hb)	г/л	$113,0\pm1,22$	$70,0\pm1,62^{***}$	$122,0\pm2,03$
Гематокрит (HCT)	%	$31,3\pm1,14$	$18,3\pm1,43^{***}$	$37,2\pm1,17$
Тромбоцити (Plt)	Г/л	$387,0\pm1,89$	$243\pm1,02^{**}$	$355,0\pm2,1$
Лейкограма				
Еозинофіли (Eos)	%	$2,0\pm0,12$	$1\pm0,01$	$5\pm0,42$
Паличкоядерні нейтрофіли	%	$5,0\pm0,06$	$4\pm0,02$	$4\pm0,34$
Сегментоядерні нейтрофіли (Grn)	%	$53,0\pm0,98$	$36\pm0,37^{***}$	$73,0\pm1,12^{***}$
Лімфоцити (Lymph)	%	$39,0\pm1,09$	$56\pm1,12^{***}$	$16,0\pm1,03^{***}$
Моноцити (Mon)	%	$1,0\pm0,01$	$3\pm0,01$	$2\pm0,08$

Примітка: $**p>0,01$; $***p>0,001$ у порівнянні до показників фізіологічно здорових котів.

Біохімічна картина крові котів за медіастинальної лімфоми дещо варіювала. Відзначали підвищення загального білка, як у FeLV+ на 18,46 %, так і FeLV

негативних тварин, відповідно на 26,73 % ($P>0,01$). (табл. 3.8). У FeLV+ котів встановлено підвищення активності АлАТ у 1,57 разів; ($P>0,01$), на тлі зниження активності АсАт у 2 рази, ЛФ у 1,34 рази та рівня загального білірубину у 2,6 разів. У FeLV негативних котів виявляли подібну тенденцію: встановлено достовірне зниження ензимів АлАт, АсАТ та ЛФ, відповідно, на 20,9 %; 44,7 % та 62,7 %.

Таблиця 3.8.

**Біохімічні показники крові у котів за медіастинальної форми лімфоми
($M\pm m$, $n=5$)**

Показник	Одиниці виміру	Показники клінічно здорових котів (до 5р.)	Результат дослідження FeLV+	Результат дослідження FeLV-
Альбумін (Ab)	г/Л	$30,8\pm 2,14$	$37,0\pm 1,23$	$34,8\pm 1,02$
Загальний білок (TP)	г/Л	$67,7\pm 0,76$	$80,2\pm 1,86^{**}$	$85,8\pm 0,98^{**}$
Білірубін загальний (Obil)	мкмоль/л	$4,64\pm 1,03$	$1,8\pm 0,46^{**}$	$1,18\pm 1,14^{**}$
Аланінамінотрансфераза (ALT)	Од/л	$41,6\pm 1,02$	$65,5\pm 1,01^{**}$	$32,9\pm 2,54^{**}$
Аспартатамінотрансфераза (AST)	Од/л	$35,8\pm 1,76$	$18,2\pm 1,16^{**}$	$19,8\pm 1,03^{**}$
Лужна фосфатаза (Alp)	Од/л	$65,4\pm 1,54$	$48,6\pm 2,21^{**}$	$24,4\pm 0,89^{***}$
Глюкоза (Glu)	ммоль/л	$5,1\pm 1,12$	$6,1\pm 0,87$	$5,6\pm 0,29$
Сечовина (Urea)	ммоль/л	$8,6\pm 1,22$	$6,7\pm 2,07$	$8,7\pm 2,15$
Креатинін (Crea)	мкмоль/л	$88,0\pm 2,17$	$82,6\pm 1,12$	$117,8\pm 1,43^{**}$
Гамма-глутамілтрансфераза (Ggt)	Од/л	$1,9\pm 0,76$	$3,4\pm 1,76$	$4,9\pm 1,65$
Холестерин (Chol)	ммоль/л	$5,1\pm 1,41$	$4,7\pm 1,65$	$5,8\pm 0,76$
Кальцій (Ca)	ммоль/л	$2,02\pm 1,30$	$2,28\pm 1,23$	$2,37\pm 0,36$
Фосфор (P)	ммоль/л	$1,84\pm 0,98$	$1,29\pm 0,68$	$2,1\pm 0,96$

Примітка: $^{**} p>0,01$; $^{***} p>0,001$ у порівнянні до показників клінічно здорових котів.

У мазках, отриманих методом тонкоголкової біопсії під контролем УЗД із трансудату з грудної порожнини, забарвленим за Романовським-Гімзою встановлено, що основну масу клітинного пулу становила популяція різних лімфобластів (рис. 3.50). Клітинний анізоцитоз та анізокаріоз виражені, наявні атипові мітотичні фігури, переважно 2-3 в полі зору (рис. 3.51). У мазках із лімфатичних вузлів більшість клітин мономорфні з вузькою дещо вакуолізованою цитоплазмою, помірно базофільними ядрами, переважно з двома ядерцями, клітинний анізоцитоз та анізокаріоз помірно виражений (рис. 3.52, 3.53).

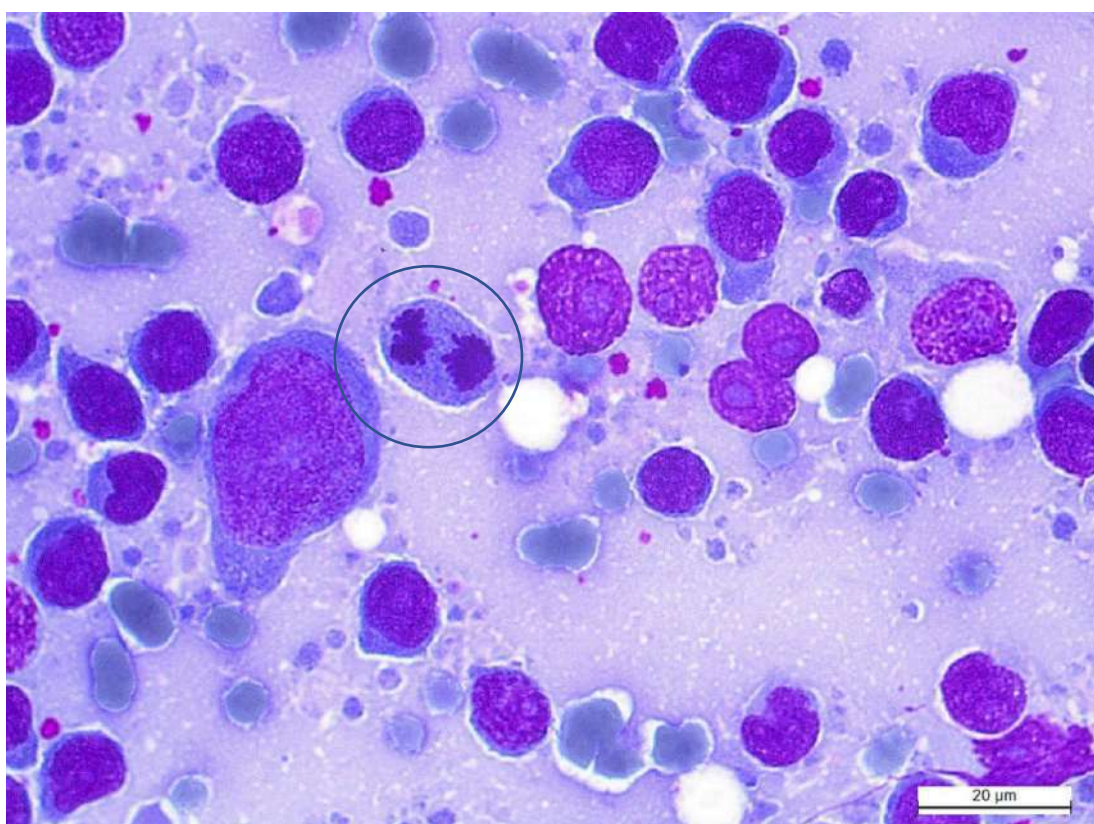


Рис. 3.50. Цитологічні зразки трансудату з грудної порожнини кота. Медіастинальна лімфома. Популяція лімфобластів із зернистою каріоплазмою та вузьенькою цитоплазмою. Атипові мітози. Романовський-Гімза. х 1000.

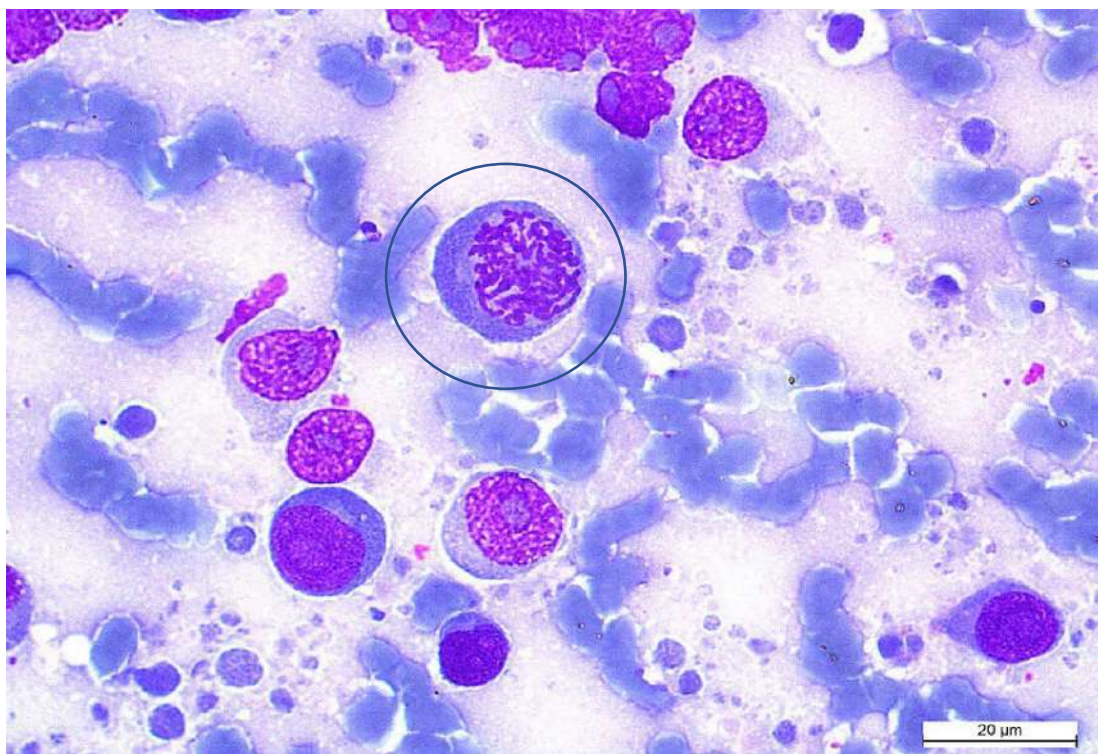


Рис. 3.51. Цитологічні зразки трансудату з грудної порожнини кота. Медіастинальна лімфома. Лімфобласти із зернистою каріоплазмою, атипові мітози. Романовський-Гімза. x 1000.

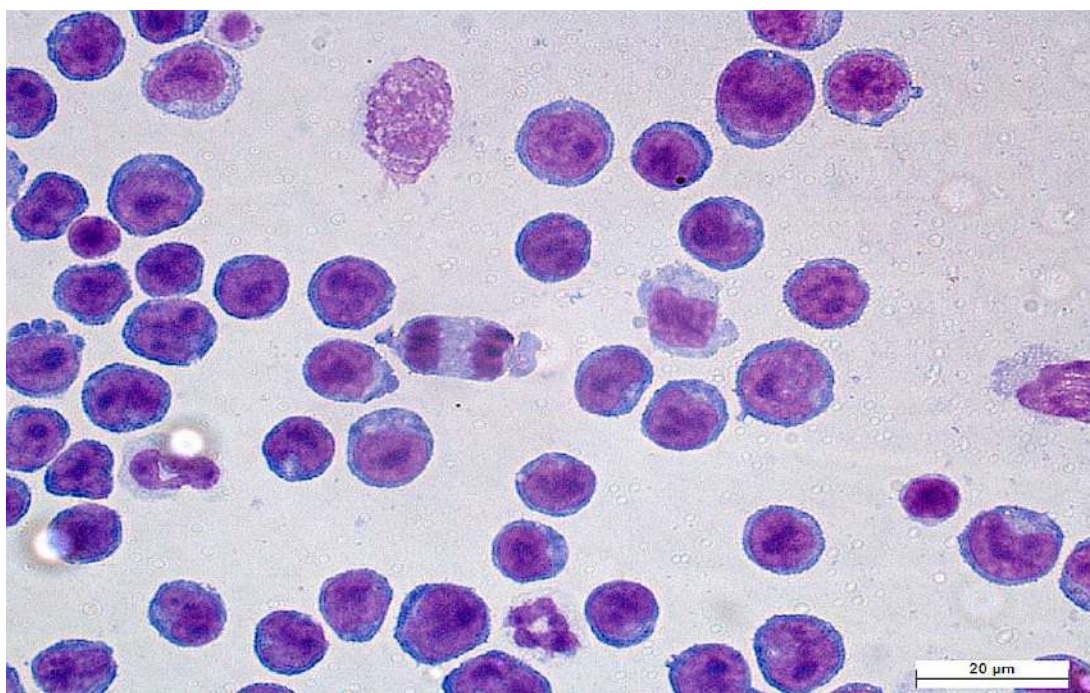


Рис. 3.52. Цитологічні зразки біопсії з лімфатичних вузлів кота. Медіастинальна лімфома. Мономорфна популяція лімфобластів із значною гіперхромністю ядра, переважно двома ядерцями, вузькою цитоплазмою. Романовський-Гімза. x 1000.

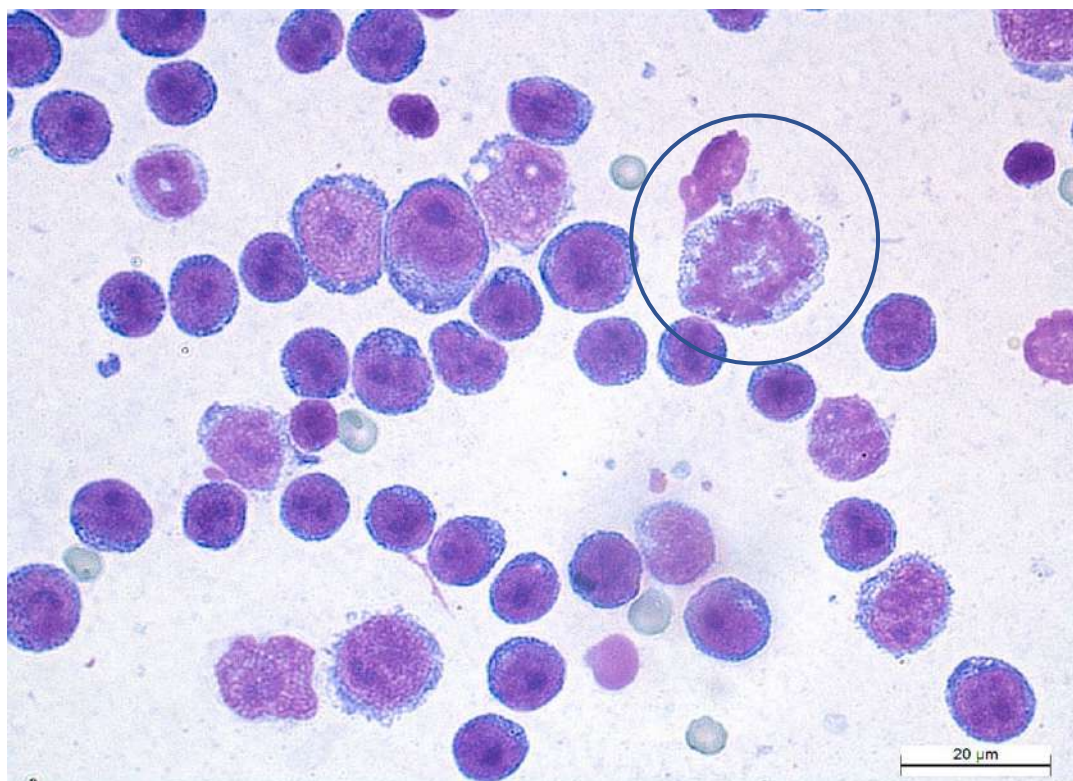


Рис. 3.53. Цитологічні зразки біопсії з лімфатичних вузлів кота. Медіастинальна лімфома. Мономорфна популяція лімфобластів із вакуолізацією цитоплазми, атипові мітотичні фігури. Романовський-Гімза. х 1000.

3.3.2 Патологоанатомічні зміни та патогістологічна характеристика органів і тканин у котів за медіастинальної лімфоми

За результатами патологоанатомічного розтину котів (n=11) виявляли, переважно, дифузне пухлинне розростання у внутрішніх грудних та внутрішніх міжреберних м'язах, м'язах діафрагми, вогнищеве ураження легеневої паренхіми, медіастинальних та середостінних лімфатичних вузлів. У грудній порожнині, зазвичай, наявний трансудат. При виявленні масивних новоутворень на костальній плеврі, внутрішніх грудних та міжреберних м'язах відзначали формування тяжів від світло сірого до білого кольору, щільної консистенції, помірно вологі на розрізі, гладкі (рис. 3.54). Новоутворення середостінних лімфатичних вузлів представлені масивними округлими, різними за розмірами горбистими ущільненнями світло рожевого кольору (рис. 3.55). У двох котів з медіастинальною лімфомою виявляли багатовузлову, безформну, блідо-рожевого

кольору структуру, щільної консистенції, яка займала більшу частину грудної порожнини, зміщуючи легені дорсально (рис. 3.56).



Рис. 3.54. Медіастинальна форма лімфоми. Дифузне пухлинне ураження костальної плеври, внутрішніх грудних та міжреберних м'язів, м'язів діафрагми.

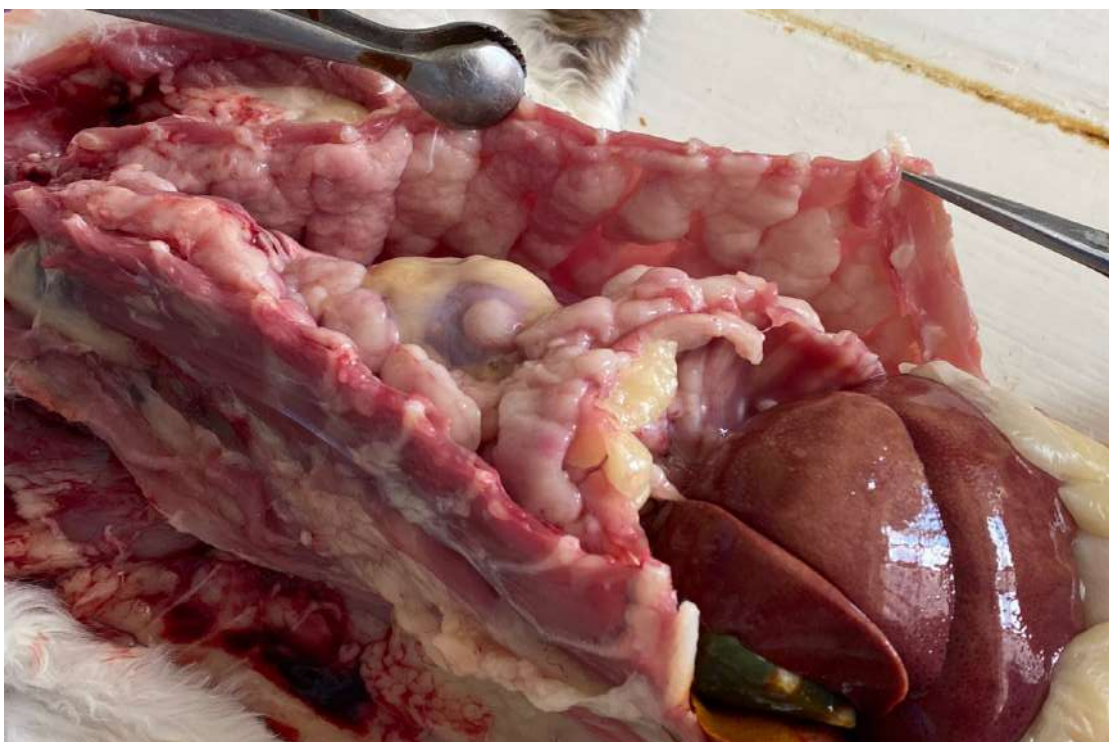


Рис. 3.55. Медіастинальна форма лімфоми у кота. Масивне новоутворення в ділянці середостінних лімфатичних вузлів, внутрішніх грудних та міжреберних м'язів.

У трьох котів (27,3 %) відзначали поодинокі, в інших 7 тварин (63,7 %) – множинні вузликові утворення щільної консистенції з чіткими межами, які проростали в паренхімі легеневої тканини (рис. 3.57).



Рис. 3.56. Медіастинальна форма лімфоми у кота. Масивне новоутворення в ділянці середостінних лімфатичних вузлів.



Рис. 3.57. Медіастинальна форма лімфоми у кота. Вогнищеве пухлинне ураження легеневої паренхіми.

На гістологічних препаратах внутрішніх грудних та міжреберних м'язів візуалізувалась масивні дифузні проліферати з мономорфних лімфобластних клітин, які поширювались шляхом інфільтрації між м'язовими волокнами. Лімфобласти з вузькою цитоплазмою, великого розміру гіперхромними ядрами від круглої до еліпсоподібної форми, розміщувались дифузно між міоцитами, руйнуючи їх нормальну архітектоніку (рис. 3.58, 3.59), що призводило до збільшення меж ураження структурних компонентів м'язової тканини (пухкої сполучної тканини) неопластичними клітинами. Анізоцитоз та анізокаріоз не виражений, мітози поодинокі. Більшість м'язових волокон фрагментовані з слабо диференційованими ядрами. Отже, типовою морфологічною ознакою медіастинальної лімфоми у котів є дифузне ураження як поверхневих, так і глибоких шарів м'язів грудної клітки.

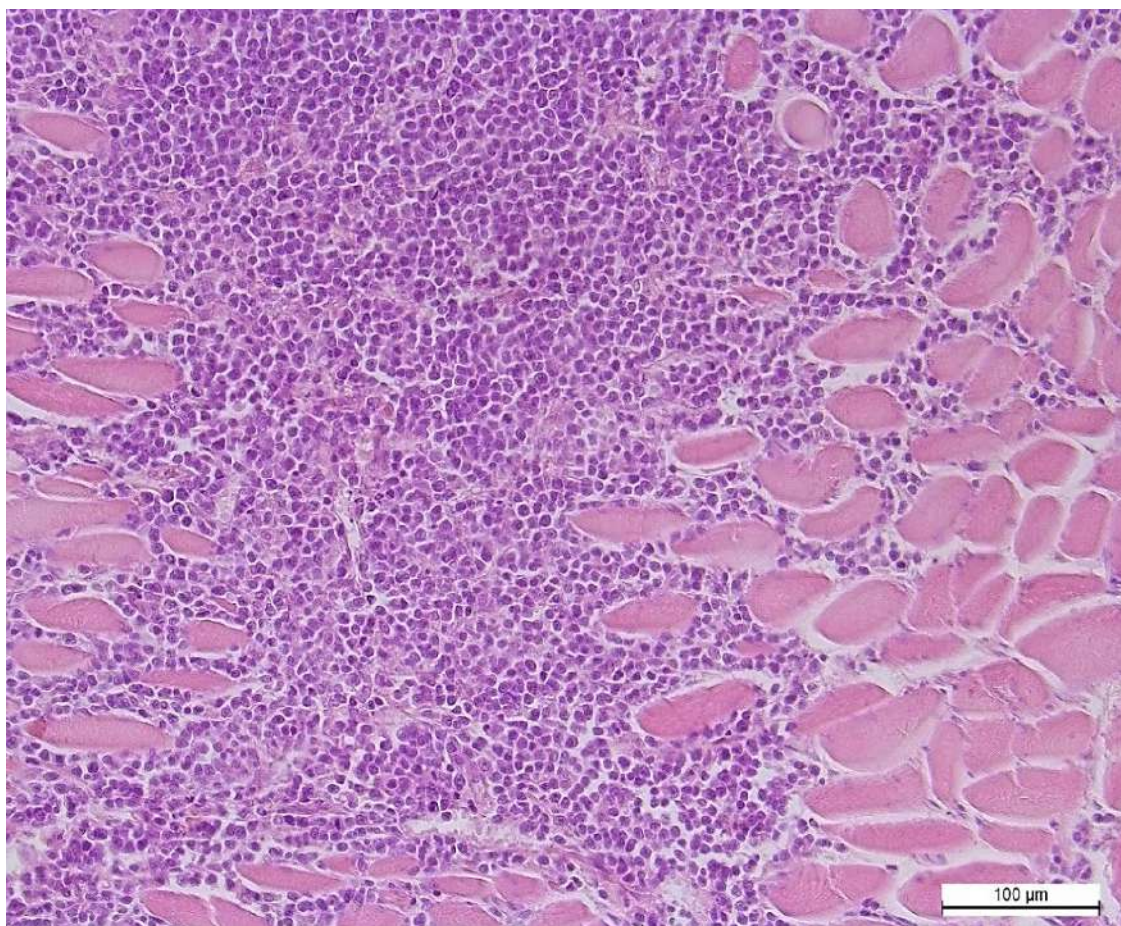


Рис. 3.58. Медіастинальна форма лімфоми. Масивна інфільтрація лімфобластами м'язів грудної стінки. Гематоксилін та еозин. x 200.

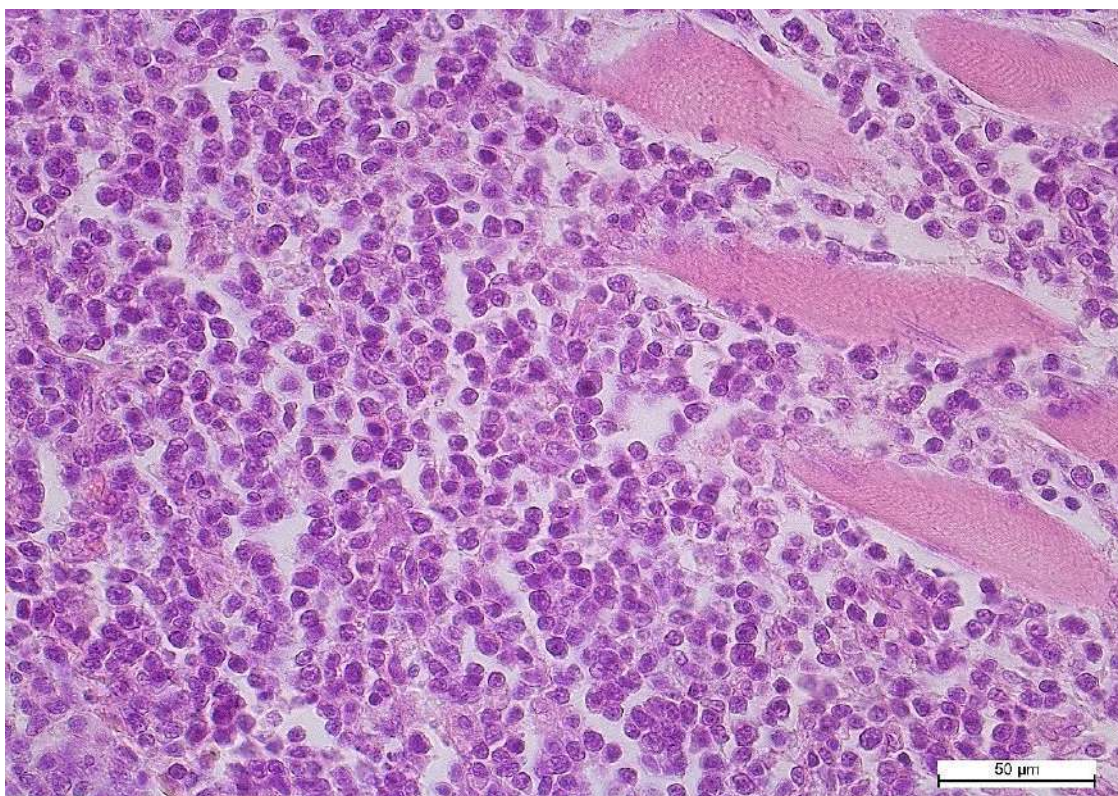


Рис. 3.59. Медіастинальна форма лімфоми. Масивна інфільтрація мономорфними лімфобластами внутрішніх грудних м'язів. Гематоксилін та еозин. х 400.

Окрім дифузної лімфобластної інфільтрації внутрішніх грудних та міжреберних м'язів у котів за медіастинальної лімфоми відзначали ураження середостінних лімфатичних вузлів у яких встановлено набряк капсули з проліферацією її лімфобластними клітинами (рис. 3.60), значне розширення крайових синусів, дифузну інфільтрацію лімфобластами кіркової речовини та лімфоїдних вузликів (рис. 3.61). Міжфолікулярні простори також виповнені мономорфною популяцією лімфобластів. Самі лімфобласти з великими, округлими гіперхромними ядрами, переважно з одним центрально розміщеним ядерцем. Анізоцитоз та анізокаріоз слабо виражений. Між лімфобластними клітинами у паракортикальній зоні лімфатичного вузла виявляли клітини великих розмірів з добре вираженою еозинофільною цитоплазмою та багатьма ядрами – мегакаріоцити. Ядра цих клітин пікнотичні, форма їх значно варіювала від круглих, овальних до видовжених без чітко виражених ядерців (рис. 3.62).

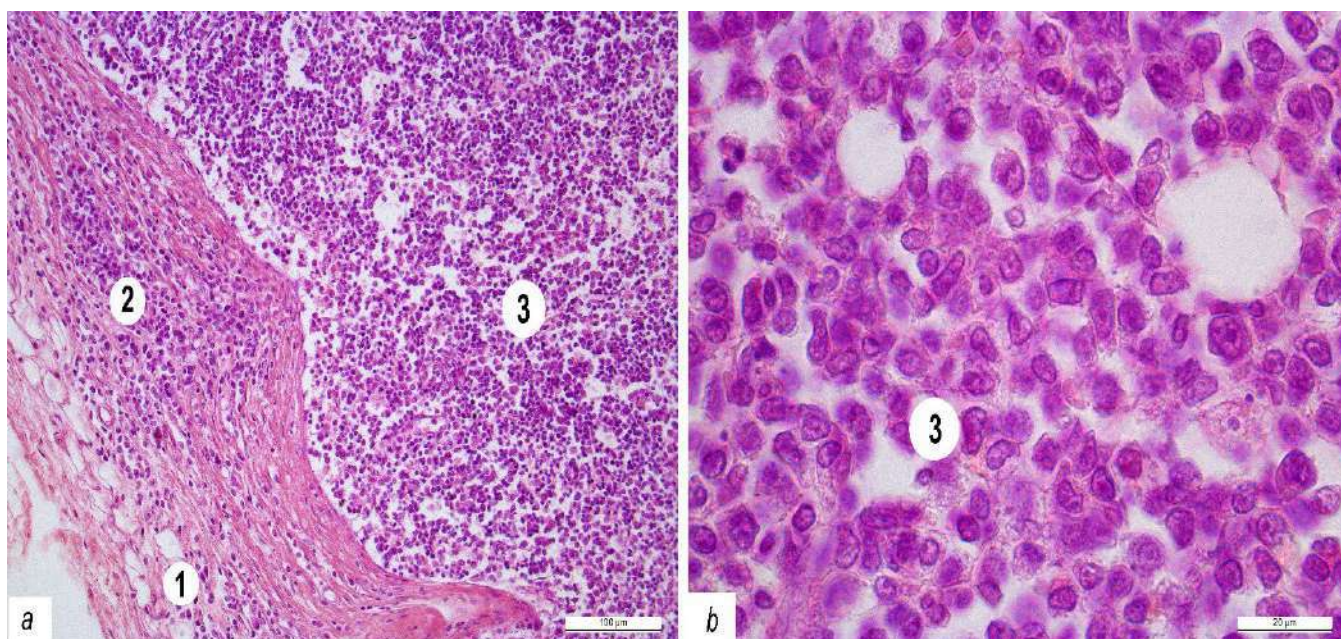


Рис. 3.60. Лімфатичний вузол kota при медіастинальній лімфомі: *a* – розволокнення та набряк капсули лімфатичного вузла (1), інфільтрація капсули лімфобластними клітинами (2), дифузна проліферація кіркової речовини мономорфними лімфобластними клітинами (3). Гематоксилін та еозин. $\times 200$; *b* – лімфобласти з великими, округлими гіперхромними ядрами, вузькою цитоплазмою, переважно з одним центрально розміщеним ядерцем. Гематоксилін та еозин. $\times 1000$.

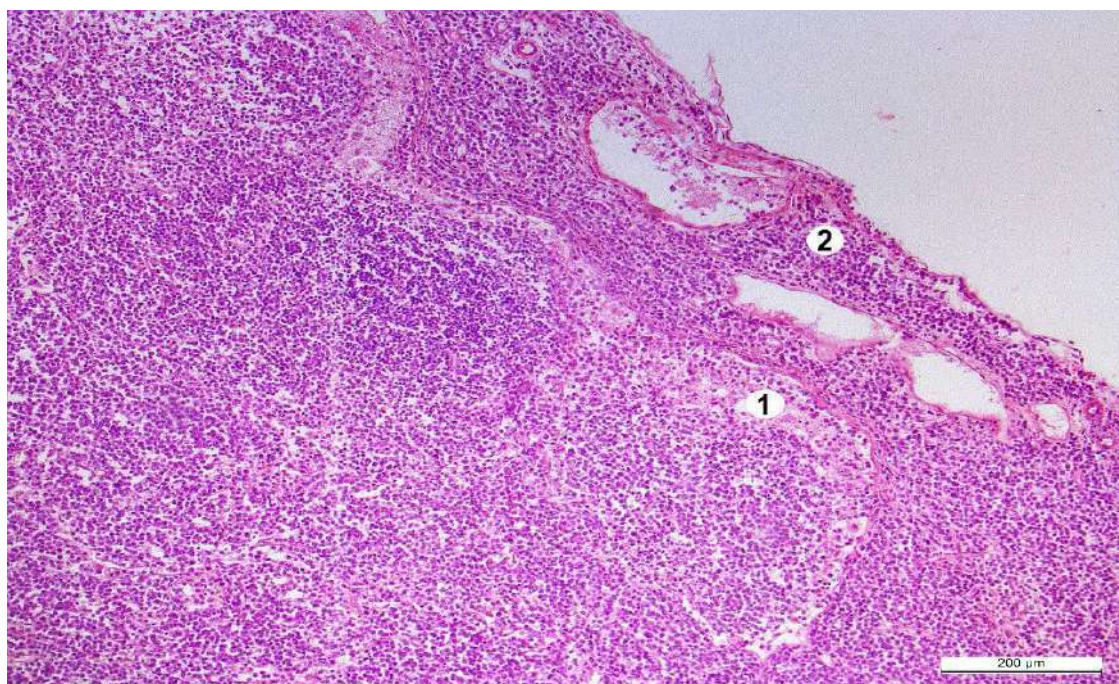


Рис. 3.61. Лімфатичний вузол kota при медіастинальній лімфомі. Розширення крайових синусів (1), лімфобластна проліферація капсули лімфатичного вузла (2). Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

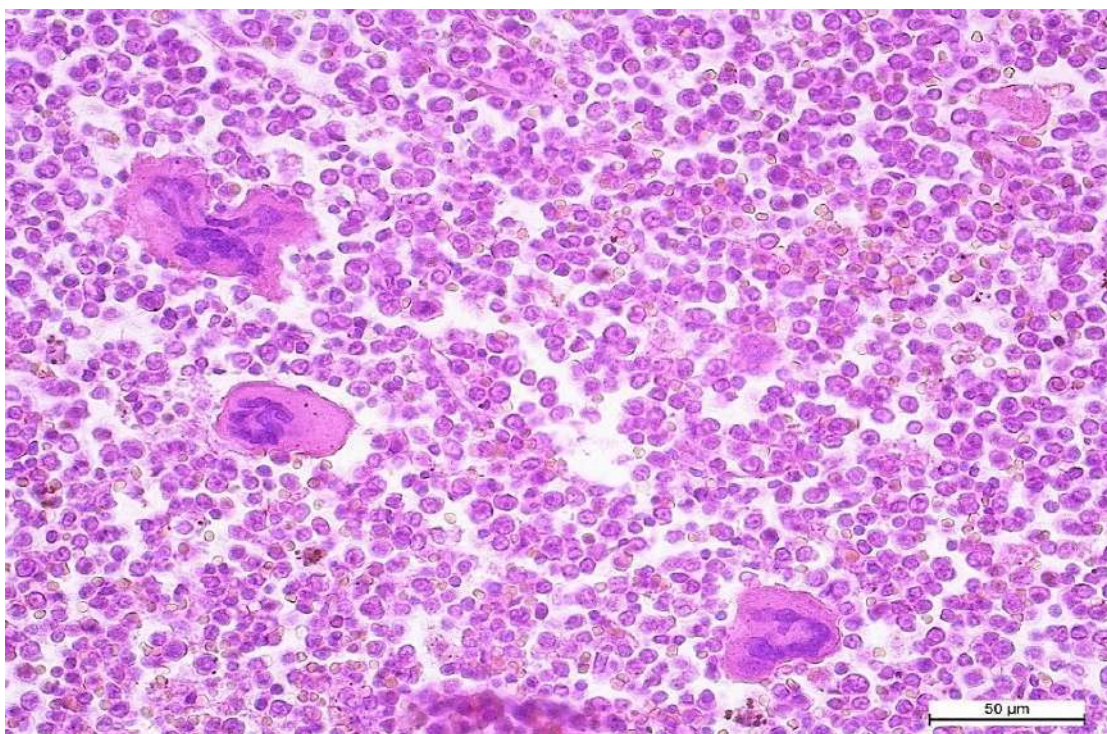


Рис. 3.62. Медіастинальна форма лімфоми. Лімфатичний вузол. Між лімфобластами візуалізуються мегакаріоцити з гіперхромними ядрами. Гематоксилін та еозин. x 400.

При світловій мікроскопії легеневої тканини котів з медіастинальною лімфомою виявлено мономорфні лімфобластні інфільтрати, які порушували архітекtonіку органу (рис. 3.63). Такі ураження призводили до значного розширення міжчасточкових перегородок за рахунок дифузної проліферації лімфобластами, розтягнення альвеол та заповнення їх набряковою рідиною (рис. 3.64).

Мономорфні лімфобластні клітини, які дифузно розміщувались в паренхімі легень мали, переважно, гіперхромні ядра від середнього до великого розміру, округлої форми з незначною цитоплазмою. Анізоцитоз та анізокаріоз помірно виражений, відзначали поодинокі мітози.

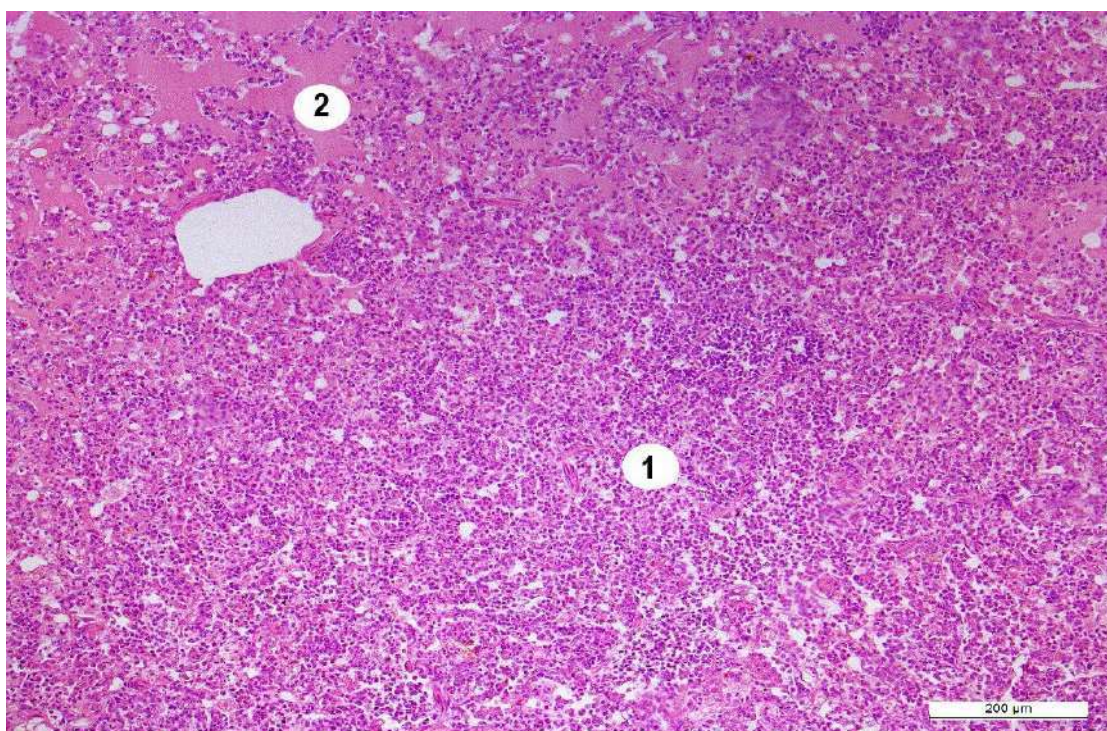


Рис. 3.63. Медіастинальний тип лімфоми. Легені. Щільний дифузний інфільтрат лімфобластних клітин (1), які порушують архітектуру паренхіми. Альвеоли заповнені набряковою рідиною (2). Гематоксилін та еозин. x 100.

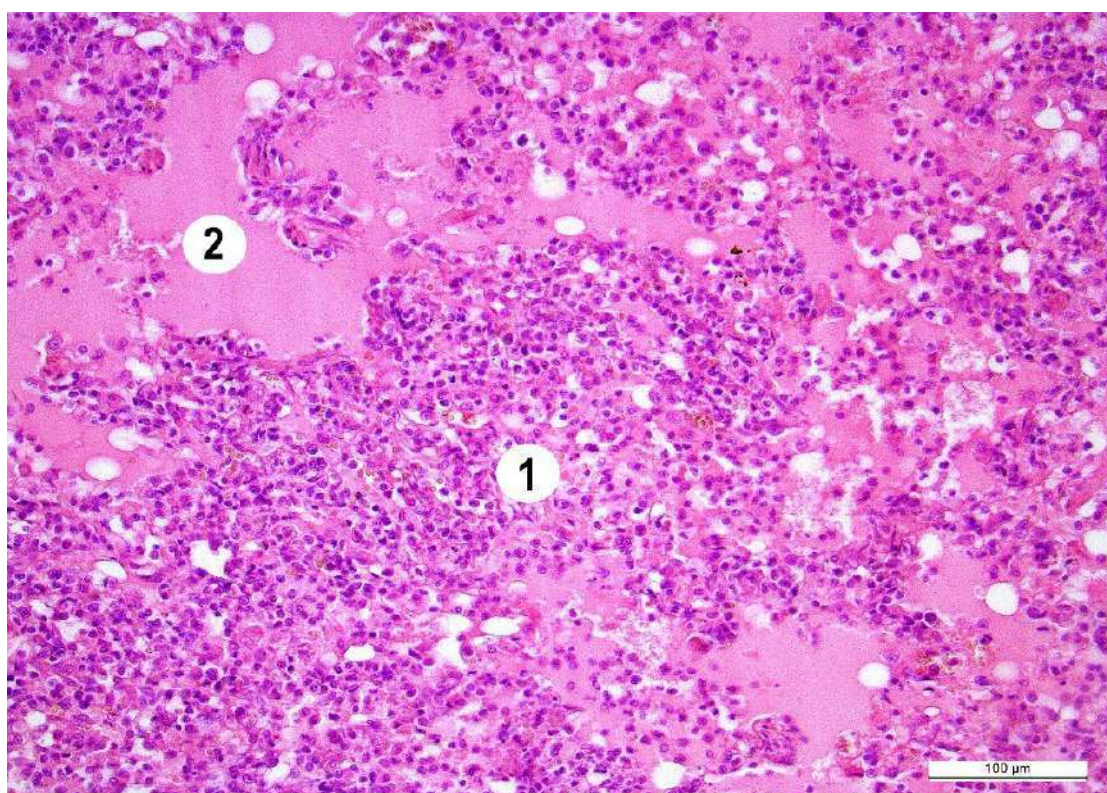


Рис. 3.64. Медіастинальний тип лімфоми. Легені. Мономорфні лімфобластні клітини з великими гіперхромними ядрами (1). Альвеоли заповнені набряковою рідиною (2). Гематоксилін та еозин. x 200.

Оскільки розрізнити В- і Т-лімфобласти виключно за морфологічними ознаками не можливо, нами було проведено імуногістохімічне фарбування та імунофенотипування медіастинальної лімфоми у котів.

За результатами імуногістохімічного дослідження встановлено, що у 72,7 % випадків медіастинальної лімфоми у котів виявлено В-клітинний імунофенотип. Цитопласма лімфобласних клітин, які рясно інфільтрували внутрішній грудний, внутрішні міжреберні м'язи та м'язи діафрагми мали позитивну експресією CD79a маркером (рис. 3.65, 3.66), що свідчило про переважання В-клітинного типу лімфоми та були негативними до CD3 маркера. Проте, виявлена в поодинокі розміщених клітинних елементах експресія до CD3 маркера свідчила про присутність цитотоксичних Т-лімфоцитів, які беруть участь в індукції специфічної імунної відповіді, виробленні цитокінів, які впливають на всі ланки запального процесу (рис. 3.67, 3.68).

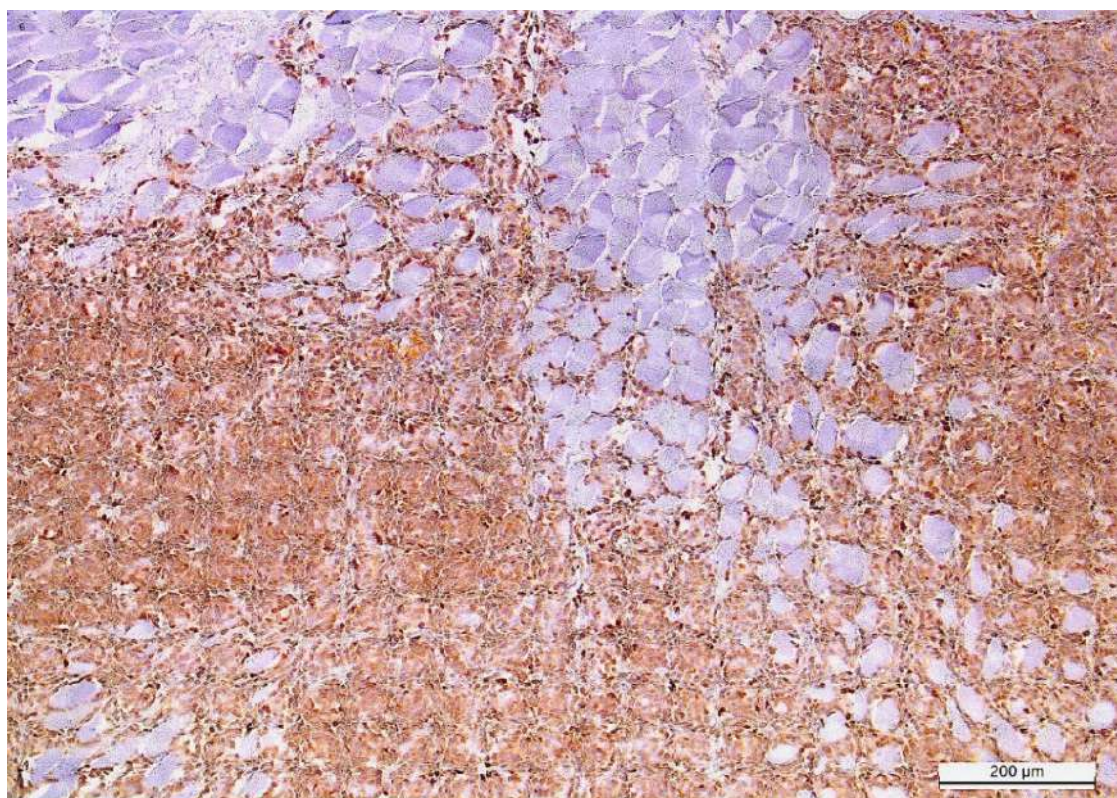


Рис. 3.65. Медіастинальна форма лімфоми. Дифузна проліферація лімфобласними клітинами з інтенсивною позитивною цитоплазматичною експресією CD79a маркером. Імуногістохімічне забарвлення CD 79a маркером. x 100.

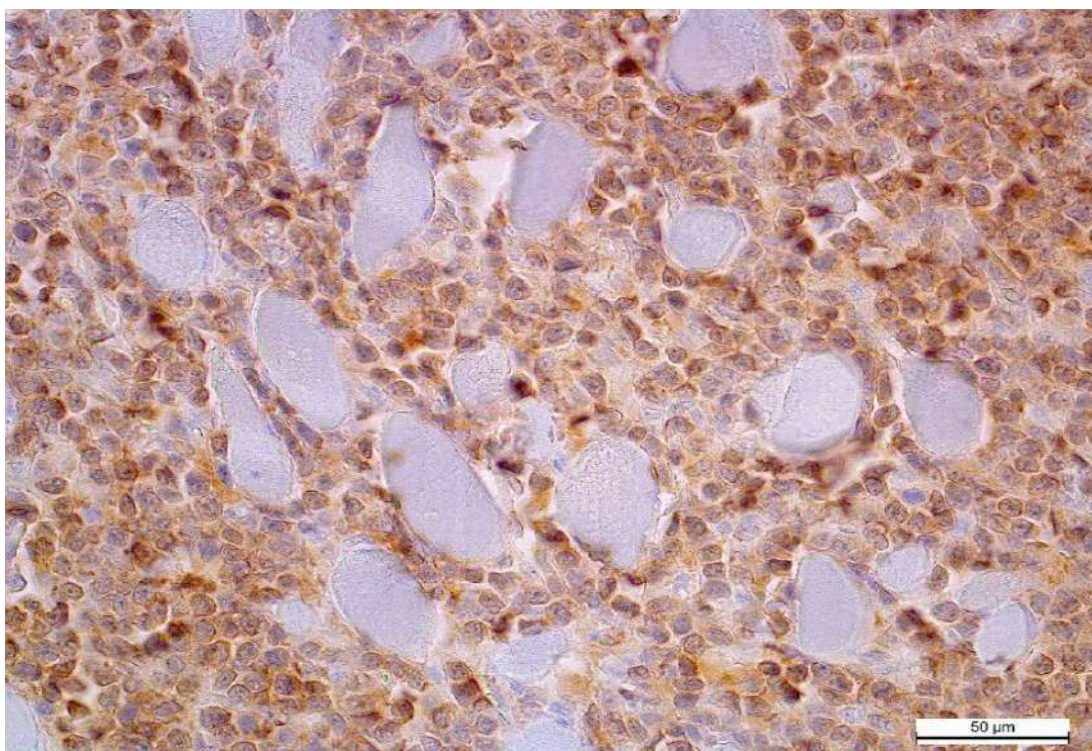


Рис. 3.66. Медіастинальна форма лімфоми. Лімфобласні клітини з інтенсивною цитоплазматичною експресією CD79a. Імуногістохімічне забарвлення CD79a маркером. х 400.

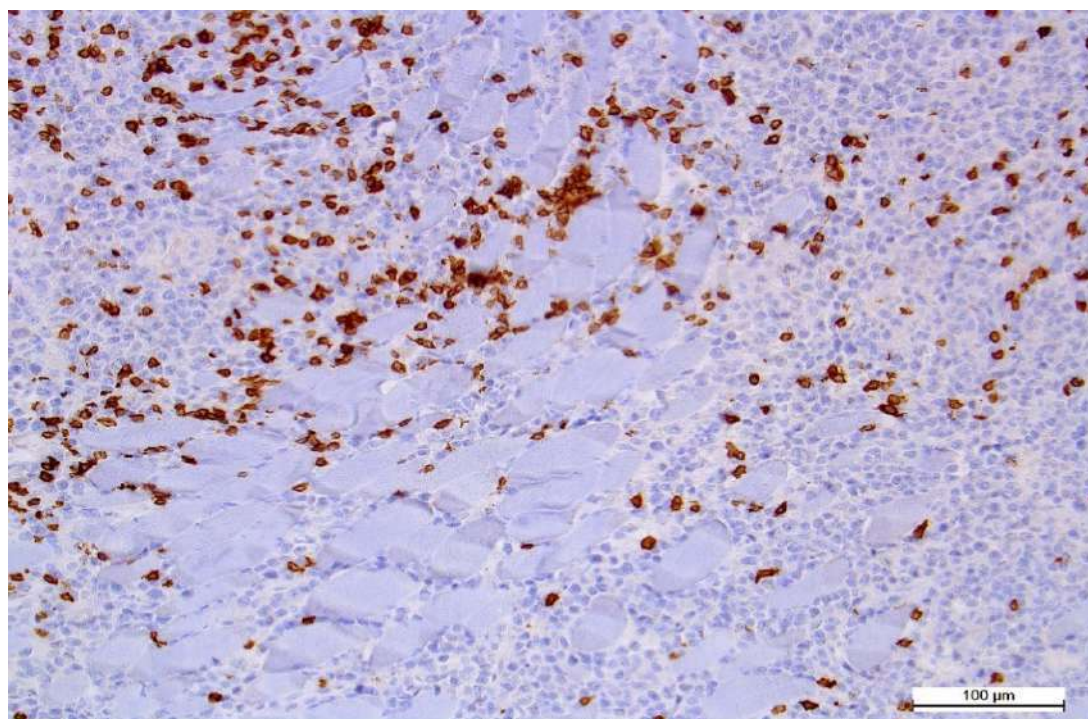


Рис. 3.67. Медіастинальна форма лімфоми. Серед дифузної клітинної проліферації міоцитів наявна невелика кількість CD3+ Т-лімфоцитів. Імуногістохімічне забарвлення CD3 маркером. х 200.

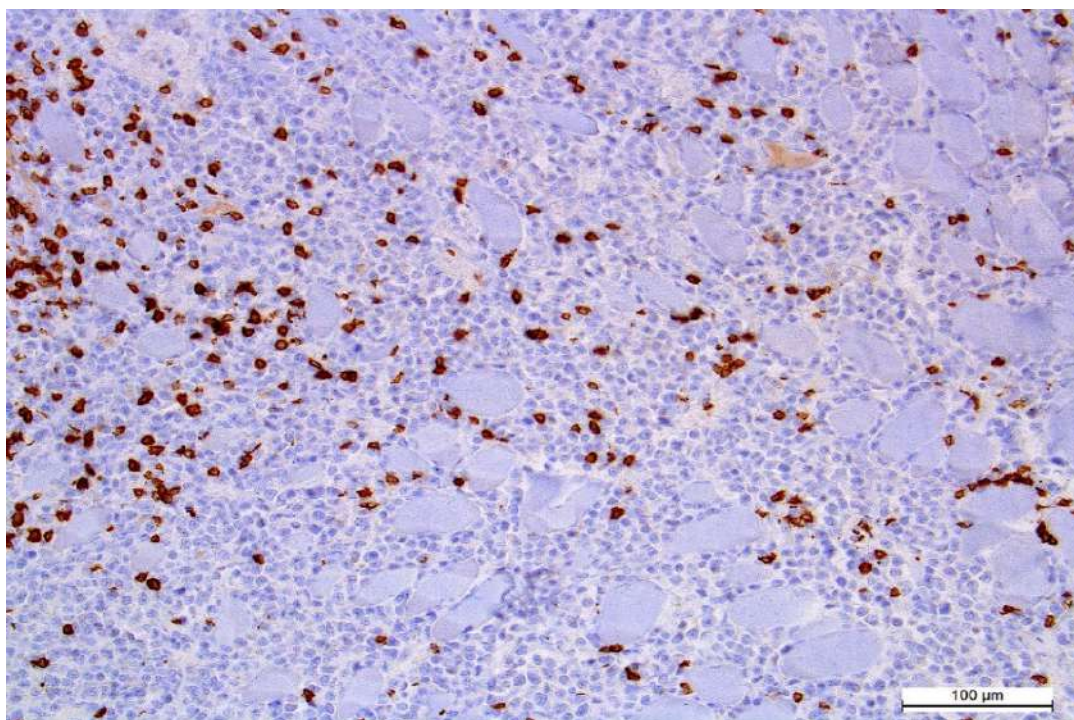


Рис. 68. Медіастинальна форма лімфоми. Помірна позитивна реакція Т-лімфобластів маркером CD3+. Імуногістохімічне забарвлення CD3 маркером. x 200.

Позитивний результат мічення на антитіло CD79a неопластичних В-клітин відзначали також і в лімфатичних вузлах – як в зоні крайового синуса, так і в центрі лімфоїдних вузликів, що свідчило про розвиток В-клітинної лімфоми (рис. 3.69). Ядра мономорфних лімфобластних клітин гіперхромні з невеликою цитоплазмою. Клітинний анізоцитоз помірно виражений. Позитивну реакцію CD3 маркером відзначали у 27,3 % випадків лімфоми у котів, що свідчило про Т-клітинний імунофенотип (рис. 3.70).

Морфометричними дослідженнями встановлено, що розмір лімфобластних клітин у лімфатичних вузлах, які мали позитивну експересію до маркеру CD79a та CD3 становили, відповідно, при В-клітинній лімфомі $51,89 \pm 1,98 \text{ мкм}^2$, та значно менше при Т-клітинній лімфомі $29,57 \pm 2,14 \text{ мкм}^2$. Площа ядра лімфобластів при В-клітинній лімфомі дорівнювала $30,89 \pm 1,67 \text{ мкм}^2$, тоді як при Т-клітинній – $18,54 \pm 1,12 \text{ мкм}^2$. Ядерно-цитоплазматичне відношення становило, відповідно, $0,59 \pm 0,01$ та $0,62 \pm 0,03$ (табл. 3.9). Індекс проліферації був достатньо високим і складав $19,11 \pm 2,14 \%$.

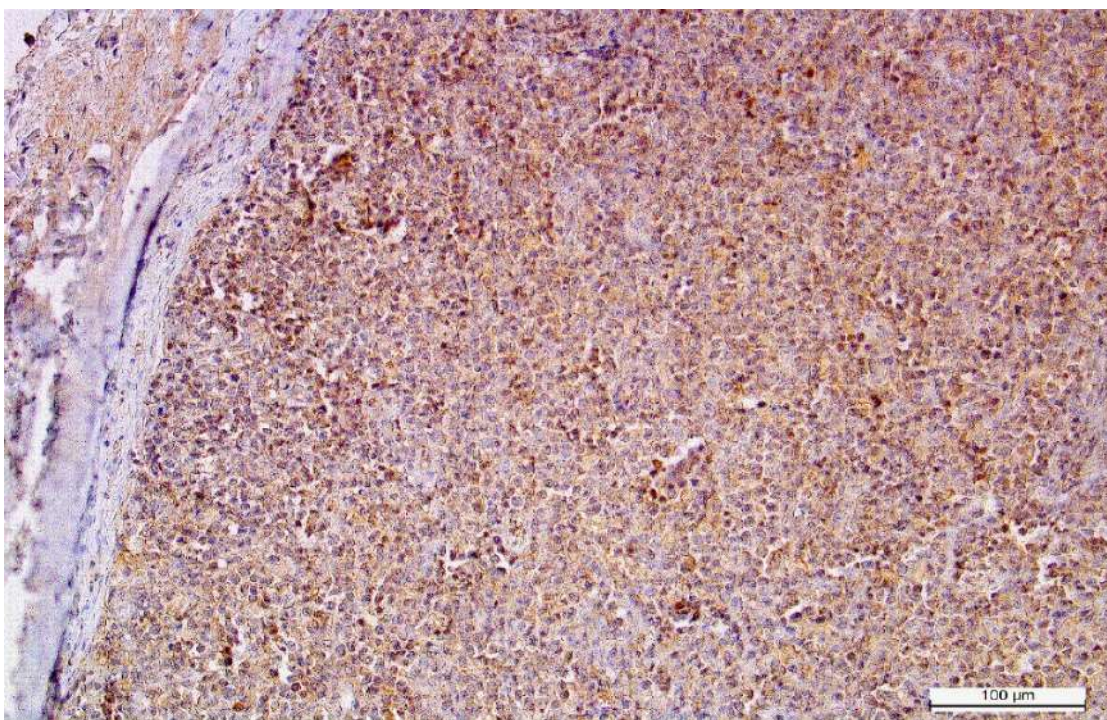


Рис. 3.69. Медіастинальна форма лімфоми. Лімфатичний вузол. Позитивний результат мічення на антитіло CD79a неопластичних В-клітин кіркової речовини. Імуногістохімічне забарвлення CD 79a маркером. х 200.

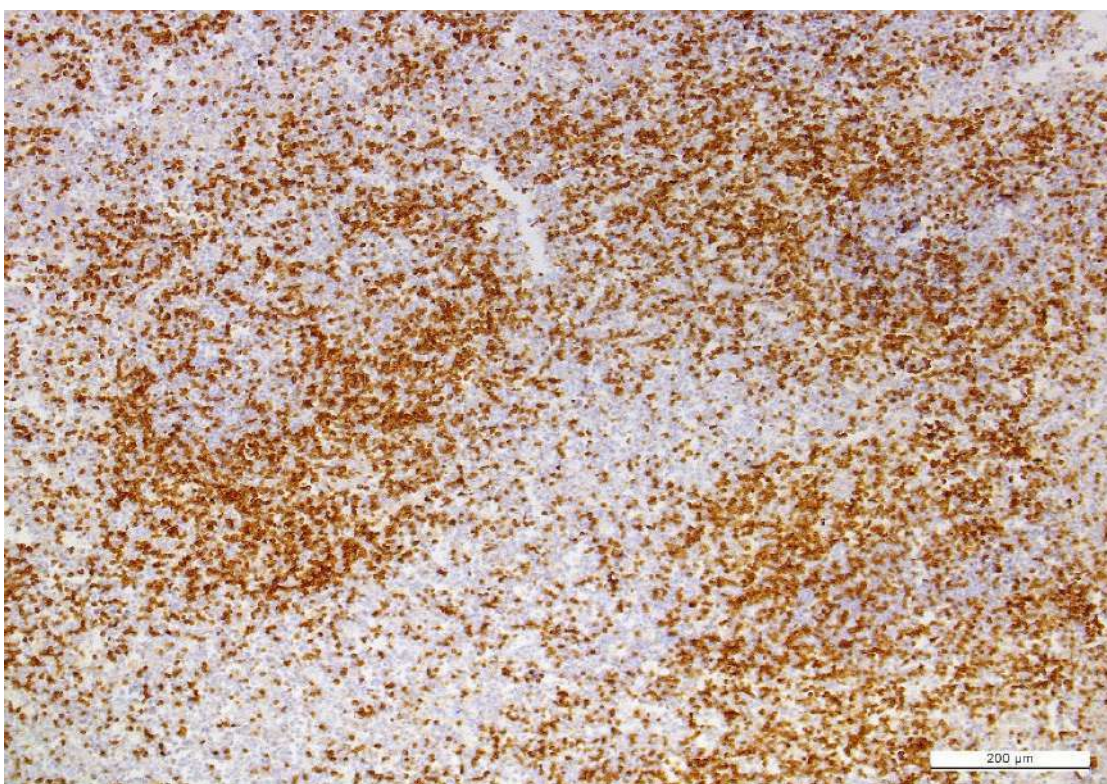


Рис. 3.70. Медіастинальна форма лімфоми. Позитивна реакція маркера CD3 лімфобластними клітинами лімфоїдних вузликів лімфатичного вузла. Імуногістохімічне забарвлення CD3 маркером. х 100.

Таблиця 3.9.

Розміри лімфобластів середостінних лімфатичних вузлів при медіастинальній лімфомі у котів

Показники	В-клітинна лімфома	Т-клітинна лімфома
Площа цитоплазми, мкм ²	51,89±1,98	29,57±2,14
Площа ядра, мкм ²	30,89±1,67	18,54±1,12
Ядерно-цитоплазматичне відношення	0,59±0,01	0,62±0,03

Отже, описані нами випадки медіастинальної форми лімфоми реєструвались у молодих котів, віком від трьох до шести років з ознаками, характерними для першої групи бімодальної клінічної картини: задишка, утруднене ковтання, анемічність та іктеричність слизових оболонок, плевральний випіт, часткова дисфагія, збільшення лімфатичних вузлів і загальна кахексія. За аутопсії були виявлені масивні новоутворення на м'яких тканинах бічної грудної стінки та ураження середостінних лімфатичних вузлів та легень. Дослідженнями цитопатологічних зразків із трансудату та біоптатів медіастинальних лімфатичних вузлів виявлено мономорфні неопластичні лімфоїдні клітини з круглими гіперхромними ядрами та невеликою цитоплазмою. Імуногістохімічно неопластичні клітини були в більшості позитивними до маркера CD79a та виявляли незначну експресію до CD3 маркера. Проте, за результатами наших досліджень встановлено, що у 72,7 % котів переважав В-клітинний фенотип. Таким чином, за результатами комплексного патоморфологічного та морфометричного дослідження було встановлено медіастинальну велику В-клітинну лімфому (DLBCL). Отримані результати досліджень дадуть можливість практичним лікарям ветеринарної медицини оптимізувати схему хіміотерапевтичного лікування з врахуванням імунофенотипу лімфоми з подальшим прогнозуванням перебігу захворювання.

Результати досліджень опубліковано у наукових працях:

Орєхова Х.В., Щєбєнтовська О.М. (2023). [121, 196].

3.4. Характеристика екстранодальної лімфоми у котів

3.4.1. Клінічна картина, УЗД характеристика, гематологічні та біохімічні показники крові у котів за ренальної лімфоми

Упродовж дослідного періоду (2019-2023 рр.) відсоток котів з екстранодальною лімфомою був невеликий: у клініці «Доктор Вет» діагностовано 22 випадки, у клініці «Ветпрактик» – 15, причому першочергово виявляли ураження нирок. Основними претензіями від власників тварин, які звертались до клінік була втрата та відсутність апетиту у котів, полідипсія та поліурія, яка в більшості випадків тривала упродовж 1-1,5 місяців. При клінічному огляді виявляли худорлявість, апатію, неприємний запах з рота, блідість слизових оболонок, в окремих випадках слизові оболонки ротової порожнини та очей набували жовтуватого відтінку, живіт візуально збільшений в об'ємі. Шляхом пальпації не завжди вдавалось визначити за рахунок якого органу збільшений живіт, тому згідно протоколу досліджень проводили УЗД діагностику. Експрес-тест на вірус лейкозу був негативним. Слід зазначити, що коти, які поступали в клініки, зазвичай, були у важкому стані з подібними ознаками, а саме: апатія, анорексія та поліурія. Проведені гематологічні дослідження показали (табл. 3.10), що у хворих котів виявляли достовірне підвищення кількості лейкоцитів до $24,0 \pm 1,34$ ($P > 0,001$) та сегментоядерних нейтрофілів до $72,0 \pm 1,33$ ($P > 0,01$). За біохімічного дослідження сироватки крові встановлено достовірне підвищення рівню креатиніну до $810,5 \pm 4,13$ мкмоль/л, сечовини до $30,52 \pm 1,97$ ммоль/л, активності АлАТ на 22,5 % при відносно фізіологічних показниках лужної фосфатази (ЛФ) (табл. 3.11).

При ультрасонографічному дослідженні черевної порожнини котів у всіх випадках встановлено різке збільшення в об'ємі обох нирок, зміну їх форми, нерівність контурів, неоднорідно підвищену ехогенність кортикального шару нирок, дрібнозернисту структуру (рис. 3.71 a,b) та вузлуватість (рис. 3.71 c,d). Пошарова диференціація та наповнення медулярного шару слабо диференціювалась (рис. 3.71 c,d). Трабекулярні синуси дещо розширені, лоханка помірно дилатована з ознаками пієлоектазії.

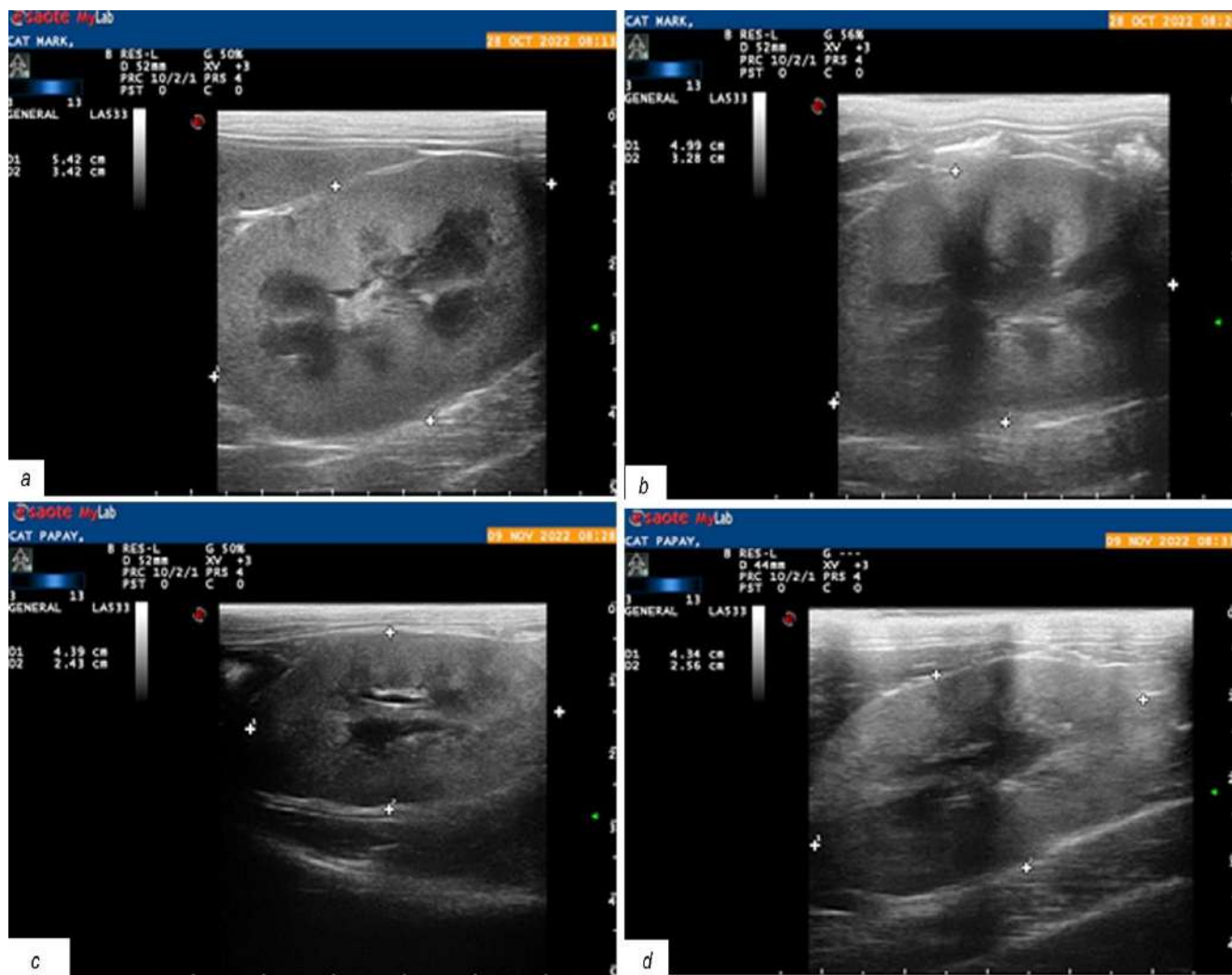


Рис. 3.71. Ультразвукове зображення нирок котів з первинною нирковою лімфомою. Нирка збільшена, кортико-медулярна диференціація порушена, паренхіма неоднорідно гіпоехогенної «згладженої» структури.

При морфологічному дослідженні крові котів за ренальної лімфоми встановлено достовірне підвищення кількості лейкоцитів у 4,5 разів ($P > 0,001$) за рахунок збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів на 33,3 % та зменшення лімфоцитів, відповідно на 38,8 %. Лейкоцитоз на тлі злоякісних лімфопроліферативних захворювань та лімфоми, зазвичай, має несприятливий прогноз і вимагає термінового лікування – хіміотерапії. Крім того, у досліджуваних котів встановлено достовірне зниження кількості еритроцитів на 21,9 %, вмісту гемоглобіну на 36,6 % та гематокриту на 34,57 % (табл. 3.10). Виражена лімфопенія у котів при ренальній лімфомі вказує на несприятливий прогноз.

Таблиця 3.10.

**Гематологічні показники крові у котів за ренальної форми лімфоми
($M \pm m$, $n=5$)**

Показник	Одиниці виміру	Показники клінічно здорових котів (5-10 р)	Результат дослідження
Лейкоцити (WBC)	Г/л	$5,3 \pm 0,97$	$24,0 \pm 1,34^{***}$
Еритроцити (RBC)	Т/л	$7,05 \pm 1,03$	$5,5 \pm 1,89$
Гемоглобін (Hb)	г/л	$134,0 \pm 2,13$	$85 \pm 0,77^{***}$
Гематокрит (HCT)	%	$37,6 \pm 0,74$	$24,6 \pm 1,24^{**}$
Тромбоцити (Plt)	Г/л	$413,0 \pm 3,06$	$412 \pm 3,32$
Лейкограма			
Еозинофіли (Eos)	%	$4,0 \pm 1,05$	$3 \pm 1,55$
Паличкоядерні нейтрофіли	%	$2,0 \pm 0,67$	$1 \pm 0,89$
Сегментоядерні нейтрофіли (Grn)	%	$54,0 \pm 1,25$	$72,0 \pm 1,33^{**}$
Лімфоцити (Lymph)	%	$36,0 \pm 1,32$	$22,0 \pm 1,06^{**}$
Моноцити (Mon)	%	$4,0 \pm 0,12$	$2,0 \pm 0,07$

Примітка: $**p > 0,01$; $***p > 0,001$ у порівнянні до показників клінічно здорових котів.

У сироватці крові котів встановлено високий вміст креатиніну, що знаходився на рівні $810,5 \pm 4,13$ мкмоль/л, що у 6 разів перевищував референсні показники здорових тварин та достовірне підвищення сечовини в 4,3 рази, що вказує на порушення клубочкової фільтрації. Така ниркова дисфункція, зазвичай, спричинена прямим ураженням органу пухлиною. Крім того, відзначали підвищення активності ензимів АЛАТ та ЛФ, відповідно, на 48,7 % та 32,8 %. Зменшення виведення фосфору з уражених нирок призводить також до порушення системного кальцій-фосфорного гомеостазу, що характеризується підвищенням концентрації фосфору в сироватці крові у 3,3 рази (табл. 3.11).

Таблиця 3.11.

**Біохімічні показники крові у котів за ренальної форми лімфоми
($M \pm m$, $n=5$)**

Показник	Одиниці виміру	Показники клінічно здорових котів (5-10р.)	Результат досліджень
Альбумін (Ab)	г/л	$39,2 \pm 1,76$	$28,3 \pm 1,65$
Загальний білок (TP)	г/л	$71,1 \pm 2,13$	$68,4 \pm 1,21$
Білірубін загальний (Obil)	мкмоль/л	$1,17 \pm 0,54$	$1,52 \pm 1,02$
Аланінамінотрансфераза (ALT)	Од/л	$61,8 \pm 1,32$	$91,9 \pm 2,14^{***}$
Аспартатамінотрансфераза (AST)	Од/л	$10,8 \pm 1,02$	$41,1 \pm 0,95^{***}$
Лужна фосфатаза (Alp)	Од/л	$58,9 \pm 1,07$	$78,2 \pm 1,22^{**}$
Глюкоза (Glu)	ммоль/л	$5,98 \pm 1,45$	$6,35 \pm 0,34$
Сечовина (Urea)	ммоль/л	$7,1 \pm 0,76$	$30,52 \pm 1,97^{***}$
Креатинін (Crea)	мкмоль/л	$136,2 \pm 2,34$	$810,5 \pm 4,13^{***}$
Гамма- глутамілтрансфераза (Ggt)	Од/л	$1,7 \pm 0,33$	$5,1 \pm 0,74^{**}$
Холестерин (Chol)	ммоль/л	$5,9 \pm 0,87$	$5,22 \pm 1,01$
Кальцій (Ca)	ммоль/л	$2,48 \pm 1,64$	$2,53 \pm 0,98$
Фосфор (P)	ммоль/л	$1,18 \pm 1,17$	$3,88 \pm 0,21^*$

Примітка: $*p < 0,05$; $**p < 0,01$, $***p < 0,001$, порівняно зі показниками здорових котів

Цитологічно у мазках, забарвлених за Романовським-Гімзою, виявляли значну кількість крупних, округлих за формою клітин з невеликою базофільною цитоплазмою, великим круглими ядрами із щільним хроматином та, переважно, одним або двома ядерцями. Анізоцитоз та анізокаріоз помірно виражений, мітози атипові. Між лімфобластами візуалізувались ниркові епітеліальні клітини з світлою, широкою, подекуди вакуолізованою цитоплазмою, великими круглими ядрами з одним ядерцем (рис. 3.72).

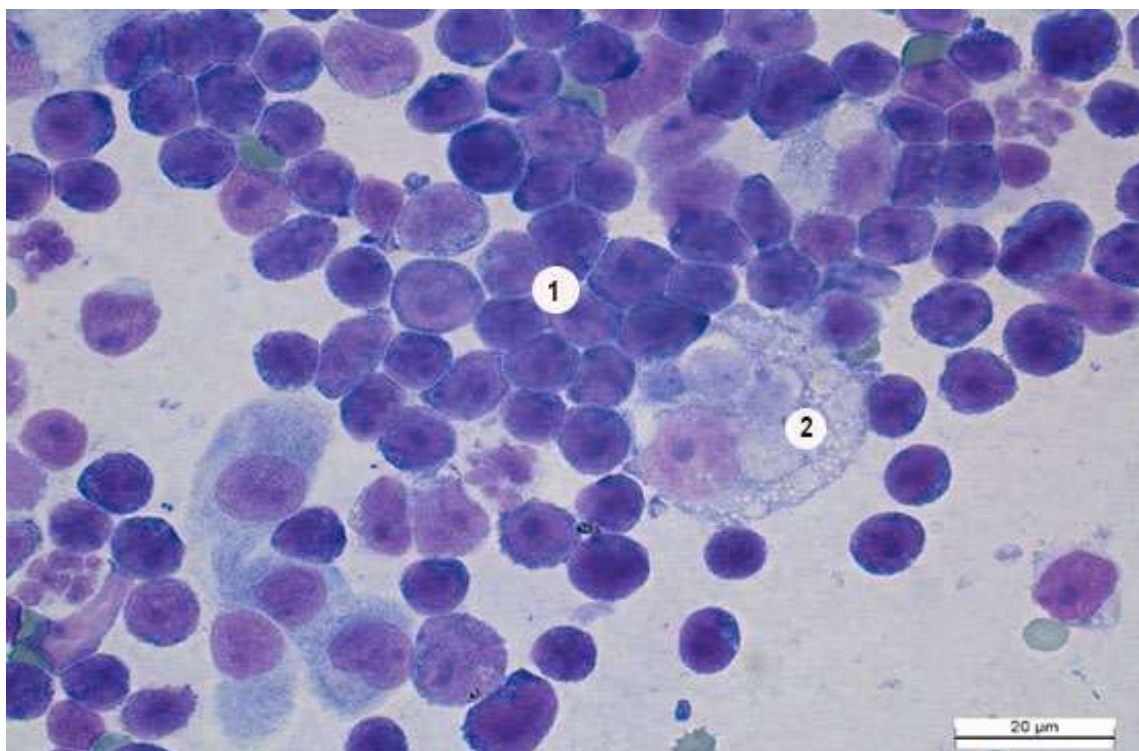


Рис. 3.72. Цитологічний зразок нирки kota за ренальної форми лімфоми. Дифузна мономорфна популяція великих лімфобластів (1) та епітеліальних клітин з вакуолізованою цитоплазмою (2). Романовський-Гімза. x 1000.

3.4.2. Патологоанатомічні зміни та патогістологічна характеристика органів і тканин у котів за ренальної лімфоми

При проведенні патологоанатомічного розтину котів (n=9) встановлено збільшені, деформовані, нерівномірно забарвлені від темно-вишневого до сіро-коричневого кольору нирки з білуватими горбистими туморозними випинаннями різних розмірів (рис. 3.73, 3.74). Капсула знімалась легко. На розрізі виявляли чітко контуровані, білого кольору, салоподібної консистенції розростання, які займали майже всю частину кіркового шару нирок. Границі між кірковим та мозковим шаром, в більшій мірі, не диференціювались, іноді важко проглядались (рис. 3.75 – 3.77). Розміри туморозних утворень значно варіювали, іноді займали площу як кіркового, так і мозкового шару аж до ниркової миски (рис. 3.75). Неопластичних уражень інших паренхіматозних органів у котів не встановлено.

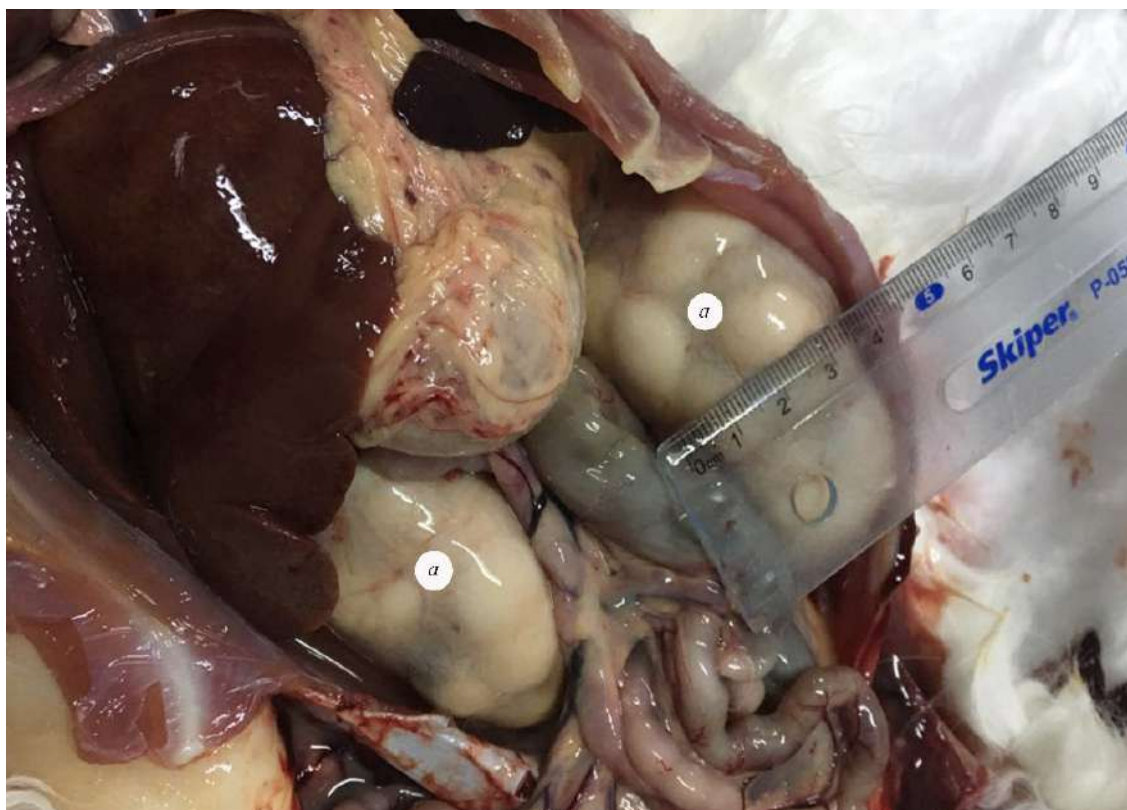


Рис. 3.73. Нирки кота за ренальної лімфоми. Поверхня нирок горбиста за рахунок дифузних туморозних розростань білого кольору (а).



Рис. 3.74. Нирка кота за ренальної лімфоми. Туморозні салоподібні випинання різних розмірів у паренхімі нирки.



Рис. 3.75. Нирки кота за ренальної форми лімфоми. Відсутня диференціація між кірковим та мозковим шаром, масивні розростання в кірковому та мозковому шарах нирок (а).

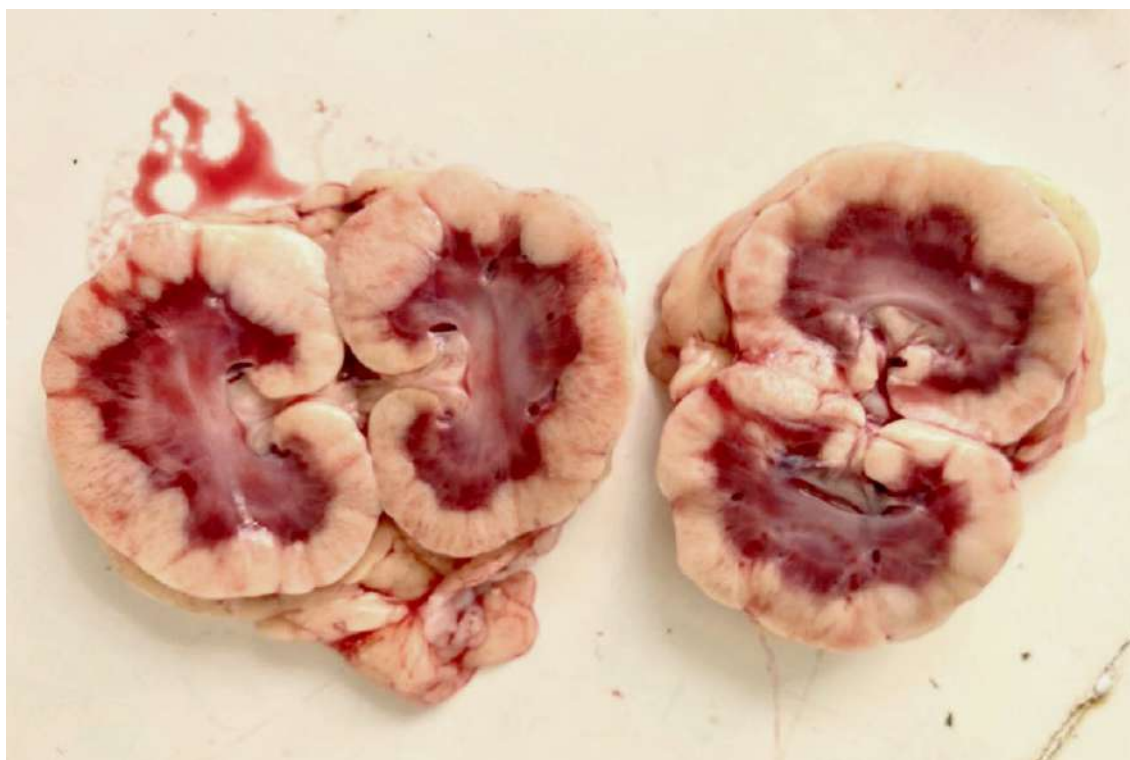


Рис. 3.76. Нирка кота за ренальної форми лімфоми. Повне заміщення кіркового шару обох нирок масивним туморозним салоподібним розростанням.



Рис. 3.77. Нирка кота за ренальної форми лімфоми. Відсутня диференціація між кірковим та мозковим шаром, дифузні салоподібні розростання в паренхімі.

За патогістологічного дослідження нирок котів відзначали порушення архітекτονіки органу, масивну дифузну інфільтрацію інтерстицію, як кіркового так і мозкового шарів мономорфними лімфобластними клітинами, які щільно розміщували одні біля одних, заповнюючи просвіти між клубочками та канальцями нирки (рис. 3.78–3.83). Мультифокальні агрегати великих круглих лімфобластних клітин також інфільтрували субкапсулярну поверхню нирок. Епітеліоцити проксимальних та дистальних звивистих канальців у стані вакуольної та гідропічної дистрофії, вираженими дистрофічно-некробіотичними змінами (рис. 3.79). Ядра епітеліоцитів у стані рексису та лізису. Просвіти проксимальних та дистальних канальців заповнені білковими масами. Ядра лімфобластних клітин округлі, гіперхромні, переважно з одним ядерцем. Клітинний атипізм помірно виражений (рис. 3.80). Цитоплазма цих клітин вузька, оксифільна, помірно відмежована. Мітотичні фігури атипові, 3-5 в полях зору.

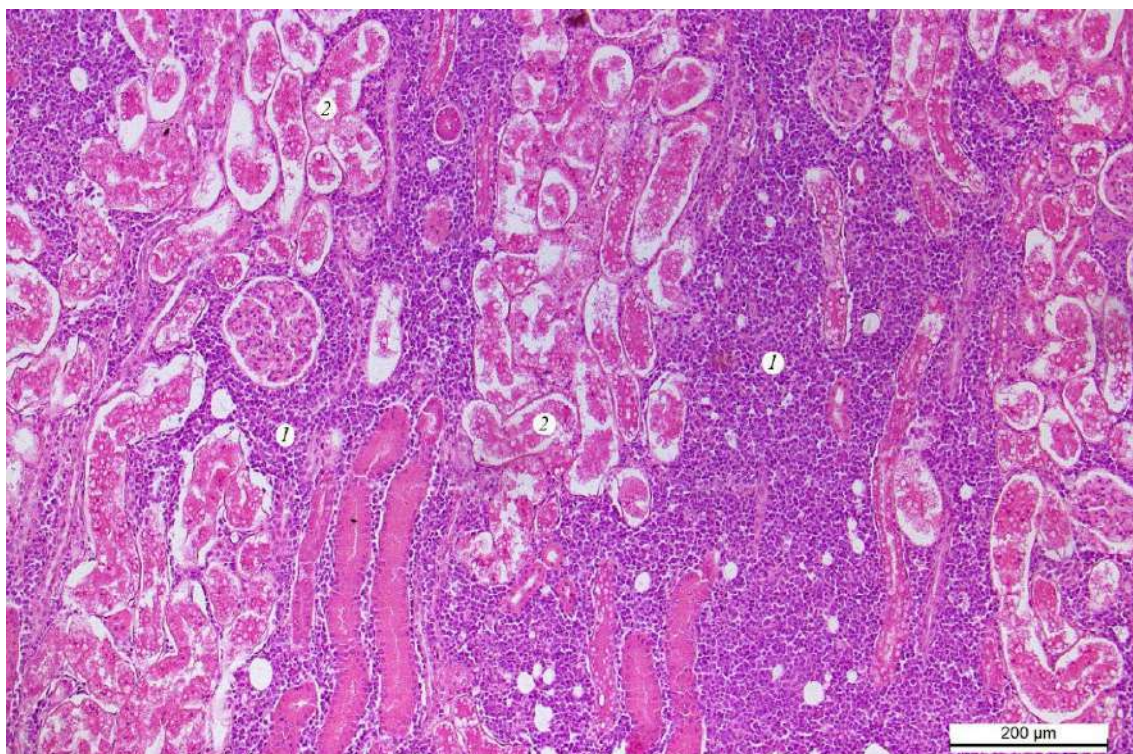


Рис. 3.78. Лімфома нирки кота. Масивна дифузна лімфобластна проліферація (1), просвіти каналців заповнені білковими масами, ядра в стані рексису та лізису (2). Гематоксилін та еозин. х 100.

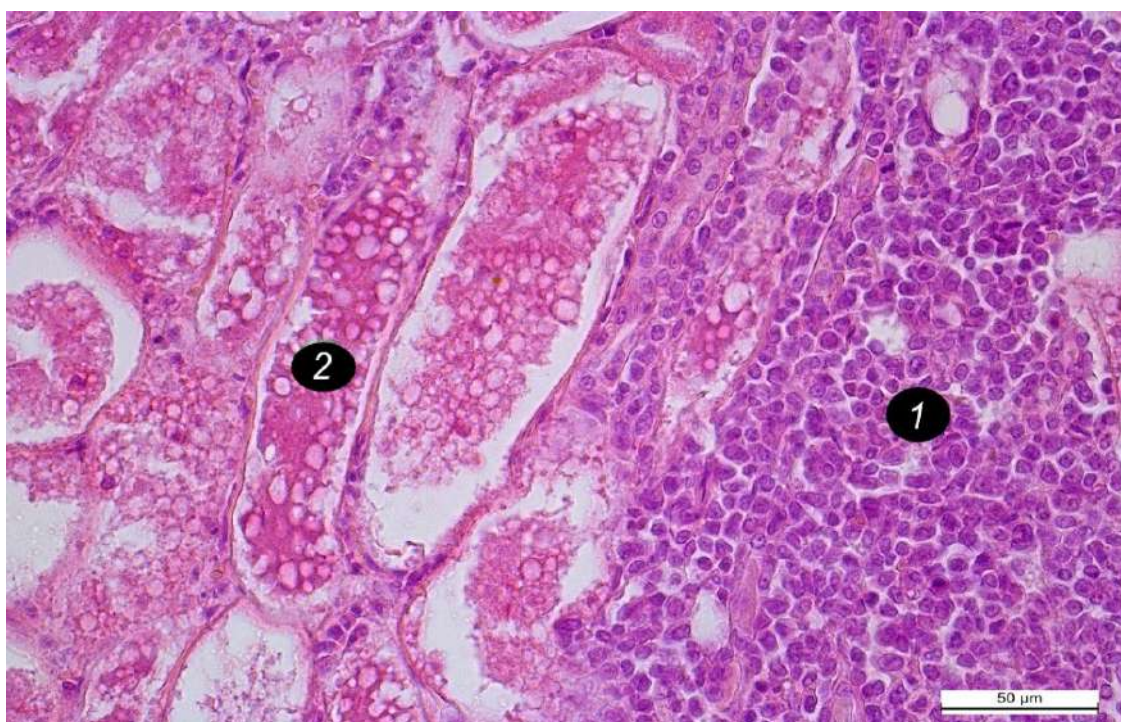


Рис. 3.79. Лімфома нирки кота. Дифузна лімфобластна проліферація (1), некроз каналців нирок (2). Гематоксилін та еозин. х 400.

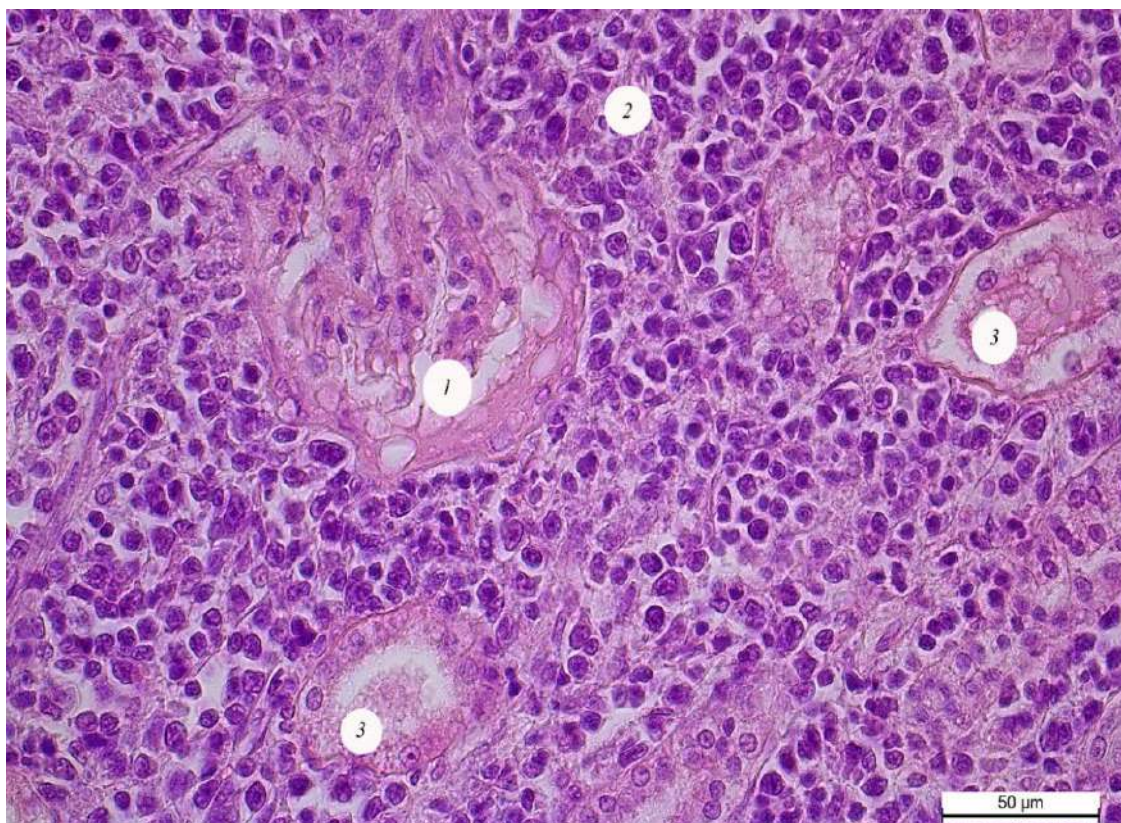


Рис. 3.80. Лімфома нирки кота. Проліферація лімфобластними клітинами з помірно вираженим клітинним атипізмом (2), білкові маси у просвіті клубочка (1), дистрофія каналців (3). Гематоксилін та еозин. x 400.

Патогістологічними дослідженнями встановлено, що більшість структур паренхіми нирок піддавались дистрофічно-некробіотичним змінам. Уражались також і судинні клубочки. Капсула Шумлянського-Боумана потовщувалась, стінки судин просякнуті білками плазми (рис. 3.81, 3.82). В артеріолах ендотеліальні клітини набрякли, подекуди десквамовані.

Механізм розвитку гострої ниркової недостатності, який клінічно виявляли у котів, пов'язаний саме з утворенням лімфоматозного інтерстиціального інфільтрату, який призводив до компресії каналців та інтерстиціальних капілярів, інтратубулярної обструкції та підвищення постгломерулярного судинного опору. Мікроскопічне дослідження тканини нирок дало можливість виявити специфічну клітинну інфільтрацію однотиповими лімфобластними клітинами, які практично заповнювали інтерстиціальний простір (рис. 3.82).

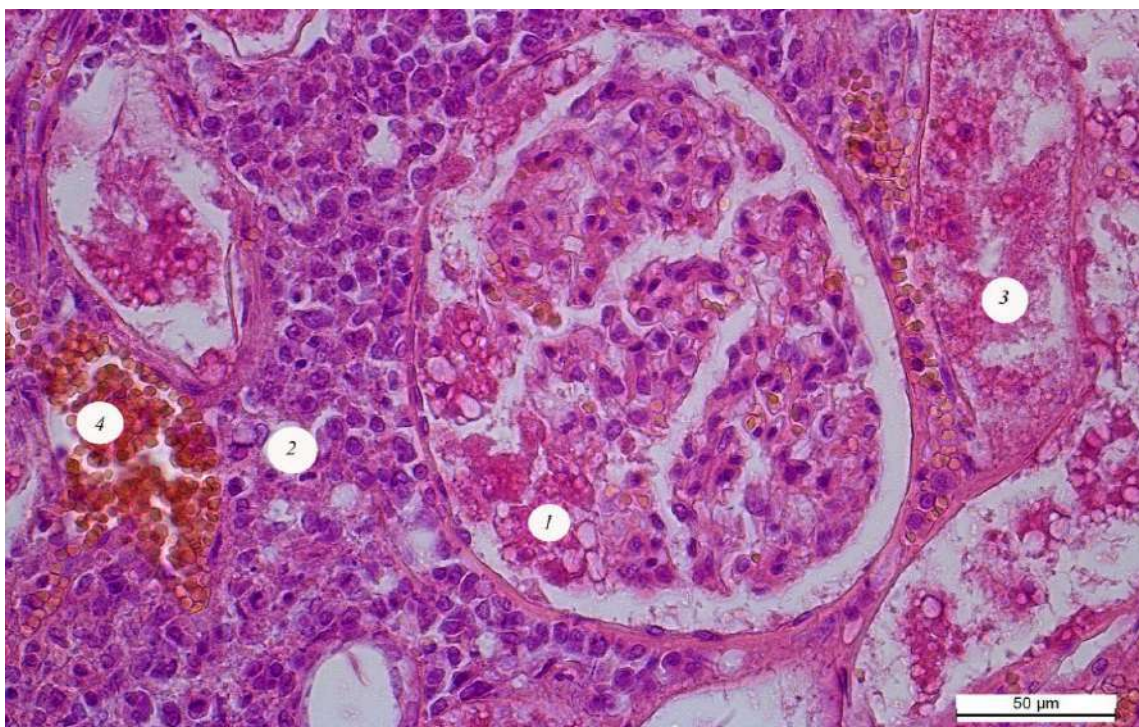


Рис. 3.81. Лімфома нирки kota. Білкові маси в просвіті клубочка (1), лімфобластна проліферація (2), некроз каналців нирок (3), еритростаз (4). Гематоксилін та еозин. х 400.

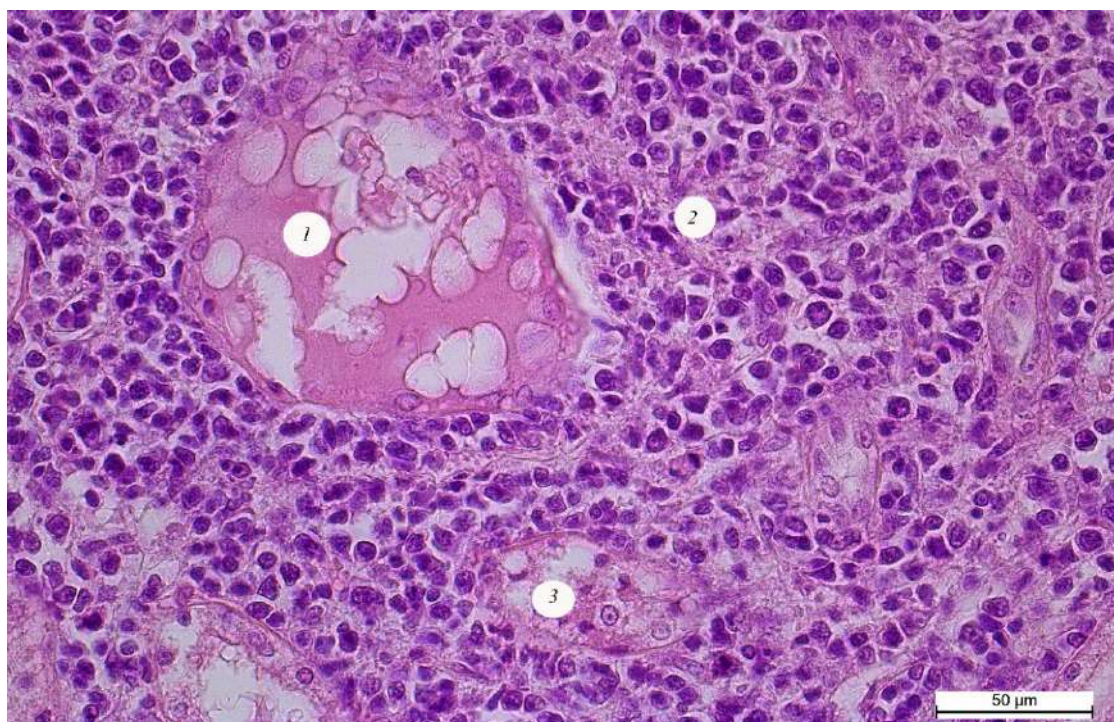


Рис. 3.82. Лімфома нирки kota. Некроз клубочка (1), лімфобластна проліферація (2), вакуольна дистрофія проксимального каналця (3). Гематоксилін та еозин. х 400.

З метою верифікації фенотипу лімфоми застосовували імуногістохімічний метод із використанням маркерів CD3, CD79a та маркеру проліферації Ki-67. У результаті імуногістохімічного дослідження встановлено, що у 77,7 % випадків ренальної лімфоми у котів виявляли інтенсивну цитоплазматичну експресію неопластичних клітин як кіркового, так і мозкового шарів нирок маркером CD79a (рис. 3.83, 3.84), що підтверджувало В-клітинний тип лімфоми. Проте, між лімфобластними В-клітинами клітинами виявляли поодинокі розсіяні дрібні Т-лімфоцити, що мали помірну експресію маркером CD3+ (рис. 3.85, 3.86). Клітинні ядра В-лімфобластів великі, круглі, переважно з одним центрально розміщеним ядерцем. Анізоцитоз та анізокаріоз помірно виражений.

Виражену позитивну цитоплазматичну експресію маркера CD3 виявили лише у 22,3 % випадків ренальної лімфоми у котів, що вказувало на їх Т-клітинний імунофенотип.

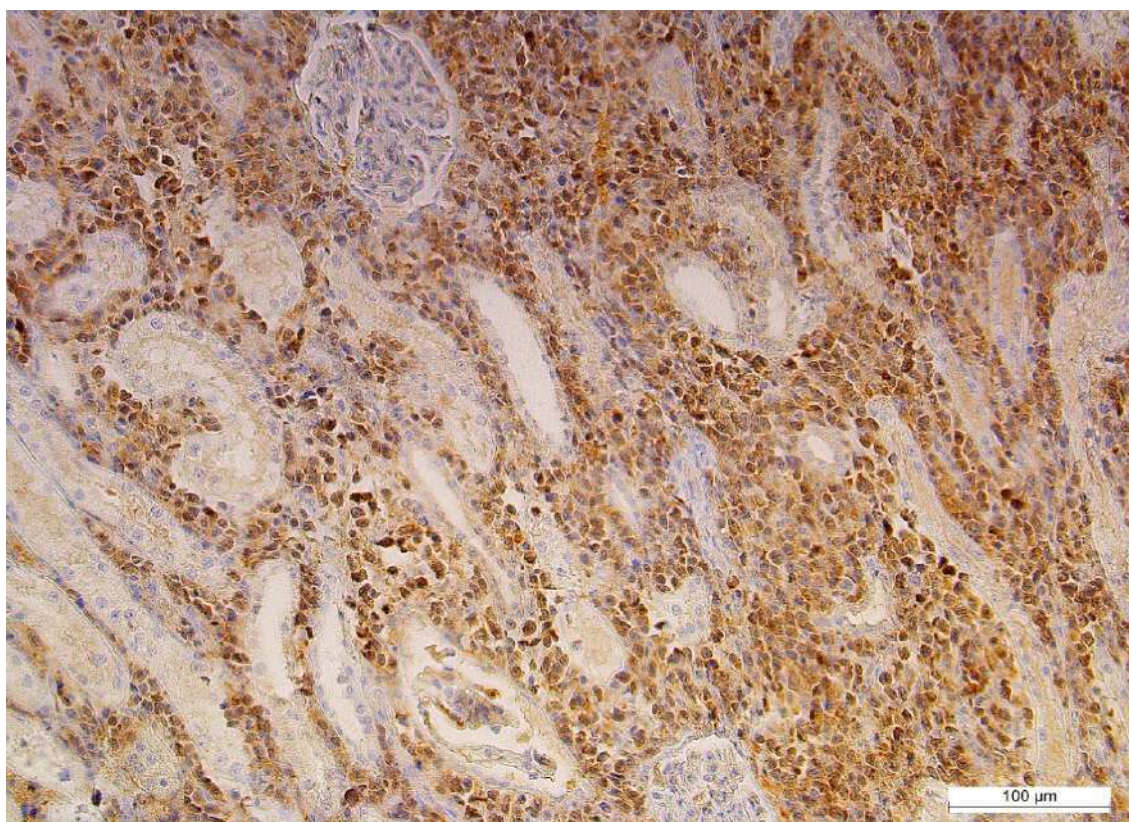


Рис. 3.83. Лімфома нирки kota. Позитивний результат мічення на антитіло CD79a неопластичних В-клітин, що інфільтрують паренхіму нирок. Імуногістохімічна типізація CD 79a маркером. x 200.

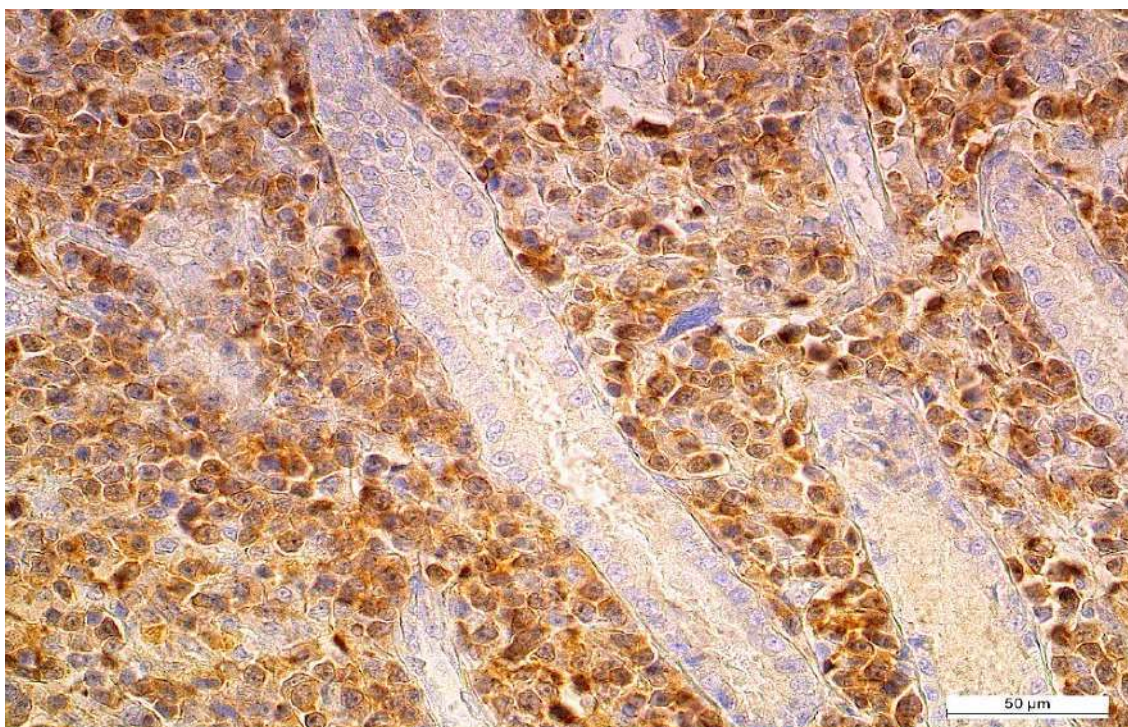


Рис. 3.84. Лімфома нирки kota. Клітинні ядра великі, круглі з одним ядерцем. Позитивний результат мічення на антитіло CD79a неопластичних В-клітин, що інфільтрують каналці нирок. x 400.

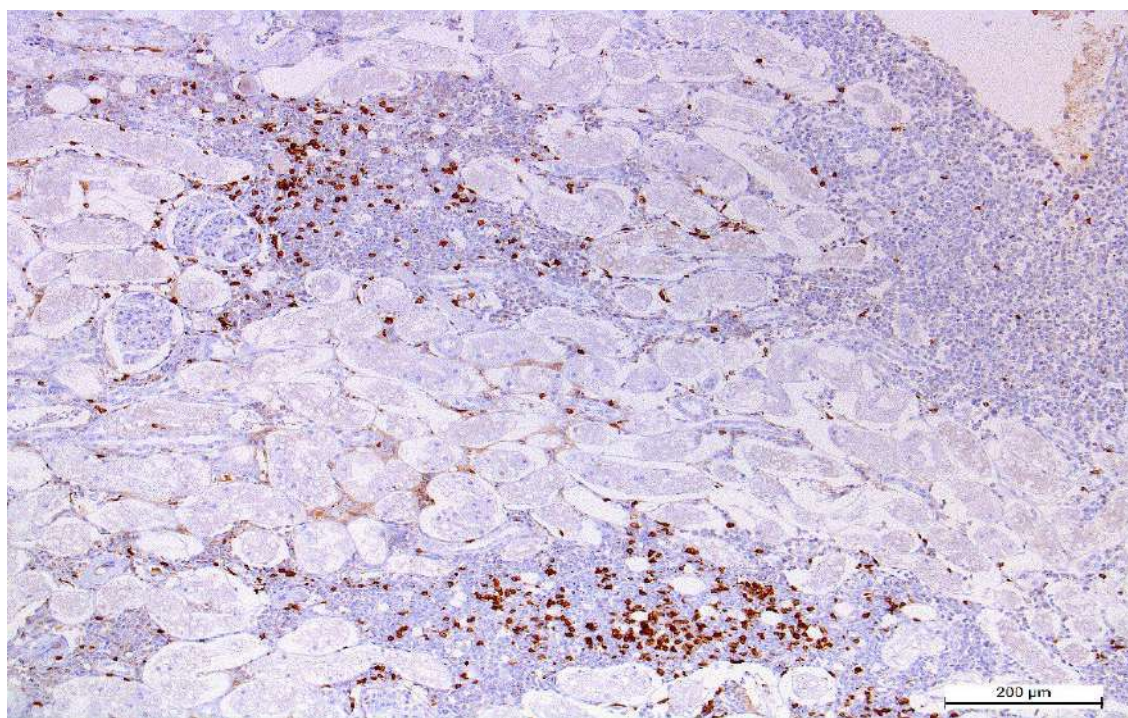


Рис. 3.85. Лімфома нирки kota. Серед великої кількості лімфобластних клітин, що інфільтрують паренхіму нирки наявні поодинокі CD3+ Т-лімфобласти. Імуногістохімічна типізація CD3 маркером. x 100.

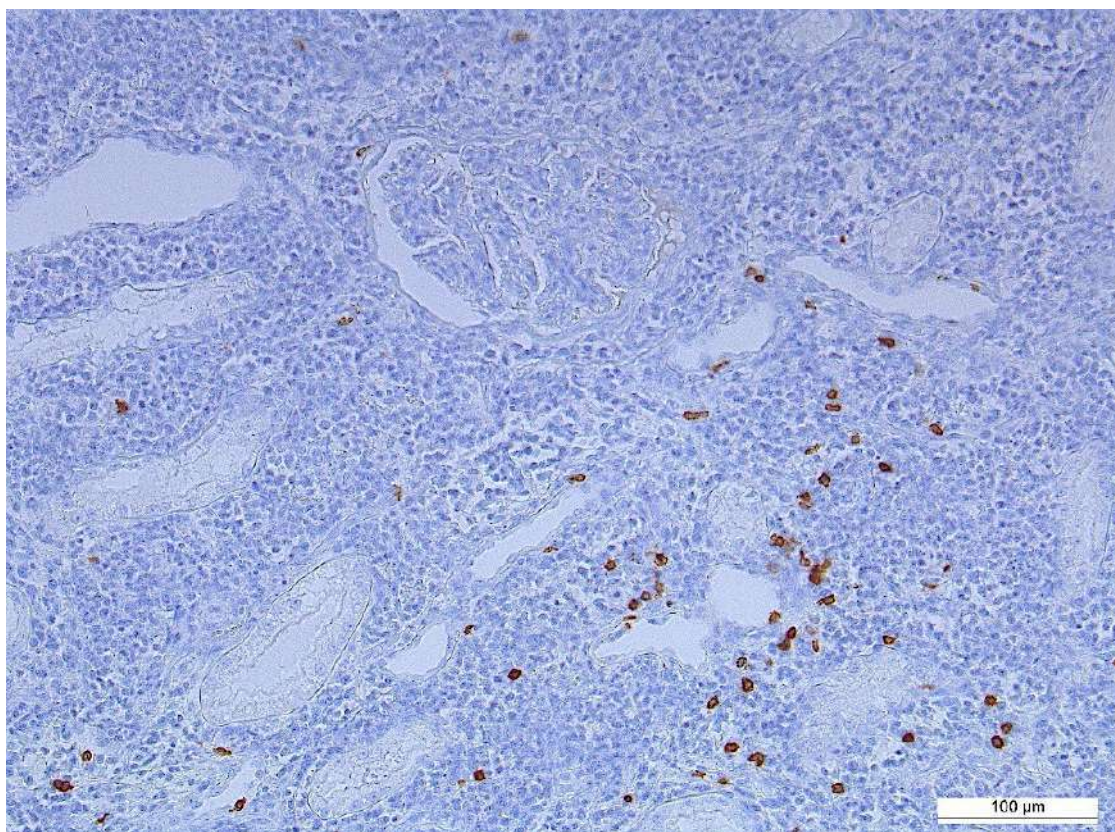


Рис. 3.86. Лімфома нирки kota. Поодинокі CD3+ Т-лімфобласти. Імуногістохімічна типізація CD3 маркером. х 200.

Проліферативну активність новоутворень, визначали шляхом експресії білка Ki-67, який синтезується в ядрах клітин у фазах G_1 , S, G_2 та під час мітозу. Після мітозу, при переході клітин у фазу G_0 , білок Ki-67 швидко піддається катаболізму і вже не виявляється в ядрах інтерфазних клітин. Концентрація Ki-67 у ядрах клітин підвищується від фази G_1 до мітозу, причому під час пресинтетичного періоду білок визначається виключно в ядерцях, а у постсинтетичний період інтенсивно забарвлюється вся каріоплазма. Імуногістохімічне дослідження фрагментів нирок котів показало достатньо високу проліферативну активність В-клітинної лімфоми (рис. 3.87, 3.88). Рівень експресії Ki-67, як критерію можливого метастатичного ураження, показав достатньо високу проліферативну активність $\geq 24\%$, що свідчить про несприятливий прогноз та ймовірність поширення патологічного процесу.

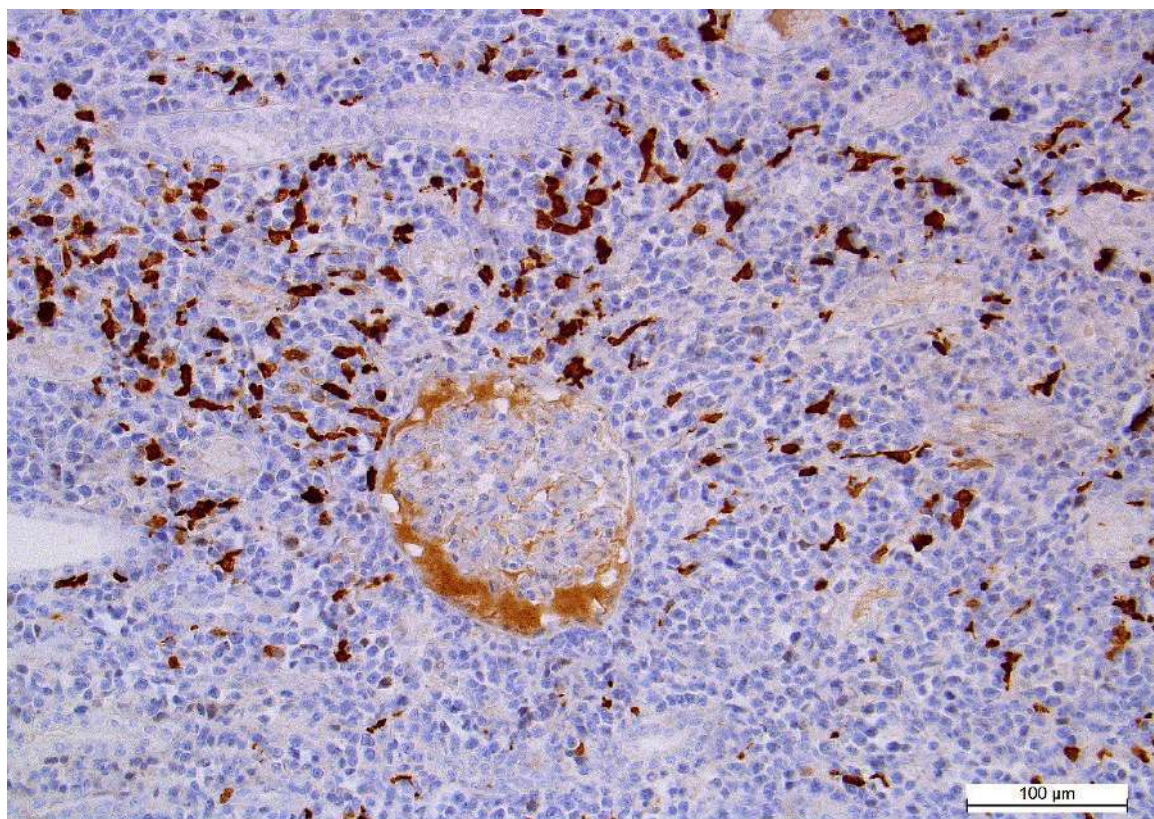


Рис. 3.87. Лімфома нирки kota. Висока проліферативна активність у ядрах лімфобластних клітин. Ki-67 маркер. x 200.

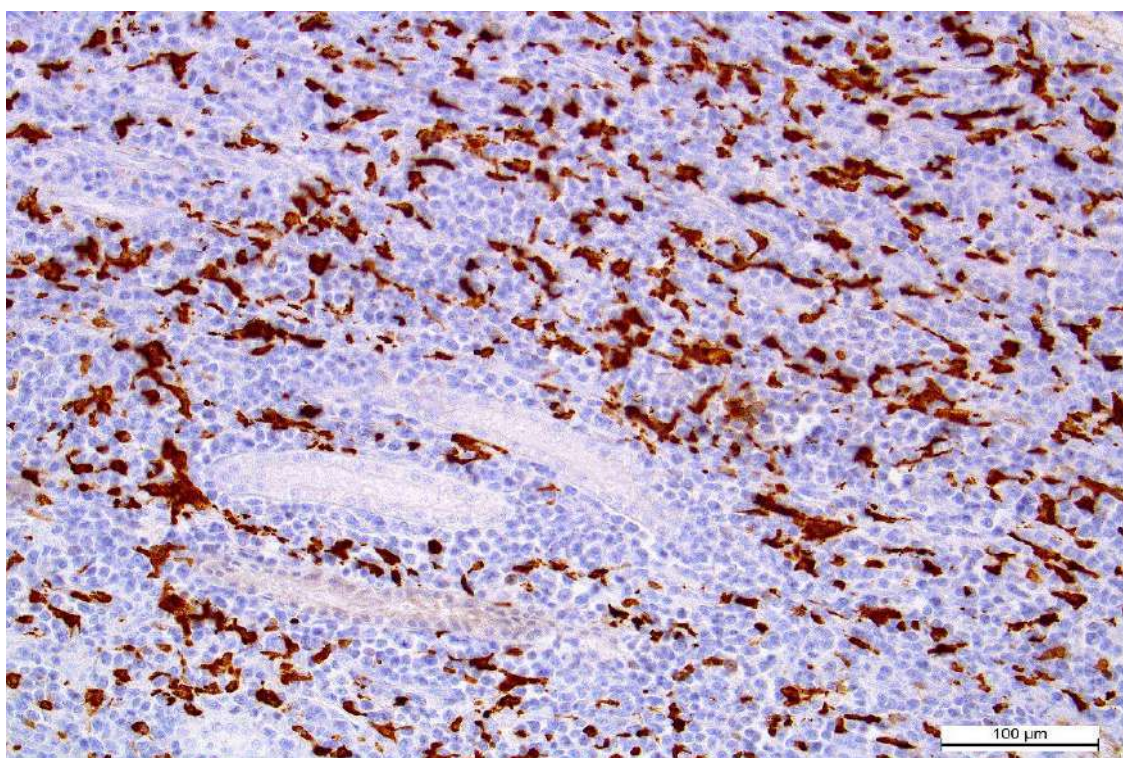


Рис. 3.88. Лімфома нирки kota. Кірковий шар. Висока проліферативна активність у ядрах лімфобластних клітин. Ki-67 маркер. x 200.

Підсумовуючи результати досліджень слід зазначити, що ультразвукографічно в описаних нами випадках лімфоми у котів виявляли двосторонні ураження нирок. Цитологічна картина біоптатів представлена мономорфною популяцією великих лімфобластів, що корелювали з результатами досліджень інших вчених. Імуноферментний тест на FeLV та FIV були негативними. На сьогодні слід враховувати те, що все частіше проводять профілактичні заходи серед тварин (вакцинації), тому кореляційний зв'язок FeLV з розвитком лімфоми може бути дещо зменшений. Проведені дослідження засвідчили про первинну ниркову лімфому у безпородних котів, оскільки уражень інших органів під час проведення патологоанатомічного розтину не було встановлено. З моменту постановки остаточного діагнозу та початку лікування дев'ять котів загинуло упродовж 1 року. Пізня діагностика не сприяє швидкому одужанню, навіть після проведення відповідної хіміотерапії. Застосований метод цитологічного дослідження був швидким та інформативним, особливо для попередньої діагностики лімфоми. Гістологічними дослідженнями встановлено порушення архітекτονіки органу, масивну дифузну інфільтрацію інтерстицію кіркового і мозкового шарів нирок. Лімфобластні клітини мали великі гіперхромні ядра з помітними ядерцями та невеликою цитоплазмою. За твердженнями клініцистів, ниркову лімфому необхідно розглядати як потенційну причину важкої азотемії, і приймати як основний диференціальний діагноз серед новоутворень нирок у котів. Крім того, при детальному вивченні змін у нирках необхідно диференціювати лімфому від піогранулематозного запалення та інфекційного перитоніту у котів. Подальша верифікація лімфоми у котів ґрунтувалась на результатах імунофенотипування з використанням імуногістохімічних маркерів CD3 та CD79a. Було встановлено, що лімфобластні клітини, які масивно інфільтрували кірковий та мозковий шар нирок у котів у 77,7 % випадків мали інтенсивну цитоплазматичну експресію CD79a маркером, що підтверджувало популяцію В-лімфобластів. Проте у 22,3 % випадків ренальної лімфоми встановлено позитивну експресію клітин CD3 маркером, що свідчило про Т-клітинний імунофенотип.

Отже, комплекс клінічних, цитологічних, патоморфологічних та імуногістохімічних досліджень дали можливість верифікувати у котів, пацієнтів клінік «Доктор Вет» та «Ветпрактик» м. Львова переважання первинної екстранодальної В-клітинної форми лімфоми з високою проліферативною активністю.

Результати досліджень опубліковано у наукових працях:

Орехова Х.В., Щебентовська О.М. (2023). [122, 196].

Висновок до розділу 3

Отже, за результатами наших досліджень можна зазначити наступне: аліментарну лімфому у котів старшого віку слід підозрювати при хронічній втраті ваги, анорексії та розладах шлунково-кишкового тракту. При пальпації живота у котів вдається виявляти щільні вузликові утворення, проте полегшує оцінку стану шлунково-кишкового тракту УЗД черевної порожнини. Ультразвукові дослідження дають змогу виявляти порушення нормальної поширеної будови стінки кишечника, встановити зниження ехогенності, лімфаденомегалію та попередньо встановити діагноз на лімфому. За результатами патологоанатомічних та патогістологічних досліджень можна остаточно верифікувати аліментарну (абдомінальну) лімфому, що характеризується дифузними ураженнями не тільки тонкого відділу кишечника, шлунка та брижових лімфатичних вузлів, але в окремих випадках – печінки, підшлункової залози та селезінки. Патогістологічно нами встановлено дифузну мономорфну лімфобластну проліферацію у брижових лімфатичних вузлах, червоній пульпі селезінки, периваскулярні проліферати в паренхімі печінки та підшлунковій залозі. Імуногістохімічно провели фенотипування лімфобластних клітин CD3 та CD79a маркером, що дало змогу верифікувати популяцію Т- та В-лімфобластів. За результатами наших досліджень встановлено, що у тринадцяти котів з аліментарною лімфомою (76,5 %) виявляли позитивну експресію до маркера CD 79a, що дозволило класифікувати її, як великоклітинну В-лімфобластну лімфому. Тоді, як у 4 котів (23,5 %) встановлено виражену експресією лімфобластів

до CD3 маркера, що дало можливість верифікувати Т-клітинну лімфому з поодинокими мітозами (низькодиференційовану).

У котів з медіастинальною лімфомою клінічно відзначали ознаки задишки, утруднене ковтання та відсутній апетит. При проведенні патологоанатомічного розтину загинувших тварин виявляли ураження костальної плеври, внутрішніх грудних та міжреберних м'язів, середостінних лімфатичних вузлів із накопиченням плевральної рідини у грудній порожнині, яку також вдавалось діагностувати рентгенологічним дослідженням при житті тварин. На підставі комплексних досліджень з використанням цитологічних та патогістологічних методів було виявлено мономорфну популяцію лімфобластів із значною гіперхромністю ядер, вузькою цитоплазмою, переважно одним, подекуди двома ядерцями. Клітинний анізоцитоз та анізокаріоз виражені, наявні атипові мітози, переважно 2-3 в полях зору. Дифузну клітинну проліферацію виявляли під капсулою лімфатичних вузлів та паракортикальній зоні, появу мегакаріоцитів з гіперхромними ядрами, вогнищеву проліферацію паренхіми легеневої тканини з порушенням її архітектоніки. Крім того, візуалізувались масивні дифузні проліферати лімфобластів, які поширювались шляхом інфільтрації між м'язами грудної стінки, що призводило до їх фрагментації та розпаду, заміщення лімфобластами м'язових волокон. Імуногістохімічно верифіковано, що за медіастинальної лімфоми у досліджуваних котів переважав В-літинний імунофенотип, який діагностували у 72,7 % випадків.

При ренальній лімфомі у котів нами були встановлені такі клінічні ознаки, як втрата апетиту, полідипсія та поліурія. Гематологічними та біохімічними дослідженнями крові встановлено значний лейкоцитоз, що розвивався на тлі прогресування лімфоми та виражена лімфопенія, що свідчила про несприятливий прогноз. Високий вміст креатиніну та сечовини вказував про порушення клубочкової фільтрації нирок, що спричинена прямим ураженням органу лімфобластними клітинами. Гістологічно виявляли масивні дифузні ураження інтерстицію нирок круглоклітинними лімфобластними елементами, які щільно заповнювали просвіти між клубочками та канальцями. Імуногістохімічно

верифіковано 77,7 % випадків котів з ренальною лімфомою з інтенсивною цитоплазматичною експресією CD79a маркером, що підтверджувало їх В-лімфобластний тип.

РОЗДІЛ 4

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Лімфома є найпоширенішим лімфопроліферативним захворюванням у котів, що становить від 50 до 90 % усіх гемопоетичних неоплазій. За твердженнями авторів [43, 65, 69] найчастіше у котів реєструють аліментарну лімфому (лімфому шлунково-кишкового тракту), але можуть уражатись й інші тканини – селезінка, нирки тощо. Менш поширеними формами лімфоми у котів є: лімфома середостіння (грудної клітки), периферична вузлова лімфома, яка уражає зовнішні лімфатичні вузли та екстранодальна лімфома (наприклад, захворювання, при якому уражається ніс, очі, нирки або шкіра). Лімфома може бути високого або низького ступеня злоякісності, що говорить нам про те, наскільки агресивно вона буде поводитися в організмі тварини [120, 146].

Незважаючи на статистику зменшення у світі захворювання котів на FeLV, поширеність лімфом, навпаки, зростає. Етіологічні чинники, наразі, невідомі. Існує теорія, що сприяють появі лімфоми деякі генетичні фактори. Ряд авторів вважає, що сіамські коти та споріднені породи мають набагато вищий ризик розвитку лімфоми [10, 16]. Специфіка породи, відсутність ретровірусів, ранній початок захворювання (переважно у віці до 2 років) і типова клінічна картина вказують на спадковість лімфоми у порід сіамського типу. Проте, ці припущення не завжди підтверджувались науковцями з різних країн світу.

За останні 30 років відбулися деякі тенденції щодо зміни віку котів та анатомічної локалізації лімфоми. Наприклад, у 1980-х роках за даними авторів [21, 60] найпоширенішими анатомічними формами були медіастинальні та мультицентричні лімфоми. Хворіли молоді коти (середній вік від 4 до 6 років), і більшість (від 60 % до 70 %) мали позитивний тест на FeLV [14, 24]. Сьогодні, великий відсоток діагностованих лімфом у котів локалізуються у шлунково-кишковому тракті (аліментарна лімфома), а середній вік становить від 10 до 12 років. При чому, більшість котів є негативними до FeLV.

За даними авторів [34, 65], які проводили ретроспективні дослідження лімфоми у котів у Великобританії зазначено, що найпоширенішою анатомічною

локалізацією, що становила від 40 до 50 % лімфом у котів була аліментарна. При цьому більшість тварин мали негативний аналіз крові на вірус лейкозу (FeLV) [39, 54, 142, 143]. Фактори ризику розвитку лімфоми, про які повідомляли у своїх публікаціях [42, 46, 54, 96] раніше, включали породні особливості – найбільше випадків реєстрували серед сіамських та східних порід котів із позитивним статусом FeLV та вірусом імунодефіциту котів (FIV) [96, 107, 108]. У кількох дослідженнях зазначали, що більшу схильність до захворювання мали самці, частіше стерилізовані [54, 107, 164], хоча за результатами інших досліджень не вдалося прослідкувати зв'язку між розвитком лімфоми, статтю та статусом стерилізованої тварини [96, 143]. Після публікації [23], який описав вплив внутрішнього та зовнішнього середовища як фактора ризику розвитку лімфоми в якому зазначив, що коти, які піддавалися впливу тютюнового диму, мали підвищений ризик розвитку лімфоми порівняно з котами, де господарі не курили. Інші екологічні фактори ризику лімфоми як у людей, так і в домашніх тварин включали вплив хімічних засобів, в тому числі й сільськогосподарської хімії [187, 188]. Фактори навколишнього середовища та статус вакцинації розглядалися як додаткові потенційні фактори ризику. Проте ці теорії не знайшли продовження та підтвердження іншими вченими.

Результати досліджень, проведені у клініках Великобританії у 2016 році засвідчили, що у котів найпоширенішою була аліментарна лімфома, на другому місці реєстрували медіастинальну та ниркову лімфому. Це узгоджується з іншими дослідженнями, де повідомлялося про аліментарну лімфому у котів у 40–50 % випадків від усіх досліджуваних випадків лімфоми [54, 143]. Анатомічна підгрупа з ураженням середостіння мала наймолодший зареєстрований середній вік 5,6 років, порівняно з іншими анатомічними підгрупами. Про подібні випадки повідомляли у своїх дослідженнях [46, 54, 83, 110, 192], враховуючи результати цитологічних та патогістологічних досліджень з яких 73 % випадків лімфоми класифікувалися як середнього/високого ступеня злоякісності, а 27 % мали низький ступінь злоякісності. У поточному дослідженні вік було визначено, як фактор ризику розвитку котячої лімфоми. Попередні дослідження також виявили,

що збільшення віку пов'язане з підвищеним ризиком котячої лімфоми, середній вік на момент встановлення діагнозу становив 10 років [54, 143]. Також зазначалось про бімодальний віковий розподіл лімфоми у котів з піками, які спостерігали менше ніж за 2 роки та більше ніж за 8 років, причому, як повідомлялось, лімфома, асоційована з FeLV+, проявлялась менше як за 2 роки [42, 54].

Отримані результати наших досліджень, проведених у двох клініках м. Львова упродовж 5 років свідчать про подібну динаміку захворюваності котів на лімфому. Нами встановлено, що на аліментарну лімфому припадало найбільше випадків – від 60,3 % до 62 %, на другому місці були коти з медіастинальною лімфомою, що займало в середньому 28 % та екстранодальною лімфомою від 9,2 % до 11,3 %. Вік котів у яких діагностували аліментарну лімфому був від 10 до 13 років. У молодих котів, віком від 1,5 до 4 років діагностували медіастинальну лімфому з яких у 36 % виявляли позитивний тест на FeLV. Екстранодальний тип лімфоми, а саме – ренальну форму виявляли у котів від 6 до 9 років. Нами не було встановлено кореляційного зв'язку між приналежністю до породи і захворюваністю котів на лімфому, оскільки найбільше випадків лімфоми у котів реєстрували у безпородних тварин (92,4 %), тоді як серед породистих котів траплялись 2,3 % сіамські коти, 3,6 % – британські та 1,7 % персидські, що не узгоджується із результатами досліджень, проведених у США та Великобританії.

Декілька досліджень, опубліковані авторами [96] вказують на те, що запровадження програми вакцинації котів проти FeLV зменшило частоту випадків лімфоми, у яких сироватковий антиген виявився позитивним, що свідчить про те, що вакцинація проти FeLV мала захисний ефект проти пов'язаної з FeLV лімфомою. Нещодавні дослідження показують, що коти можуть бути негативними на антигенемію FeLV, але все ще мати позитивний результат тесту на ДНК провірусу FeLV, що підвищує ймовірність лімфоми через інсерційний мутагенез [34, 53]. Цікаво, що проведені на сьогоднішній день дослідження показали, що вакцинація проти FeLV не забезпечує захисту проти присутності ДНК провірусу FeLV у тканинах котів після контакту з FeLV [57, 98], а отже, не зменшує ризик інсерційного мутагенезу та злоякісної трансформації. Це якраз і може пояснити,

чому кількість випадків лімфоми зростає, незважаючи на зменшення випадків лімфоми, пов'язаної з антигенемією FeLV [96]. Потрібні подальші дослідження для вивчення ролі вакцинації FeLV та наявності ДНК провірусу FeLV у лімфомі котів.

У дослідженнях, проведених в США, Німеччині та Великобританії повідомляють, що завдяки програмам вакцинації менше 14,5 % лімфом пов'язані з FeLV/FIV, і ці лімфоми є переважно аліментарного походження. Проте є аргументи, що зміна поширеності FeLV може бути не таким важливим фактором. По-перше, немає досліджень, які б демонстрували, що зниження поширеності FeLV у популяції котів пов'язане зі зниженням захворюваності на лімфому. Навпаки, зазначають навіть збільшення випадків лімфоми. По-друге, у країнах, де поширеність FeLV серед котів з лімфомою завжди була дуже низькою (2–8%), як-от Австралія і Нідерланди, де з 1980 років працює програма контролю вакцинацій котів, також спостерігали збільшення випадків аліментарної лімфоми.

Існує ряд досліджень у яких зазначено роль статі котів у розвитку лімфоми. Автори вказують, що самці, порівняно з самками, мали вищий відсоток випадків захворювання на лімфому [37], в інших дослідженнях повідомлялося про співвідношення самців і самок 1,5:1. Пояснити причину такої статевої переваги, до сьогодні не вдалося, але деякі автори виділяють, як фактор, роль гормонального впливу. В інших дослідженнях не вдалося встановити зв'язку між лімфомою та статтю котів [96, 108]. Захворюваність котів виявилась найвищою при аліментарній лімфомі. Наші дослідження демонстрували дещо іншу статистику. Серед котів з діагностованою лімфомою на самок припадало 70,2 %, а на самців 29,8 %. Залежності клініко-анатомічних форм лімфоми і статтю котів також не було встановлено.

Збільшення випадків аліментарної лімфоми у котів засвідчують й інші дослідники, які вважають, що застосування ендоскопії, як методу ранньої діагностики запальних процесів слизової оболонки ШКТ, дає можливість скоріше виявляти неопластичні процеси. Автори припускають, що хронічна імунна стимуляція може бути основною причиною злоякісної трансформації. Кореляція між хронічним запаленням і лімфомою була доведена на людях [47, 190], де

встановили прямий зв'язок між целиацією та лімфомою, а також було встановлено роль *Helicobacter pylori* у патогенезі MALT-лімфоми шлунка (лімфома маргінальної зони) [153]. Подібну кореляцію намагалися виявити у випадках котячої аліментарної лімфоми, оскільки численні дослідження показали, що 60 % котів з кишковою Т-клітинною лімфомою мали попередні або супутні хронічні клінічні захворювання [33, 41]. Проте, гістологічними підтипами в цих дослідженнях були дрібноклітинні кишкові лімфоми низького ступеня злоякісності. Тому, представляє інтерес відкриття асоціації *Helicobacter spp.* з лімфомою шлунка у котів [41]. Однак повного пояснення зростання поширеності аліментарних лімфом у котів все ще немає.

Завдяки цитологічній, гістологічній та імуногістохімічній діагностиці, в більшості випадків, вдається точно діагностувати різні типи лімфоми у котів. Як стверджують автори [4, 8, 9] мікроскопічно при аліментарній лімфомі, зазвичай, виявляли характерні ураження кишкової стінки з інфільтрацією неопластичними лімфоцитами середнього та великого розміру, епітелію ворсинок, власне пластинки слизової оболонки та, частково, м'язового шару. З метою диференціації запальних процесів у ШКТ та неопластичної проліферації, автори [18, 25, 29] рекомендували застосовувати імуногістохімічні методи досліджень із використанням специфічних моноклональних антитіл, які розпізнають антигенні детермінанти (епітопи), що дозволяє мікроскопічно виявляти біомаркери диференціації та проліферації. Найчастіше використовувались антитіла CD3 для виявлення Т-лімфоцитів у поєднанні з анти-CD79a, анти-CD20 для виявлення В-лімфоцитів. Крім того, відсоток клітин, що проліферують, визначають маркером Ki-67. За рахунок експресії Ki-67 вдається виявляти клітини в усіх фазах поділу, досягаючи максимальної експресії в М-фазі. Крім того, більшість авторів зазначають [48, 57, 61, 75], що для верифікації типів лімфоми також можна використовувати й інші специфічні антитіла – анти CD4, анти-CD8a, анти-CD8 β) для виявлення додаткових епітопів Т-клітин.

У зарубіжній літературі в останні 5 років з'явилися повідомлення, що деякі Т-клітинні лімфоми у людей та собак здатні одночасно експресувати В-клітинний

маркер CD20. У всіх досліджуваних випадках продемонстровано клональну перебудову гамагену Т-клітинного рецептора, що свідчив про розвиток великоклітинної Т-лімфоми, асоційованої з ентеропатією [115].

За результатами наших досліджень встановлено, що у котів з аліментарною лімфомою, діагностованих у клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик» м. Львова найбільш інфільтрованим кишковим сегментом була порожня кишка у якій при гістологічному дослідженні виявляли проліферацію масивними мономорфними лімфобластними елементами власне пластинки слизової оболонки, підслизового та м'язового шарів, що узгоджувалось із повідомленнями інших дослідників. Проте, в патологічний процес втягувались й інші органи. Дифузну лімфобластну проліферацію відзначали у брижових лімфатичних вузлах, де візуалізувалось розширення судин крайового синуса, інфільтрація капсули та кіркового шару лімфобластами, периваскулярна інфільтрація паренхіми печінки та підшлункової залози. Використання імуногістохімічних маркерів дозволило встановити імунофенотип аліментарної лімфоми у котів. Отже, тринадцять лімфом (76,5 %) мали позитивну експресію до маркера CD 79a та були класифіковані, як великоклітинні В-лімфобластні лімфоми, а у 4 котів (23,5 %) встановлено виражену експресію до CD3 маркера, що дозволило верифікувати Т-клітинну лімфому. Дослідження лімфоми у котів, проведені у США та Великобританії свідчать про більшість випадки Т-клітинної лімфоми, тоді як у Німеччині частіше реєстрували В-клітинну лімфому, що корелюється з нашими дослідженнями. За твердженнями авторів [3, 24, 26, 97, 126] той факт, що котяча аліментарна лімфома є достатньо поширеною серед тварин, може бути використано для з'ясування деяких патогенетичних механізмів, які лежать в основі індолентних Т-клітин LPD ШКТ людини. Через одомашнення тварин, спільне оточення з людьми, а отже і спільні ознаки коеволюції, можна пояснити спільні захворювання, які все частіше діагностують, як у людей, так і тварин. За останні десятиліття у домашніх тварин було успішно ідентифіковано десятки захворювань, більшість з яких є типовими для людей. Таким чином, існує великий потенціал для дослідження котячих лімфом не тільки на користь котам, а також і для людей [84, 88, 128].

Незважаючи на розробку нових методів діагностики неоплазій гістологічні та морфометричні дослідження залишаються золотим стандартом. Однією із найпоширеніших характеристик неопластичних клітин є збільшення ядра через підвищену кількість хроматину, що присутній у клітинах. Збільшення співвідношення ядра до цитоплазми свідчить про їх злоякісність. Морфометричними дослідженнями встановлено, що площа цитоплазми лімфобластних клітин при В-клітинній та Т-клітинній аліментарній лімфомі у котів варіювала: при В-клітинній площа займала $38,72 \pm 1,68 \text{ мкм}^2$, а при Т-клітинній $36,71 \pm 1,45 \text{ мкм}^2$. Середня площа ядра при В-клітинній лімфомі становила $25,62 \pm 0,86 \text{ мкм}^2$, а при Т-клітинній – $19,45 \pm 1,02 \text{ мкм}^2$. Ядерно цитоплазматичне відношення дорівнювало $0,66 \pm 0,02$ та $0,53 \pm 0,03$, відповідно, що свідчить про злоякісність клітин.

Діагностика та лікування медіастинальної форми лімфоми у котів, досі залишається однією з найскладніших проблем сучасної ветеринарної онкології, що обумовлено вірогідною тенденцією до їх збільшення в останні роки, складністю своєчасного виявлення, та найчастіше пізнім початком терапії і, як наслідок, негативним прогнозом для хворих тварин. Лімфому середостіння більшість дослідників описували паралельно із запальними змінами у респіраторних органах.

У період, коли не проводили вакцинацій FeLV медіастинальна лімфома (з ураженням тимусу, середостінних та грудних лімфатичних вузлів) була достатньо поширеною анатомічною формою і становила 20–40 % випадків у США, 10–50% випадків у Великобританії і 70% випадків у Японії [64, 96, 157, 189]. Запровадження вакцинації FeLV у 1985 році призвело до значного зниження поширеності інфекції FeLV серед популяції котятих і, одночасно, спостерігалось зменшення частки випадків медіастинальної лімфоми у котів [1, 2, 19, 96]. Останні дослідження показали, що медіастинальна форма становила <15% випадків лімфоми котів у США в 1998 і 2005 роках [165, 166], і приблизно 25 % випадків в Австралії в 1997 році [29, 74]. Дослідження, проведене у 2002 році в Нідерландах, країні, яка, як повідомляється, має найнижчу поширеність антигенемії FeLV серед

здорових котів у світі, показало, що 18,8 % (4/22) котів з лімфомою середостіння мали антигенемію FeLV [161, 178].

Основними клінічними ознаки у котів з медіастинальною лімфомою за твердженнями авторів [183, 191] були задишка, відсутність апетиту, регургітація, кашель і гіпертермія. У 51 % досліджуваних котів виявляли плевральний випіт, а середня тривалість клінічних ознак до їх появи становила, в середньому, 11 днів, хоча діапазон був значно більшим аж до 70 днів. Діагноз лімфома, у більшості випадків, був поставлений за результатами цитологічних досліджень плеврального випоту, або тонкогорткових аспіратів із середостіння. У 7 % котів діагноз встановлений за результатами патологоанатомічного розтину та подальших патогістологічних досліджень. Під час гістологічного дослідження автори [177] відзначали дифузну клітинну інфільтрацію лімфатичних вузлів. Помірно виражений анізоцитоз та анізокаріоз. Ядра, здебільшого, мали кругле або неправильної форми ядро, маленькі ядерця та вузьку цитоплазму. Результати наших досліджень корелювали з повідомленнями авторів [154, 158, 183]. У котів, які потрапляли до клінік м. Львова з анамнестичних даних власників було відомо, що тварини мали задишку, утруднене ковтання, відсутній апетит, ціанотичність слизових оболонок, кахексію. Гістологічними дослідженнями встановлено інфільтрацію мономорфними лімфобластними клітинами м'яких тканин груднини, середостінних лімфатичних вузлів та паренхіми легень. Зазвичай, діагностику лімфоми проводили із використанням мультимодального підходу – спершу аналізували гістологічну картину з наступним застосуванням імуногістохімічних маркерів. Не менш важливими методами в діагностиці лімфоми були гематологічні та біохімічні показники крові котів та цитологічна діагностика. Як стверджують автори [60, 136, 142, 144, 178] медіастинальна лімфома, яку реєстрували у котів верифікували як агресивну великоклітинну В-клітинну лімфому, що експресувала поверхневі молекули В-клітин, такі як CD19, CD79a, CD20 та CD22. Неопластичні клітини, зазвичай, від середнього до великого розміру з круглими великими ядрами та вузькою цитоплазмою. Характерними клінічними проявами була задишка, дисфагія, наявність плеврального або перикардіального випоту [82, 90].

Рентгенологічними дослідженнями та КТ виявляли первинне збільшення лімфатичних вузлів.

Наші дослідження корелювали із даними інших вчених, які виявляли позитивний результат мічення на антитіло CD79a неопластичних В-клітин у лімфатичних вузлах. У 72,7 % досліджуваних котів переважав В-клітинний фенотип. Позитивну реакцію CD3 маркером відзначали лише у 27,3 % випадків лімфоми у котів, що свідчило про Т-клітинний імунотип.

Вивчаючи зміни у котів за ренальної лімфоми більшість дослідників фіксували клінічні симптоми, які були характерними для хвороби нирок: анорексію, блювоту, втрату ваги, поліурію/полідипсію. Під час огляду встановлено двобічну реномегалію. При УЗД діагностиці більшість утворень нирок виглядали як гомо- або гетерогенні, гіпо- або гіперехогенні вогнищеві та дифузні ураження з різними краями, розширеним кірковим шаром нирок. Крім того, відзначали субкапсулярний гіпоехогенний півмісяць, що оточував нирку, посилену візуалізацію дрібних судин. Дані УЗД та рентгенологічних досліджень, проведених авторами [17, 38, 40] у 21 випадку ниркової лімфоми у котів, корелювали з макроскопічними та мікроскопічними змінами і залежали від механізму ураження нирок, розміру та розподілу пухлин. Морфологічно лімфома локалізувалась спершу між нефронами, які ще деякий час могли функціонувати. Проте, при прогресуванні захворювання каркас, уздовж якого неоплазія інфільтрується руйнувався, ріст ставав інвазивним, кількість лімфобластичних клітин збільшувалась аж до прогресуючого заміщення паренхіми та деструкції всієї нирки.

Неопластичні клітини мали чіткі межі, незначну цитоплазму та велике кругле ядро (приблизно в 2-3 рази більше котячих еритроцитів) з вузьким хроматином і великим ядерцем. Спостерігався помірний анізоцитоз і анізокаріоз, мітотичні фігури виявляли 6-10 у полях зору. Неопластичні клітини зміщували, оточували та відокремлювали більшість ниркових каналців і клубочків. Сегментарно епітелій ниркових каналців був вакуолізований. Капсулами Боумена потовщувалась, виявляли склеротизовані клубочки. Проведені нами дослідження корелювали з повідомленнями інших авторів. Мультифокальні агрегати великих круглих

лімфобластних клітин, які інфільтрували субкапсулярну поверхню нирок, встановлено у всіх досліджуваних нами котів. Епітеліоцити проксимальних та дистальних звивистих каналців знаходились у стані вакуольної та гідропічної дистрофії з вираженими дистрофічно-некробіотичними змінами. Ядра епітеліоцитів у стані рексису та лізису. Просвіти каналців заповнювались білковими масами. Ядра лімфобластних клітин округлі, гіперхромні, переважно з одним ядерцем. Клітинний атипізм помірно виражений, цитоплазма цих клітин незначна, оксифільна, помірно відмежована. Мітотичні фігури атипові, 3-5 в полях зору.

Крім того, окремими авторами було встановлено [16, 50, 62, 68], що при нирковій формі лімфоми, неопластичні розростання не обмежувались виключно нирковою паренхімою. Пухлини виявляли і в лімфатичних вузлах та селезінці, чим довели існування асоційованого типу лімфоми – ренальної та аліментарної форми. Найбільш типовими гематологічними змінами була анемія, тромбоцитопенія, лейкоцитоз, нейтрофілоз, моноцитоз і лімфопенія. Біохімічні зміни у сироватці крові включали азотемію, гіпоальбумінемію, гіперкальціємію та підвищену активність лужної фосфатази [12]. Результати наших досліджень корелювали із даними зарубіжних науковців. За ренальної лімфоми у котів у крові нами було встановлено підвищення у 6 разів ($p < 0,001$) креатиніну й більше, ніж у 4,3 рази сечовини, що свідчить про руйнування паренхіми нирок, порушення кліренсу та заміщення мозкової і кіркової речовини бластними елементами, які й формували туморозну тканину.

Крім того, імуногістохімічними дослідженнями було встановлено високу проліферативну активність В-клітинної лімфоми нирок у котів. Відомо, що проліферативна активність є важливим чинником як у механізмі злоякісної трансформації клітин, так і в біологічній поведінці пухлин, що вже виникли. Це одна з найбільш важливих характеристик фенотипу пухлини, що значною мірою визначає швидкість росту новоутворення, ризик метастазування, потенційну відповідь на лікувальні заходи й результат онкологічного захворювання [193]. Багато факторів, які впливають на перебіг і результат онкологічних захворювань,

свою патогенетичну дію на пухлину опосередковують через зміну проліферативної активності. Проведені імуногістохімічні дослідження фрагментів нирок котів дали змогу встановити високу проліферативну активність В-клітинної лімфоми, при якій рівень експресії маркеру Ki-67 показав достатньо високу активність ≥ 24 %, що свідчить про несприятливий прогноз та ймовірне поширення патологічного процесу на інші органи.

У світі залишається суперечливим питання про те, чи ниркова лімфома є первинною чи компонентом системного метастатичного або мультицентричного захворювання з наявністю додаткових пухлинних вогнищ. У котів, за твердженнями авторів [66, 82, 87, 106], метастатичні новоутворення нирок трапляються у 7 разів частіше, ніж первинні. У 27 дослідженнях котячої ниркової лімфоми приблизно 51 % випадків мали мультицентричне захворювання та були ідентифіковані, як великоклітинні В-лімфоми.

Сучасна теоретична та клінічна онкологія все частіше потребує точної та всебічної характеристики пухлини із застосуванням методів, які б дали можливість визначити цитогенез новоутворення, з'ясувати можливості та механізми диференціації ракових клітин. Саме за допомогою електронної мікроскопії, на основі аналізу ультраструктурних особливостей новоутворень, вдається детально зрозуміти біологічну сутність ракових клітин [59].

Проведені нами ультраструктурні дослідження лімфоми у котів дозволили встановити кілька типів пухлинних клітин – одні з округлими, дещо неправильної форми ядрами та інші – з ядрами в яких чітко візуалізувались глибокі інвагінації, подекуди навіть із розщепленням ядра на сегменти. Ядра бластних форм лімфоцитів, які мали виражену округлу форму займали більшу площу клітини, мали глибокий хроматин з ділянками конденсації гетерохроматину. Цитоплазма таких пухлинних клітин вузька, містила незначну кількість мітохондрій та багато рибосом. Клітини, ядра яких мали різної глибини та форми інвагінації, щільно розміщувались одні біля одних у полі зору, цитоплазма їх також містила багато рибосом, менше – мітохондрій та інших органел. Конденсований хроматин розміщувався дифузно, в більшій мірі по периферії каріоплазми у вигляді щільних

глибок. Гіпертрофовані ядерця містили виражені фібрилярні центри, іноді – чисельну вакуолізацію нуклеоплазми, що свідчить про посилену проліферацію. Відомо, що ретровірусам властивий унікальний спосіб реплікації, який включає синтез ДНК-провірусу на матриці віріонної РНК та інтеграцію його з клітинним геномом, що посилює клітинну проліферацію, спричиняючи злоякісну трансформацію клітин.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі проведено статистичний аналіз найпоширеніших спонтанних неоплазій у котів за період 2019-2023 років. На основі комплексних досліджень визначено частку, що припадає на різні клінічні типи лімфоми з їх фенотиповою верифікацією.

1. Встановлено, що в структурі онкологічних захворювань у котів, які діагностували в клініці «Доктор Вет» та «Ветпрактик» м. Львова на пухлини молочних залоз припадало 75,60 % та 74,06 %, відповідно. Лімфоми становили 22,24 % і 23,35 %, на саркоми припадало – 0,80 % та 0,72 %, мастоцитоми – 0,45 % та 0,43 %, відповідно, первинні новоутворення грудної порожнини реєстрували у 0,91% і 1,43 %. Породної залежності щодо ураження котів лімфомою нами не встановлено.

2. Найбільший відсоток серед діагностованих лімфом у котів займала аліментарна – 60,31 % та 61,96 %, відповідно; медіастинальна – 28,35 % та 28,24 %; екстранодальна – 11,34 % та 9,20 %. Залежно від типу новоутворення встановлено, що на аліментарну лімфому хворіли коти старшого віку – від 10 до 13 років, медіастинальну – до 4 років, екстранодальну від 6 до 9 років.

3. Біохімічними дослідженнями встановлено, що за аліментарної лімфоми відбувалось достовірне підвищення активності трансаміназ – аспартатамінотрансфери (АсАТ) у 3,5 рази ($P > 0,001$) та аланінамінотрансфери (АлАТ) у 6 разів ($P > 0,001$) та загального білірубіну ($P > 0,001$), відносно показників фізіологічно здорових котів, що свідчити про пошкодження мембран та розпад самих клітин, пошкодження проток залоз внутрішньої секреції внаслідок мультифокального інфільтативного росту пухлини.

4. За медіастинальної лімфоми відзначали достовірні зміни у гематологічних показниках крові, а саме: у котів з позитивним тестом FeLV характерна еритропенія ($P < 0,001$), лейкоцитопенія ($P < 0,001$), зниження гемоглобіну (1,6 раз) та гематокриту (1,7 раз). У FeLV негативних котів – лейкоцитоз за рахунок збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів

гранулоцитів та лімфоцитопенія. За ренальної лімфоми котів у сироватці крові встановлено достовірне підвищення у 6 разів ($P < 0,001$) креатиніну й більше, ніж у 4,3 рази сечовини, що є проявом руйнування паренхіми нирок, а саме клубочкового апарату, порушення кліренсу та заміщення мозкової і кіркової речовини бластними елементами, які формують туморозну тканину.

5. За результатами тонкогілкової біопсії уражених тканин при різних типах лімфоми, відібраних під контролем УЗД на цитологічних препаратах виявлено лімфобластні клітини з невеликою азурофільною цитоплазмою, помірно вираженим анізоцитозом та анізокаріозом, зернистістю каріоплазми та атиповими мітозами.

6. Патологоанатомічно за аліментарної лімфоми у котів встановлено різке збільшення брижових лімфатичних вузлів, потовщення стінки тонкого кишечника та шлунка з утворенням вогнищевих ущільнень. За медіастинальної лімфоми – дифузне пухлинне розростання у внутрішньому грудному та внутрішніх міжреберних м'язах, м'язах діафрагми, вогнищеве ураження легеневої паренхіми та медіастинальних лімфатичних вузлів; за ренальної – збільшення та деформацію нирок за рахунок туморозних утворень, слабовираженою межею між кірковою і мозковою зонами.

7. Патогістологічно за аліментарної лімфоми у котів встановлено масивні дифузні проліферативно-інфільтративні фокуси з лімфобластних клітин у слизовому, підслизовому та м'язовому шарі тонкого кишечника, шлунка. Проліферацію туморозними клітинами брижових лімфатичних вузлів та підшлункової залози; за медіастинальної лімфоми – інфільтрацію мономорфними лімфобластами внутрішнього грудного та міжреберних м'язів, кіркової речовини та лімфоїдних вузликів медіастинальних лімфатичних вузлів та паренхіми легень; за ренальної – мультифокальні проліферати великих круглих лімфобластних клітин з інфільтрацією субкапсулярної поверхні нирок, заміщення бластами каналців та клубочків, фокальний некроз паренхіми нирок.

8. Ультраструктурно визначено, що бластні форми лімфоцитів характеризувались значним ядерним поліморфізмом. Виявлено вакуолізацію та

чисельні інвагінації ядер, гіпертрофію нуклеол з вираженими фібрилярними центрами, які оточені зернистою речовиною, що вказувало на високі метаболічні процеси, пов'язані з синтезом нуклеопротейдів.

9. Морфометричними дослідженнями встановлено площу лімфобласних клітин за різних типів лімфом, а саме: за аліментарної лімфому площа В-лімфобластів дорівнювала $38,72 \pm 1,68 \text{ мкм}^2$, площа ядра – $25,62 \pm 0,86 \text{ мкм}^2$, ЯЦВ – $0,66 \pm 0,17$; за аліментарної Т-клітинної лімфому – площа клітин становила $36,71 \pm 1,45 \text{ мкм}^2$, площа ядра – $19,45 \pm 1,02 \text{ мкм}^2$, ЯЦВ – $0,53 \pm 0,21$. За медіастинальної В-клітинної лімфому площа лімфобласних клітин займала $51,89 \pm 1,98 \text{ мкм}^2$, площа ядра – $30,89 \pm 1,67 \text{ мкм}^2$; ЯЦВ становило $0,59 \pm 0,97$; за медіастинальної Т-клітинної лімфому – площа клітин дорівнювала $29,57 \pm 2,14 \text{ мкм}^2$, площа ядра – $18,54 \pm 1,12 \text{ мкм}^2$, ЯЦВ – $0,62 \pm 0,71$. Тоді, як за ренальної В-клітинної лімфому на площу клітин припадало $32,95 \pm 1,34 \text{ мкм}^2$, на площу ядра – $22,64 \pm 0,98 \text{ мкм}^2$, ЯЦВ дорівнювало $0,68 \pm 0,76$. За ренальної Т-клітинної лімфому площа клітин становила $31,48 \pm 2,03 \text{ мкм}^2$, площа ядра – $20,42 \pm 1,12 \text{ мкм}^2$, ЯЦВ – $0,64 \pm 0,52$.

10. Імуногістохімічним дослідженням з використанням маркерів CD3 (Т-лімфоцити) та CD79a (В-лімфоцити) верифікували фенотип лімфом. Встановлено, що у всіх клінічних випадках лімфом у котів переважала В-клітинна лімфома. На частку аліментарної В-клітинної лімфому припадало 76,5 %, на Т-клітинну – 23,5 %. При медіастинальній лімфомі 72,7 % становила В-клітинна, а 27,3 % – Т-клітинна; при ренальній лімфомі В-клітинний тип верифіковано у 77,7 %, Т-клітинний у 22,3 %.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. З метою верифікації та фенотипізування лімфоми у котів необхідно застосовувати прицільну біопсію з подальшими цитологічними, імуногістохімічними, гістологічними, гістохімічними та морфометричними дослідженнями.

2. При формуванні патогістологічного діагнозу враховувати імуногістохімічну типізацію із застосуванням специфічних маркерів до різних типів лімфоепітеліальної тканини, а також маркеру проліферації, застосовувати морфометричні параметри клітин такі, як: площа цитоплазми, площа ядра, ядерно-цитоплазматичне та ядерно-ядерцеве відношення для оцінки злоякісності клітин.

3. Рекомендується застосовувати метод напівтонких зрізів з метою детального вивчення структури ядра та цитоплазми туморозних елементів.

4. Отримані результати досліджень рекомендуються використовувати у 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. Aghazadeh, M., Shi, M., Pesavento, P. A., Durham, A. C., Polley, T., Donahoe, S. L., Troyer, R. M., Barrs, V. R., Holmes, E. C., & Beatty, J. A. (2018). Transcriptome Analysis and In Situ Hybridization for FcaGHV1 in Feline Lymphoma. *Viruses*, 10(9), 464. doi.:10.3390/v10090464.
2. Ahmad, S., & Levy, L. S. (2010). The frequency of occurrence and nature of recombinant feline leukemia viruses in the induction of multicentric lymphoma by infection of the domestic cat with FeLV-945. *Virology*, 403(2), 103–110. doi.:10.1016/j.virol.2010.04.011.
3. Akiyoshi, M., & Akiyoshi, M. (2021). A case of feline large granular lymphocyte lymphoma with complete remission and long survival by surgical resection and adjuvant nimustine administration. *Veterinary medicine and science*, 7(6), 2103–2107. doi.:10.1002/vms3.612.
4. Akiyoshi, M., Hisasue, M., Neo, S., & Akiyoshi, M. (2023). Serum amyloid A (SAA) concentration in cats with gastrointestinal lymphoma. *The Journal of veterinary medical science*, 85(8), 867–875. doi.:10.1292/jvms.23-0043.
5. Allen, H. S., Broussard, J., & Noone, K. (1999). Nasopharyngeal diseases in cats: a retrospective study of 53 cases (1991-1998). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 35(6), 457–461. doi.:10.5326/15473317-35-6-457.
6. Allen, T.D. (2008). *Introduction to Electron Microscopy for Biologists (Methods in Cell Biology, Vol.88)*, Academic Press Inc.
7. Almeida, N. R., Danelli, M. G., Silva, L. H., Hagiwara, M. K., & Mazur, C. (2012). Prevalence of feline leukemia virus infection in domestic cats in Rio de Janeiro. *Journal of feline medicine and surgery*, 14(8), 583–586. doi.:10.1177/1098612X12444693.
8. Barrs, V. R., & Beatty, J. A. (2012). Feline alimentary lymphoma: 1. Classification, risk factors, clinical signs and non-invasive diagnostics. *Journal of feline medicine and surgery*, 14(3), 182–190. doi.:10.1177/1098612X12439265.

9. Barrs, V. R., & Beatty, J. A. (2012). Feline alimentary lymphoma: 2. Further diagnostics, therapy and prognosis. *Journal of feline medicine and surgery*, 14(3), 191–201. doi:10.1177/1098612X12439266.
10. Beatty J. (2014). Viral causes of feline lymphoma: retroviruses and beyond. *Veterinary journal* (London, England:1997), 201(2), 174–180. doi:10.1016/j.tvjl.2014.05.026.
11. Beatty, J. A., Callanan, J. J., Terry, A., Jarrett, O., & Neil, J. C. (1998). Molecular and immunophenotypical characterization of a feline immunodeficiency virus (FIV)-associated lymphoma: a direct role for FIV in B-lymphocyte transformation?. *Journal of virology*, 72(1), 767–771. doi:10.1128/JVI.72.1.767-771.1998.
12. Bergman, P. J. (2012). Paraneoplastic hypercalcemia. *Topics in companion animal medicine*, 27(4), 156–158. doi:10.1053/j.tcam.2012.09.003.
13. Biezus, G., Grima de Cristo, T., Bassi das Neves, G., da Silva Casa, M., Barros Brizola, P., Silvestre Sombrio, M., Milette, L. C., Assis Casagrande, R. (2023). Phylogenetic identification of feline leukemia virus A and B in cats with progressive infection developing into lymphoma and leukemia. *Virus Res*, 329:199093. doi:10.1016/j.virusres.2023.199093.
14. Biezus, G., Grima de Cristo, T., da Silva Casa, M., Lovatel, M., Vavassori, M., Brüggemann de Souza Teixeira, M., Milette, L. C., Maciel da Costa, U., & Assis Casagrande, R. (2023). Progressive and regressive infection with feline leukemia virus (FeLV) in cats in southern Brazil: Prevalence, risk factors associated, clinical and hematologic alterations. *Preventive veterinary medicine*, 216, doi:10.1016/j.prevetmed.2023.105945.
15. Biezus, G., Machado, G., Ferian, P. E., da Costa, U. M., Pereira, L. H. H. D. S., Withoeft, J. A., Nunes, I. A. C., Muller, T. R., de Cristo, T. G., & Casagrande, R. A. (2019). Prevalence of and factors associated with feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) in cats of the state of Santa Catarina, Brazil. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 63, 17–21. doi:10.1016/j.cimid.2018.12.004.

16. Borjesson D. L. (2003). Renal cytology. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 33(1), 119–134. doi:10.1016/s0195-5616(02)00086-4.
17. Bound, N. J., Priestnall, S. L., & Cariou, M. P. (2011). Lingual and renal lymphoma in a cat. *Journal of feline medicine and surgery*, 13(4), 272–275. doi:10.1016/j.jfms.2010.11.011.
18. Briscoe, K. A., Krockenberger, M., Beatty, J. A., Crowley, A., Dennis, M. M., Canfield, P. J., Dhand, N., Lingard, A. E., & Barrs, V. R. (2011). Histopathological and immunohistochemical evaluation of 53 cases of feline lymphoplasmacytic enteritis and low-grade alimentary lymphoma. *Journal of comparative pathology*, 145(2-3), 187–198. doi:10.1016/j.jcpa.2010.12.011.
19. Broman, M. M., & Miller, M. A. (2016). Pathology in Practice: mediastinal lymphoma with hemorrhagic pleural effusion and pulmonary atelectasis in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 248(4), 381–383. doi:10.2460/javma.248.4.381.
20. Burkhard, M. J., & Bienzle, D. (2013). Making sense of lymphoma diagnostics in small animal patients. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 43(6), 1331–1347. doi:10.1016/j.cvsm.2013.07.004.
21. Callanan, J. J., Jones, B. A., Irvine, J., Willett, B. J., McCandlish, I. A., & Jarrett, O. (1996). Histologic classification and immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. *Veterinary Pathology*, 33(3), 264–272. doi:10.1177/030098589603300302.
22. Carreras, J. K., Goldschmidt, M., Lamb, M., McLear, R. C., Drobatz, K. J., & Sørenmo, K. U. (2003). Feline epitheliotropic intestinal malignant lymphoma: 10 cases (1997-2000). *Journal of veterinary internal medicine*, 17(3), 326–331. doi:10.1111/j.1939-1676.2003.tb02456.x.
23. Carter, R. F., Valli, V. E., & Lumsden, J. H. (1986). The cytology, histology and prevalence of cell types in canine lymphoma classified according to the National Cancer Institute Working Formulation. *Canadian journal of veterinary research*, 50(2), 154–164.

24. Cesari, A., Bettini, G., & Vezzali, E. (2009). Feline intestinal T-cell lymphoma: assessment of morphologic and kinetic features in 30 cases. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 21(2), 277–279. doi:10.1177/104063870902100221.
25. Chan, C. H., Hadlock, K. G., Fong, S. K., & Levy, S. (2001). V(H)1-69 gene is preferentially used by hepatitis C virus-associated B cell lymphomas and by normal B cells responding to the E2 viral antigen. *Blood*, 97(4), 1023–1026. doi:10.1182/blood.v97.4.1023.
26. Chino, J., Fujino, Y., Kobayashi, T., Kariya, K., Goto-Koshino, Y., Ohno, K., Nakayama, H., & Tsujimoto, H. (2013). Cytomorphological and immunological classification of feline lymphomas: clinicopathological features of 76 cases. *The Journal of veterinary medical science*, 75(6), 701–707. doi:10.1292/jvms.12-0246.
27. Chow, B., Hill, S. L., Richter, K. P., Marsilio, S., Ackermann, M. R., Lidbury, J. A., Suchodolski, J. S., Cocker, S., & Steiner, J. M. (2021). Comprehensive comparison of upper and lower endoscopic small intestinal biopsy in cats with chronic enteropathy. *Journal of veterinary internal medicine*, 35(1), 190–198. doi:10.1111/jvim.16000.
28. Collette, S. A., Allstadt, S. D., Chon, E. M., Vernau, W., Smith, A. N., Garrett, L. D., Choy, K., Rebhun, R. B., Rodriguez, C. O., & Skorupski, K. A. (2016). Treatment of feline intermediate- to high-grade lymphoma with a modified university of Wisconsin-Madison protocol: 119 cases (2004–2012). *Veterinary and Comparative Oncology*, 14(S1), 136–146. doi:10.1111/vco.12158.
29. Court, E. A., Watson, A. D., & Peaston, A. E. (1997). Retrospective study of 60 cases of feline lymphosarcoma. *Australian veterinary journal*, 75(6), 424–427. doi:10.1111/j.1751-0813.1997.tb14347.x.
30. Couto C. G. (2000). Advances in the treatment of the cat with lymphoma in practice. *Journal of feline medicine and surgery*, 2(2), 95–100. doi:10.1053/jfms.2000.0079.

31. Cristo, T. G., Biezu, G., Noronha, L. F., Pereira, L., Withoeft, J. A., Furlan, L. V., Costa, L. S., Traverso, S. D., & Casagrande, R. A. (2019). Feline Lymphoma and a High Correlation with Feline Leukaemia Virus Infection in Brazil. *Journal of comparative pathology*, 166, 20–28. doi:10.1016/j.jcpa.2018.10.171.
32. Day M. J. (1998). Immunohistochemical characterization of the lesions of feline progressive lymphocytic cholangitis/cholangiohepatitis. *Journal of comparative pathology*, 119(2), 135–147. doi.:10.1016/s0021-9975(98)80058-3.
33. Day, M. J., Bilzer, T., Mansell, J., Wilcock, B., Hall, E. J., Jergens, A., Minami, T., Willard, M., Washabau, R., & World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group (2008). Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. *Journal of comparative pathology*, 138(1), 1–43. doi.:10.1016/j.jcpa.2008.01.001.
34. Day, M. J., Henderson, S. M., Belshaw, Z., & Bacon, N. J. (2004). An immunohistochemical investigation of 18 cases of feline nasal lymphoma. *Journal of comparative pathology*, 130(2-3), 152–161. doi.:10.1016/j.jcpa.2003.10.004.
35. Day, M. J., Kyaw-Tanner, M., Silkstone, M. A., Lucke, V. M., & Robinson, W. F. (1999). T-cell-rich B-cell lymphoma in the cat. *Journal of comparative pathology*, 120(2), 155–167. doi.:10.1053/jcpa.1998.0267.
36. Dorn C. R. (1967). The epidemiology of cancer in animals. *California medicine*, 107(6), 481–489.
37. Dorn, C. R., Taylor, D. O. N., & Hibbard, H. H. (1968). Epizootiologic characteristics of canine and feline, leukemia and lymphoma, 993-1001.
38. Durham, A. C., Mariano, A. D., Holmes, E. S., Aronson, L. (2014) Characterization of post transplantation lymphoma in feline renal transplant recipients. *Journal Comparative Pathology*, 150(2-3), 162–168. doi: 10.1016/j.jcpa.2013.07.010.
39. Economu, L., Stell, A., O'Neill, D. G., Schofield, I., Stevens, K., & Brodbelt, D. (2021). Incidence and risk factors for feline lymphoma in UK primary-care practice. *The Journal of small animal practice*, 62(2), 97–106. doi.:10.1111/jsap.13266.

40. Ettinger S. N. (2003). Principles of treatment for feline lymphoma. *Clinical techniques in small animal practice*, 18(2), 98–102. doi:10.1053/svms.2003.36623.
41. Evans, S. E., Bonczynski, J. J., Broussard, J. D., Han, E., & Baer, K. E. (2006). Comparison of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229(9), 1447–1450. doi:10.2460/javma.229.9.1447.
42. Fabrizio, F., Calam, A. E., Dobson, J. M., Middleton, S. A., Murphy, S., Taylor, S. S., Schwartz, A., & Stell, A. J. (2014). Feline mediastinal lymphoma: a retrospective study of signalment, retroviral status, response to chemotherapy and prognostic indicators. *Journal of feline medicine and surgery*, 16(8), 637–644. doi:10.1177/1098612X13516621.
43. Fan, T. M. (2003). Lymphoma updates. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 33(3), 455–471. doi:10.1016/s0195-5616(03)00005-6.
44. Ferrer, L., Fondevila, D., Rabanal, R., Tarres, J., & Ramis, A. (1993). Immunohistochemical detection of CD3 antigen (pan T marker) in canine lymphomas. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 5, 616–620. doi:10.1177/104063879300500420.
45. Fournel-Fleury, C., Magnol, J. P., Bricaire, P., Marchal, T., Chabanne, L., Delverdier, A., Bryon, P. A., & Felman, P. (1997). Cytohistological and immunological classification of canine malignant lymphomas: Comparison with human non-Hodgkin's lymphomas. *Journal of Comparative Pathology*, 117, 35–59. doi:10.1016/S0021-9975(97)80065-5.
46. Franks, P. T., Harvey, J. W., Mays, M. C., Senior, D. F., Bowen, D. J., Hall, B. J. (1986). Feline large granular lymphoma. *Veterinary Pathology*, 23(2), 200–202. doi:10.1177/030098588602300215. PMID: 3962087.
47. Freiche, V., Cordonnier, N., Paulin, M. V., Huet, H., Turba, M. E., Macintyre, E., Malamut, G., Cerf-Bensussan, N., Molina, T. J., Hermine, O., Bruneau, J., & Couronné, L. (2021). Feline low-grade intestinal T cell lymphoma: a unique natural model of human indolent T cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal

tract. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 101(6), 794–804. doi:10.1038/s41374-021-00581-x.

48. Freiche, V., Fages, J., Paulin, M. V., Bruneau, J., Couronné, L., German, A. J., Penninck, D., & Hermine, O. (2021). Clinical, laboratory and ultrasonographic findings differentiating low-grade intestinal T-cell lymphoma from lymphoplasmacytic enteritis in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(6), 2685–2696. doi:10.1111/jvim.16272.

49. Freiche, V., Paulin, M. V., Cordonnier, N., Huet, H., Turba, M. E., Macintyre, E., Molina, T. J., Hermine, O., Couronné, L., & Bruneau, J. (2021). Histopathologic, phenotypic, and molecular criteria to discriminate low-grade intestinal T-cell lymphoma in cats from lymphoplasmacytic enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(6), 2673–2684. doi:10.1111/jvim.16231.

50. Furusato, S., Tamura, Y., Chambers, J. K., Ushigusa, T., Tsuyama, Y. (2022) Long-term survival of a feline with non-T/B large granular lymphocyte lymphoma treated with chemotherapy and activated lymphocyte therapy. *Open Veterinary Journal*, 12(3), 312–322. doi:10.5455/OVJ.2022.v12.i3.2.

51. Gabor, L. J., Canfield, P. J., & Malik, R. (1999). Immunophenotypic and histological characterisation of 109 cases of feline lymphosarcoma. *Australian veterinary journal*, 77(7), 436–441. doi:10.1111/j.1751-0813.1999.tb12085.x.

52. Gabor, L. J., Jackson, M. L., Trask, B., Malik, R., & Canfield, P. J. (2001). Feline leukaemia virus status of Australian cats with lymphosarcoma. *Australian veterinary journal*, 79(7), 476–481. doi:10.1111/j.1751-0813.2001.tb13017.x.

53. Gabor, L. J., Love, D. N., Malik, R., & Canfield, P. J. (2001). Feline immunodeficiency virus status of Australian cats with lymphosarcoma. *Australian veterinary journal*, 79(8), 540–545. doi:10.1111/j.1751-0813.2001.tb10742.x.

54. Gabor, L. J., Malik, R., & Canfield, P. J. (1998). Clinical and anatomical features of lymphosarcoma in 118 cats. *Australian veterinary journal*, 76(11), 725–732. doi:10.1111/j.1751-0813.1998.tb12300.x.

55. Gambini, M., Martini, V., Bernardi, S., Caniatti, M., Gelain, M. E., Roccabianca, P., & Comazzi, S. (2021). Cytology of Feline Nodal Lymphoma: Low

Interobserver Agreement and Variable Accuracy in Immunophenotype Prediction. *Journal of comparative pathology*, 184, 1–6. doi:10.1016/j.jcpa.2021.01.007.

56. Gaskell, R. M., & Wardley, R. C. (1978). Feline viral respiratory disease: a review with particular reference to its epizootiology and control. *The Journal of Small Animal Practice*, 19(1), 1–16. doi:10.1111/j.1748-5827.1978.tb05452.x.

57. Gieger, T. (2011). Alimentary lymphoma in cats and dogs. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 41(2), 419–432. doi:10.1016/j.cvsm.2011.02.001.

58. Glauert, A. M. (1981). *Practical Methods in Electron Microscopy: Dynamic Methods in the Electron Microscope*, vol. 9, Elsevier.

59. Gonda, M. A., Aaronson, S. A., Ellmore, N., Zeve, V. H., & Nagashima, K. (1976). Ultrastructural studies of surface features of human normal and tumor cells in tissue culture by scanning and transmission electron microscopy. *Journal of the National Cancer Institute*, 56(2), 245–263. doi:10.1093/jnci/56.2.245.

60. Grant, I. A. (2013). Diagnosing lymphoma and leukaemia - when all cells are created equal. *The Journal of Small Animal Practice*, 54(10), 505–506. doi:10.1111/jsap.12137.

61. Granum, L., Gorman, E., Ruaux, C., & Vernau, W. (2015). Biphenotypic B-cell lymphoma in 2 cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(2), 320–325. doi:10.1111/vcp.12251.

62. Grivennikov, S. I., Greten, F. R., & Karin, M. (2010). Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*, 140(6), 883–899. doi:10.1016/j.cell.2010.01.025.

63. Grooters, A. M., Biller, D. S., Ward, H., Miyabayashi, T. & Couto, C. G. (1994). Ultrasonographic appearance of feline alimentary lymphoma. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 35: 468-472. doi:10.1111/j.1740-8261.1994.tb02073.x.

64. Gruffydd-Jones, T. J., Gaskell, C. J., & Gibbs, C. (1979). Clinical and radiological features of anterior mediastinal lymphosarcoma in the cat: a review of 30 cases. *The Veterinary Record*, 104(14), 304–307. doi:10.1136/vr.104.14.304.

65. Guillermo Couto, C. (2001). What is new on feline lymphoma? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 3(4), 171–176. doi:10.1053/jfms.2001.0146.

66. Guimarães-Okamoto, P. T. C., da Silva, M. C. L., Sequeira, J. L., Hataka, A., Chacar, F. C., Geraldês, S. S., Ribeiro, J. F. A., & Melchert, A. (2016). Primary Diffuse Large B Cell Lymphoma in Kidney with Involvement of Central Nervous System and Heart in a Siamese Cat. *Acta Scientiae Veterinariae*, 44(1), 4. doi:10.22456/1679-9216.82945.
67. Haghofer, A., Fuchs-Baumgartinger, A., Lipnik, K., Klopfleisch, R., Aubreville, M., Scharinger, J., Weissenböck, H., Winkler, S. M., Bertram, C. A. (2023). Histological classification of canine and feline lymphoma using a modular approach based on deep learning and advanced image processing. *Scientific Reports*, 9;13(1), 19436. doi:10.1038/s41598-023-46607-w.
68. Hammer, S. E., Groiss, S., Fuchs-Baumgartinger, A., Nedorost, N., Gress, V., Luckschander-Zeller, N., Saalmüller, A., Schwendenwein, I., & Rütgen, B. C. (2017). Characterization of a PCR-based lymphocyte clonality assay as a complementary tool for the diagnosis of feline lymphoma. *Veterinary and comparative oncology*, 15(4), 1354–1369. doi:10.1111/vco.12277.
69. Hardy Jr, W. D. (1981). Hematopoietic tumors of cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 17, 921–940.
70. Hartmann, K. (2012). Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses*, 4(11), 2684–2710. doi:10.3390/v4112684.
71. Hermo, G. A., Farina, H. G., Alonso, D. F., & Gomez, D. E. (2011). Effect of atorvastatin in a case of feline multicentric lymphoma – Case report. *Acta Veterinaria Hungarica*, 59(1), 69–76. doi:10.1556/AVet.59.2011.1.6.
72. Hittmair, K., Krebitz-Gressl, E., Kübber-Heiss, A., & Möstl, K. (2000). Feline alimentary lymphosarcoma: radiographic, ultrasonographic, histological and viral findings. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 87(6), 174–183.
73. Hodson, S. (1998). What is your diagnosis? Renal lymphoma in a cat. *The Journal of small animal practice*, 39(4), 157–195.
74. Horta, R. S., Souza, L. M., Sena, B. V., Almeida, I. O., Jaretta, T. A., Pimenta, M. M., Reche Júnior, A. (2021). LOPH: a novel chemotherapeutic protocol for feline high-grade multicentric or mediastinal lymphoma, developed in an area endemic

for feline leukemia virus. *Journal of Feline Medicine Surgery*, 23(2), 86–97. doi:10.1177/1098612X20926893.

75. Ii, T., Chambers, J. K., Nakashima, K., Goto-Koshino, Y., & Uchida, K. (2024). Intraepithelial lymphocytes are associated with epithelial injury in feline intestinal T-cell lymphoma. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 86(1), 101–110. doi:10.1292/jvms.23-0339.

76. Isaza, D., Robinson, N. A., Pizzirani, S., & Pumphrey, S. A. (2020). Evaluation of cytology and histopathology for the diagnosis of feline orbital neoplasia: 81 cases (2004-2019) and review of the literature. *Veterinary Ophthalmology*, 23(4), 682–689. doi:10.1111/vop.12776.

77. Jackson, M. L., Wood, S. L., Misra, V., & Haines, D. M. (1996). Immunohistochemical identification of B and T lymphocytes in formalin-fixed, paraffin-embedded feline lymphosarcomas: relation to feline leukemia virus status, tumor site, and patient age. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue canadienne de recherche veterinaire*, 60(3), 199–204.

78. Jaroensong, T., Piamwaree, J., & Sattasathuchana, P. (2022). Effects of Chemotherapy on Hematological Parameters and CD4⁺/CD8⁺ Ratio in Cats with Mediastinal Lymphoma and Seropositive to Feline Leukemia Virus. *Animals (Basel)*, 12(3), 223. doi:10.3390/ani12030223.

79. Jergens, A. E., Andreasen, C. B., Hagemoser, W. A., Ridgway, J., & Campbell, K. L. (1998). Cytologic examination of exfoliative specimens obtained during endoscopy for diagnosis of gastrointestinal tract disease in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213(12), 1755–1759.

80. Kano, R., Sato, E., Okamura, T., Watanabe, S., Hasegawa, A. (2008) Expression of Bcl-2 in feline lymphoma cell lines. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(1), 57–60. doi:10.1111/j.1939-165X.2008.00013.x.

81. Keller, S. M., Vernau, W., Hodges, J., Kass, P. H., Vilches-Moure, J. G., McElliot, V., & Moore, P. F. (2013). Hepatosplenic and hepatocytotropic T-cell lymphoma: two distinct types of T-cell lymphoma in dogs. *Veterinary pathology*, 50(2), 281–290. doi:10.1177/0300985812451625.

82. Kharbush, R. J., Hohenhaus, A. E., Donovan, T. A., & Fox, P. R. (2021). B-cell lymphoma invading and compressing the heart base and pericardium in a cat. *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 35, 84–89. doi:10.1016/j.jvc.2021.03.006.
83. Kiselow, M. A., Rassnick, K. M., McDonough, S. P., Goldstein, R. E., Simpson, K. W., Weinkle, T. K., & Erb, H. N. (2008). Outcome of cats with low-grade lymphocytic lymphoma: 41 cases (1995-2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(3), 405–410. doi:10.2460/javma.232.3.405.
84. Kiupel, M., Smedley, R. C., Pfent, C., Xie, Y., Xue, Y., Wise, A. G., DeVaul, J. M., & Maes, R. K. (2011). Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. *Veterinary Pathology*, 48(1), 212–222. doi:10.1177/0300985810389479.
85. Kopecny, L., Palm, C. A., Skorupski, K. A., Delgado, M., & Rebhun, R. B. (2020). Risk factors associated with progressive increases in serum creatinine concentrations in cats with cancer receiving doxorubicin. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(5), 2048–2055. doi:org/10.1111/jvim.15867.
86. Kraje, A. C., Patton, C. S., & Edwards, D. F. (2001). Malignant histiocytosis in 3 cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15(3), 252–256. doi:10.1892/0891-6640(2001)015<0252:mhic>2.3.co;2.
87. Krick, E. L., Little, L., Patel, R., Shofer, F. S., Sorenmo, K., Clifford, C. A., & Baez, J. L. (2008). Description of clinical and pathological findings, treatment and outcome of feline large granular lymphocyte lymphoma (1996-2004). *Veterinary and Comparative Oncology*, 6(2), 102–110. doi:10.1111/j.1476-5829.2007.00146.x.
88. Kronic, M., Ertl, R., Hagen, B., Sedlazeck, F. J., Hofmann-Lehmann, R., von Haeseler, A., & Klein, D. (2015). Decreased expression of endogenous feline leukemia virus in cat lymphomas: a case control study. *BMC Veterinary Research*, 11, 90. doi:10.1186/s12917-015-0378-9.
89. Krupa, A., de Vos, J., Van Eetvelde, L., & Teske, E. (2022). Pegylated asparaginase in feline high-grade lymphoma: clinical results of single injection and

continued incorporation into a modified COP regimen. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 24(8), 203–213.

90. Leite-Filho, R. V., Panziera, W., Bandinelli, M. B., & Pavarini, S. P. (2018). Pathological Characterization of Lymphoma with Pulmonary Involvement in Cats. *Journal of Comparative Pathology*, 165, 6–12. doi:10.1016/j.jcpa.2018.09.007.

91. Leite-Filho, R. V., Panziera, W., Bandinelli, M. B., Henker, L. C., da Conceição Monteiro, K., Corbellini, L. G., Driemeier, D., Sonne, L., Pavarini, S. P. (2020). Epidemiological, pathological and immunohistochemical aspects of 125 cases of feline lymphoma in Southern Brazil. *Veterinary and Comparative Oncology*, 18(2), 224 – 230. doi:10.1111/vco.12535.

92. Lillie, R. D. (1965). *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*. New Orleans, Louisiana.

93. Limmer, S., Eberle, N., Nerschbach, V., Nolte, I., & Betz, D. (2016). Treatment of feline lymphoma using a 12-week, maintenance-free combination chemotherapy protocol in 26 cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14 Suppl 1, 21–31. doi:10.1111/vco.12082.

94. Lingard, A. E., Briscoe, K., Beatty, J. A., Moore, A. S., Crowley, A. M., Krockenberger, M., Churcher, R. K., Canfield, P. J., & Barrs, V. R. (2009). Low-grade alimentary lymphoma: clinicopathological findings and response to treatment in 17 cases. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(8), 692–700. doi:10.1016/j.jfms.2009.05.021.

95. Little, L., Patel, R., & Goldschmidt, M. (2007). Nasal and nasopharyngeal lymphoma in cats: 50 cases (1989-2005). *Veterinary Pathology*, 44(6), 885–892. doi:10.1354/vp.44-6-885.

96. Louwerens, M., London, C. A., Pedersen, N. C., & Lyons, L. A. (2005). Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(3), 329–335. doi:10.1892/0891-6640(2005)19[329:flitpl]2.0.co;2.

97. Love, E. K., Leibman, N. F., Ringold, R., Lamb, K. (2021). Serum haptoglobin concentrations in feline inflammatory bowel disease and small-cell

alimentary lymphoma: a potential biomarker for feline chronic enteropathies. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(10), 959–964. doi:10.1177/1098612X21991448.

98. Ludwig, L., Dobromylskyj, M., Wood, G. A., & van der Weyden, L. (2022). Feline Oncogenomics: What Do We Know about the Genetics of Cancer in Domestic Cats?. *Veterinary sciences*, 9(10), 547. doi:10.3390/vetsci9100547.

99. Magden, E., Quackenbush, S. L., & VandeWoude, S. (2011). FIV associated neoplasms-a mini-review. *Veterinary immunology and Immunopathology*, 143(3-4), 227–234. doi:10.1016/j.vetimm.2011.06.016.

100. Mahony, O. M., Moore, A. S., Cotter, S. M., Engler, S. J., Brown, D., & Penninck, D. G. (1995). Alimentary lymphoma in cats: 28 cases (1988-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207(12), 1593–1598.

101. Malik, R., Gabor, L. J., & Canfield, P. J. (2003). Lymphoma in Australian cats-lessons for Europe? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5(2), 147–150. doi:10.1016/S1098-612X(03)00003-2.

102. Mandara, M. T., Motta, L., & Calò, P. (2016). Distribution of feline lymphoma in the central and peripheral nervous systems. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 216, 109–116. doi:10.1016/j.tvjl.2016.07.013.

103. Marsilio, S. (2021). Differentiating Inflammatory Bowel Disease from Alimentary Lymphoma in Cats: Does It Matter?. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 51(1), 93–109. doi:10.1016/j.cvsm.2020.09.009.

104. Marsilio, S. (2021). Feline chronic enteropathy. *The Journal of Small Animal Practice*, 62(6), 409–419. doi:10.1111/jsap.13332.

105. Marsilio, S., Freiche, V., Johnson, E., Leo, C., Langerak, A. W., Peters, I., & Ackermann, M. R. (2023). ACVIM consensus statement guidelines on diagnosing and distinguishing low-grade neoplastic from inflammatory lymphocytic chronic enteropathies in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 37(3), 794–816. doi:10.1111/jvim.16690.

106. McAloney, C. A., Sharkey, L. C., Feeney, D. A., & Seelig, D. M. (2018). Diagnostic utility of renal fine-needle aspirate cytology and ultrasound in the cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20(6), 544–553. doi:10.1177/1098612X17720041.

107. Meichner, K., Kruse, D. B., Hirschberger, J., & Hartmann, K. (2012). Changes in prevalence of progressive feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma in Germany. *The Veterinary Record*, 171(14), 348. doi:10.1136/vr.100813.
108. Meichner, K., Palerme, J. S., & Neel, J. A. (2014). Pathology in practice. LGL lymphoma in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 244(2), 167–169. doi:10.2460/javma.244.2.167.
109. Moll, G. M., Swenson, C. L., & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2021). Prevalence of feline leukaemia provirus DNA in feline lymphomas. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(2), 203–204. doi:10.1177/1098612X20979873.
110. Mooney, S. C., Hayes, A. A., MacEwen, E. G., Matus, R. E., Geary, A., & Shurgot, B. A. (1989). Treatment and prognostic factors in lymphoma in cats: 103 cases (1977-1981). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 194(5), 696–702.
111. Mooney, S. C., Hayes, A. A., Matus, R. E., & MacEwen, E. G. (1987). Renal lymphoma in cats: 28 cases (1977-1984). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 191(11), 1473–1477.
112. Moore, A. (2013). Extranodal lymphoma in the cat: prognostic factors and treatment options. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(5), 379–390. doi:10.1177/1098612X13483236.
113. Moore, A. S., & Frimberger, A. E. (2024). Treatment of feline intermediate to high-grade alimentary lymphoma: A retrospective evaluation of 55 cats treated with the VAPC combination chemotherapy protocol (2017-2021). *Veterinary and Comparative Oncology*, 22(1), 106–114. doi:10.1111/vco.12958.
114. Moore, A. S., Cotter, S. M., Frimberger, A. E., Wood, C. A., Rand, W. M., & L'Heureux, D. A. (1996). A comparison of doxorubicin and COP for maintenance of remission in cats with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10(6), 372–375.
115. Mori, M., Izawa, T., Sasaki, H., Sonoyama, J., Nishimura, S., Shimamura, S., Shimada, T., Hasegawa, T., Kuwamura, M., & Yamate, J. (2019). A Case of Feline T-cell Lymphoma with Tropism for Striated Muscle and Peripheral Nerve. *Journal of Comparative Pathology*, 168, 8–12. doi:10.1016/j.jcpa.2019.02.002.

116. Mulisch, M., Welsch, U. (2010). *Romeis Mikroskopische Technik*. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.
117. Murphy, B. G., Eckstrand, C., Castillo, D., Poon, A., Liepnieks, M., Harmon, K., & Moore, P. (2018). Multiple, Independent T Cell Lymphomas Arising in an Experimentally FIV-Infected Cat during the Terminal Stage of Infection. *Viruses*, 10(6), 280. doi:10.3390/v10060280.
118. Musciano, A. R., Lanza, M. R., Dubielzig, R. R., Teixeira, L. B. C., & Durham, A. C. (2020). Clinical and histopathological classification of feline intraocular lymphoma. *Veterinary Ophthalmology*, 23(1), 77–89. doi:10.1111/vop.12692.
119. Nerschbach, V., Eule, J. C., Eberle, N., Höinghaus, R., & Betz, D. (2016). Ocular manifestation of lymphoma in newly diagnosed cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14(1), 58–66. doi:10.1111/vco.12061.
120. Oikawa, T., Okuda, M., Kaneko, N., Watanabe, M., Hiraoka, H., Itamoto, K., Nakaichi, M., Mizuno, T., & Inokuma, H. (2006). Cloning of the feline GADD45 cDNA and analysis of its mutation in feline lymphoma cell lines. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 68(3), 297–301. doi:10.1292/jvms.68.297.
121. Oriekhova, K., & Shchebentovska, O. (2022). Pathohistological features of mediastinal lymphoma in domestic cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(3), 317–323. doi:10.15421/022241.
122. Oriekhova, K., & Shchebentovska, O. (2023). Pathomorphology of the renal form of lymphoma in cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(1), 3–9. doi:10.15421/022301
123. Osborne, C. A., Johnson, K. H., Kurtz, H. J., & Hanlon, G. F. (1971). Renal lymphoma in the dog and cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 158(12), 2058–2070.
124. Ota-Kuroki, J., Ragsdale, J. M., Bawa, B., Wakamatsu, N., & Kuroki, K. (2014). Intraocular and periocular lymphoma in dogs and cats: a retrospective review of 21 cases (2001-2012). *Veterinary ophthalmology*, 17(6), 389–396. doi:10.1111/vop.12106.

125. Parisi, F., Fonti, N., Millanta, F., Freer, G., Pistello, M., & Poli, A. (2023). Exploring the link between viruses and cancer in companion animals: a comprehensive and comparative analysis. *Infectious Agents and Cancer*, 18(1), 40. doi:10.1186/s13027-023-00518-7.
126. Parshley, D. L., Larue, S. M., Kitchell, B., Heller, D., & Dhaliwal, R. S. (2011). Abdominal irradiation as a rescue therapy for feline gastrointestinal lymphoma: a retrospective study of 11 cats (2001-2008). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(2), 63–68. doi:10.1016/j.jfms.2010.07.017.
127. Patterson-Kane, J. C., Kugler, B. P., & Francis, K. (2004). The possible prognostic significance of immunophenotype in feline alimentary lymphoma: a pilot study. *Journal of Comparative Pathology*, 130(2-3), 220–222. doi:10.1016/j.jcpa.2003.09.008.
128. Paulin, M. V., Couronné, L., Beguin, J., Le Poder, S., Delverdier, M., Semin, M. O., Bruneau, J., Cerf-Bensussan, N., Malamut, G., Cellier, C., Benchebkroun, G., Tiret, L., German, A. J., Hermine, O., & Freiche, V. (2018). Feline low-grade alimentary lymphoma: an emerging entity and a potential animal model for human disease. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 306. doi:10.1186/s12917-018-1635-5.
129. Pepin, A. C., Tandon, R., Cattori, V., Niederer, E., Riond, B., Willi, B., Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R. (2007). Cellular segregation of feline leukemia provirus and viral RNA in leukocyte subsets of long-term experimentally infected cats. *Virus Research*, 127(1), 9–16. doi: 10.1016/j.virusres.2007.03.008.
130. Pohlman, L. M., Higginbotham, M. L., Welles, E. G., & Johnson, C. M. (2009). Immunophenotypic and histologic classification of 50 cases of feline gastrointestinal lymphoma. *Veterinary Pathology*, 46(2), 259–268. doi:10.1354/vp.46-2-259.
131. Poli, A., Abramo, F., Baldinotti, F., Pistello, M., Da Prato, L., & Bendinelli, M. (1994). Malignant lymphoma associated with experimentally induced feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Comparative Pathology*, 110(4), 319–328. doi:10.1016/s0021-9975(08)80309-x.

132. Richter, K. P. (2003). Feline gastrointestinal lymphoma. *The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice*, 33(5), 1083–1098. doi:10.1016/s0195-5616(03)00054-8.
133. Risetto, K., Villamil, J. A., Selting, K. A., Tyler, J., & Henry, C. J. (2011). Recent trends in feline intestinal neoplasia: an epidemiologic study of 1,129 cases in the veterinary medical database from 1964 to 2004. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47(1), 28–36. doi:10.5326/JAAHA-MS-5554.
134. Rissi, D. R., McHale, B. J., Miller, A. D. (2022). Primary nervous system lymphoma in cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 34(4), 712–717. doi:10.1177/10406387221090281.
135. Roccabianca, P., Vernau, W., Caniatti, M., & Moore, P. F. (2006). Feline large granular lymphocyte (LGL) lymphoma with secondary leukemia: primary intestinal origin with predominance of a CD3/CD8(alpha)(alpha) phenotype. *Veterinary Pathology*, 43(1), 15–28. doi:10.1354/vp.43-1-15.
136. Rodriguez-Piza, I., Borrego, J. F., Treggiari, E., Verganti, S., Priestnall, S. L., & Lara-Garcia, A. (2023). Clinical presentation, treatment and outcome in 23 cats with laryngeal or tracheal lymphoma. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 25(1), 1098612X221143769. doi:10.1177/1098612X221143769.
137. Rojko, J. L., Kociba, G. J., Abkowitz, J. L., Hamilton, K. L., Hardy, W. D., Jr, Ihle, J. N., & O'Brien, S. J. (1989). Feline lymphomas: immunological and cytochemical characterization. *Cancer Research*, 49(2), 345–351.
138. Rolph, K. E., & Cavanaugh, R. P. (2022). Infectious Causes of Neoplasia in the Domestic Cat. *Veterinary Sciences*, 9(9), 467. doi:10.3390/vetsci9090467.
139. Russell, K. J., Beatty, J. A., Dhand, N., Gunew, M., Lingard, A. E., Baral, R. M., & Barrs, V. R. (2012). Feline low-grade alimentary lymphoma: how common is it? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(12), 910–912. doi:10.1177/1098612X12454861.
140. Sadrzadeh, H., Abtahi, S. M., & Fathi, A. T. (2012). Infectious pathogens and hematologic malignancy. *Discovery Medicine*, 14(79), 421–433.

141. Santagostino, S. F., Mortellaro, C. M., Boracchi, P., Avallone, G., Caniatti, M., Forlani, A., & Roccabianca, P. (2015). Feline upper respiratory tract lymphoma: site, cyto-histology, phenotype, FeLV expression, and prognosis. *Veterinary Pathology*, 52(2), 250–259. doi:10.1177/0300985814537529.
142. Sapiernyński, R., Jankowska, U., Jagielski, D., & Kliczkowska-Klarowicz, K. (2015). Large granular lymphoma in six cats. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 18(1), 163–169. doi:10.1515/pjvs-2015-0021.
143. Sato, H., Fujino, Y., Chino, J., Takahashi, M., Fukushima, K., Goto-Koshino, Y., Uchida, K., Ohno, K., & Tsujimoto, H. (2014). Prognostic analyses on anatomical and morphological classification of feline lymphoma. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 76(6), 807–811. doi:10.1292/jvms.13-0260.
144. Sawa, M., Yabuki, A., Setoguchi, A., & Yamato, O. (2015). Development and application of multiple immunofluorescence staining for diagnostic cytology of canine and feline lymphoma. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(4), 580–585. doi:10.1111/vcp.12300.
145. Seo, K. W., Choi, U. S., Bae, B. K., Park, M. S., Hwang, C. Y., Kim, D. Y., & Youn, H. Y. (2006). Mediastinal lymphoma in a young Turkish Angora cat. *Journal of Veterinary Science*, 7(2), 199–201. doi:10.4142/jvs.2006.7.2.199.
146. Sheets, R. L., Pandey, R., Jen, W. C., & Roy-Burman, P. (1993). Recombinant feline leukemia virus genes detected in naturally occurring feline lymphosarcomas. *Journal of Virology*, 67(6), 3118–3125. doi:10.1128/JVI.67.6.3118-3125.1993.
147. Siewert, J., Pellin, M. A., Husbands, B. D., Curran, K. M., Scavelli, D., & Sampene, E. (2022). Feline cutaneous lymphoma: an evaluation of disease presentation and factors affecting response to treatment. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 24(4), 389–397. doi:10.1177/1098612X211028837.
148. Silva, D. H. L., Ecco, R., Pierezan, F., Cassali, G. D., Reis, J. K. P., Gonçalves, A. B. B., Bicalho, J. M., Delarmelina, E. & Leme, F. O. P. (2022). Classification of lymphoma in cats and its relationship with detection of feline leukemia

virus proviral DNA. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 42. doi:10.1590/1678-5150-PVB-7021.

149. Sirivisoot, S., Techangamsuwan, S., Tangkawattana, S., Rungsipipat, A. (2017). Pax5 as a potential candidate marker for canine B-cell lymphoma. *Veterinari Medicina*, 62, 74–80. doi:10.17221/100/2016-VETMED.

150. Smallwood, K., Harper, A., & Blackwood, L. (2021). Lomustine, methotrexate and cytarabine chemotherapy as a rescue treatment for feline lymphoma. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(8), 722–729. doi:10.1177/1098612X20972066.

151. Stansfeld, A. G., Diebold, J., Noel, H., Kapanci, Y., Rilke, F., Kelényi, G., Sundstrom, C., Lennert, K., van Unnik, J. A., & Mioduszezewska, O. (1988). Updated Kiel classification for lymphomas. *Lancet* (London, England), 1(8580), 292–293. doi:10.1016/s0140-6736(88)90367-4.

152. Steele, K. E., Saunders, G. K., & Coleman, G. D. (1997). T-cell-rich B-cell lymphoma in a cat. *Veterinary Pathology*, 34(1), 47–49. doi:10.1177/030098589703400108.

153. Strombeck, D. R., & Guilford, W. G. (1991). *Small animal gastroenterology*. Wolfe Publishing Ltd.

154. Stützer, B., Simon, K., Lutz, H., Majzoub, M., Hermanns, W., Hirschberger, J., Sauter-Louis, C., & Hartmann, K. (2011). Incidence of persistent viraemia and latent feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(2), 81–87. doi:10.1016/j.jfms.2010.09.015.

155. Suntz, M., Failing, K., Hecht, W., Schwartz, D., & Reinacher, M. (2010). High prevalence of non-productive FeLV infection in necropsied cats and significant association with pathological findings. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 136(1-2), 71–80. doi:10.1016/j.vetimm.2010.02.014.

156. Taşçà, C. (1976). *Introducere in morfologia cantitativa cito-histologica*. Bucuresti. 190.

157. Takahashi, R., Goto, N., Ishii, H., Ogiso, Y., & Saegusa, J. (1974). Pathological observations of natural cases of feline lymphosarcomatosis. *Nihon juigaku*

zasshi. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 36(2), 163–173. doi.:10.1292/jvms1939.36.163.

158. Tanaka, S., Suzuki, R., Hirata, M., Kagawa, Y., & Koyama, H. (2022). Unusual diagnosis of feline cardiac lymphoma using cardiac needle biopsy. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 251. doi.:10.1186/s12917-022-03357-7.

159. Taylor, S. S., Goodfellow, M. R., Browne, W. J., Walding, B., Murphy, S., Tzannes, S., Gerou-Ferriani, M., Schwartz, A., & Dobson, J. M. (2009). Feline extranodal lymphoma: response to chemotherapy and survival in 110 cats. *The Journal of Small Animal Practice*, 50(11), 584–592. doi.:10.1111/j.1748-5827.2009.00813.x.

160. Teske, E., Van Lankveld, A. J., & Rutteman, G. R. (2014). Intraperitoneal antineoplastic drug delivery: experience with a cyclophosphamide, vincristine and prednisolone protocol in cats with malignant lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 12(1), 37-46.

161. Teske, E., van Straten, G., van Noort, R., & Rutteman, G. R. (2002). Chemotherapy with cyclophosphamide, vincristine, and prednisolone (COP) in cats with malignant lymphoma: new results with an old protocol. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16(2), 179–186. doi.:10.1892/0891-6640(2002)016<0179:cwcvap>2.3.co;2.

162. Tobey, J. C., Houston, D. M., Breur, G. J., Jackson, M. L., & Stubbington, D. A. (1994). Cutaneous T-cell lymphoma in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204(4), 606–609.

163. Vail, D. M. (2013). Feline lymphoma and leukemia. In: Withrow S. J., Vail, D. M., Page, R. L., eds. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 5th ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders.

164. Vail, D. M., Moore, A. S., Ogilvie, G. K., & Volk, L. M. (1998). Feline lymphoma (145 cases): proliferation indices, cluster of differentiation 3 immunoreactivity, and their association with prognosis in 90 cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12(5), 349–354. doi.:10.1111/j.1939-1676.1998.tb02134.x.

165. Valli, V. E., Jacobs, R. M., Norris, A., Couto, C. G., Morrison, W. B., McCaw, D., Cotter, S., Ogilvie, G., & Moore, A. (2000). The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute

working formulation. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 12(4), 295–306. doi:10.1177/104063870001200401.

166. Valli, V. E., San Myint, M., Barthel, A., Bienzle, D., Caswell, J., Colbatzky, F., Durham, A., Ehrhart, E. J., Johnson, Y., Jones, C., Kiupel, M., Labelle, P., Lester, S., Miller, M., Moore, P., Moroff, S., Roccabianca, P., Ramos-Vara, J., Ross, A., Scase, T., Vernau, W. (2011). Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. *Veterinary Pathology*, 48(1), 198–211. doi:10.1177/0300985810379428.

167. Valli, V. E., McSherry, B. J., Dunham, B. M., Jacobs, R. M., & Lumsden, J. H. (1981). Histocytology of lymphoid tumours in the dog, cat and cow. *Veterinary Pathology*, 18(4), 494–512. doi:10.1177/030098588101800408.

168. Van Pelt, D. R., & Lappin, M. R. (1994). Pathogenesis and treatment of feline rhinitis. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 24(5), 807–823. doi:10.1016/s0195-5616(94)50102-5.

169. Vezzali, E., Parodi, A. L., Marcato, P. S., & Bettini, G. (2010). Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8(1), 38–49. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00201.x.

170. Vonderhaar, M. A. & Morrison, W. B. (2002). Lymphosarcoma. In: Morrison W.B. (Ed). *Cancer in Dogs and Cats: Medical and Surgical Management*. 2nd edn. Jackson Hole: Teton NewMedia, 641–670.

171. Walton, R. M., Brown, D. E., Burkhard, M. J., Donnelly, K. B., Frank, A. A., Obert, L. A., Withrow, S. J., & Thrall, M. A. (1997). Malignant histiocytosis in a domestic cat: cytomorphologic and immunohistochemical features. *Veterinary Clinical Pathology*, 26(2), 56–60. doi:10.1111/j.1939-165x.1997.tb00708.x.

172. Waly, N. E., Gruffydd-Jones, T. J., Stokes, C. R., & Day, M. J. (2005). Immunohistochemical diagnosis of alimentary lymphomas and severe intestinal inflammation in cats. *Journal of Comparative Pathology*, 133(4), 253–260. doi:10.1016/j.jcpa.2005.05.004.

173. Wang, J., Kyaw-Tanner, M., Lee, C., & Robinson, W. F. (2001). Characterisation of lymphosarcomas in Australian cats using polymerase chain reaction and immunohistochemical examination. *Australian Veterinary Journal*, 79(1), 41–46. doi:10.1111/j.1751-0813.2001.tb10639.x.
174. Webster, J. D., Dennis, M. M., Dervisis, N., Heller, J., Bacon, N. J., Bergman, P. J., Bienzle, D., Cassali, G., Castagnaro, M., Cullen, J., Esplin, D. G., Peña, L., Goldschmidt, M. H., Hahn, K. A., Henry, C. J., Hellmén, E., Kamstock, D., Kirpensteijn, J., Kitchell, B. E., Amorim, R. L. American College of Veterinary Pathologists' Oncology Committee (2011). Recommended guidelines for the conduct and evaluation of prognostic studies in veterinary oncology. *Veterinary Pathology*, 48(1), 7–18. doi:10.1177/0300985810377187.
175. Weiss, A. T., Klopfleisch, R., & Gruber, A. D. (2010). Prevalence of feline leukaemia provirus DNA in feline lymphomas. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12(12), 929–935. doi:10.1016/j.jfms.2010.07.006.
176. Weiss, D. J., Gagne, J. M., & Armstrong, P. J. (1996). Relationship between inflammatory hepatic disease and inflammatory bowel disease, pancreatitis, and nephritis in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 209(6), 1114–1116.
177. Wellman, M. L., Hammer, A. S., DiBartola, S. P., Carothers, M. A., Kociba, G. J., & Rojko, J. L. (1992). Lymphoma involving large granular lymphocytes in cats: 11 cases (1982-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201(8), 1265–1269.
178. Welter, J., Duckova, T., Groiss, S., Wolfesberger, B., Fuchs-Baumgartinger, A., Rütgen, B. C., & Hammer, S. E. (2021). Revisiting lymphocyte clonality testing in feline B-cell lymphoma. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 242, 110350. doi:10.1016/j.vetimm.2021.110350.
179. Werner, J. A., Woo, J. C., Vernau, W., Graham, P. S., Grahn, R. A., Lyons, L. A., & Moore, P. F. (2005). Characterization of feline immunoglobulin heavy chain variable region genes for the molecular diagnosis of B-cell neoplasia. *Veterinary Pathology*, 42(5), 596–607. doi:10.1354/vp.42-5-596.

180. Willard, M. D. (2012). Alimentary neoplasia in geriatric dogs and cats. *The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice*, 42(4), 693–706. doi:10.1016/j.cvsm.2012.04.006.
181. Williams, A. G., Hohenhaus, A. E., & Lamb, K. E. (2021). Incidence and treatment of feline renal lymphoma: 27 cases. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(10), 936–944. doi:10.1177/1098612X20984363.
182. Wilson, H. M. (2008). Feline alimentary lymphoma: demystifying the enigma. *Topics in companion animal medicine*, 23(4), 177–184. doi:10.1053/j.tcam.2008.10.003.
183. Withrow, S. J, Vail, D. M, & Page, R. L. (2013). *Small animal clinical oncology*. 5th ed. St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders. doi:10.1016/C2009-0-53135-2.
184. Woldemeskel, M. (2020). Primary Cardiac Lymphoma in a Cat. *Journal of Comparative Pathology*, 174, 34–38. doi:10.1016/j.jcpa.2019.10.192.
185. Wolfesberger, B., Skor, O., Hammer, S. E., Flickinger, I., Kleiter, M., Rütgen, B. C., Schwendenwein, I., Tichy, A., Hittmair, K. M., Degasperi, B., & Fuchs-Baumgartinger, A. (2017). Does categorisation of lymphoma subtypes according to the World Health Organization classification predict clinical outcome in cats? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(8), 897–906. doi:10.1177/1098612X16666119.
186. Yoshino, Y., Chambers, J. K., Nakamori, T., Goto-Koshino, Y., Nishigaki, K., Tsujimoto, H., Matsuki, N., Nakayama, H., & Uchida, K. (2017). Primary cerebellar lymphoma with Hodgkin lymphoma-like morphology in a cat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 29(5), 707–710. doi:10.1177/1040638717704239.
187. Zahm, S. H., & Blair, A. (1992). Pesticides and non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer research*, 52(19 Suppl), 5485–5488.
188. Zahm, S. H., Weisenburger, D. D., Babbitt, P. A., Saal, R. C., Vaught, J. B., Cantor, K. P., & Blair, A. (1990). A case-control study of non-Hodgkin's lymphoma and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in eastern Nebraska. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 1(5), 349–356. doi:10.1097/00001648-199009000-00004.

189. Zitz, J. C., Birchard, S. J., Couto, G. C., Samii, V. F., Weisbrode, S. E., & Young, G. S. (2008). Results of excision of thymoma in cats and dogs: 20 cases (1984-2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(8), 1186–1192. doi:10.2460/javma.232.8.1186.
190. Zivny, J., Banner, B. F., Agrawal, S., Pihan, G., & Barnard, G. F. (2004). CD4+ T-cell lymphoproliferative disorder of the gut clinically mimicking celiac sprue. *Digestive diseases and sciences*, 49(4), 551–555. doi:10.1023/b:ddas.0000026297.25591.62.
191. Zukerberg, L. R., Medeiros, L. J., Ferry, J. A., & Harris, N. L. (1993). Diffuse low-grade B-cell lymphomas. Four clinically distinct subtypes defined by a combination of morphologic and immunophenotypic features. *American Journal of Clinical Pathology*, 100(4), 373–385. doi:10.1093/ajcp/100.4.373.
192. Zwahlen, C. H., Lucroy, M. D., Kraegel, S. A., & Madewell, B. R. (1998). Results of chemotherapy for cats with alimentary malignant lymphoma: 21 cases (1993-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213(8), 1144–1149.
193. Задворний, Т. В., Лук'янова, Н. Ю., Стаховський, Е. О., Чекур, В. Ф. (2021). Проліферативна активність та адгезивні властивості РПЗ з фенотипом пухлинних стовбурових клітин. *Науково-практичний журнал Онкологія*, 23 (3), 1–6. doi: 10.32471/oncology.2663-7928.t-23-3-2021-g.9601.
194. Орєхова Х. В. (2021). Патоморфологічні зміни в лімфатичних вузлах за лімфосаркоми у котів. Матеріали II конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині», присвячені 140-річчю відкриття навчального закладу «Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові». Львів, 113–114.
195. Орєхова Х. В. (2021). Патоморфологічні зміни в нирках за екстранодальної форми лімфоми у котів. Збірник матеріалів IV всеукраїнської науково-практичної конференції «Теорія та практика сучасної морфології». Дніпро, 106–108.

196. Орехова Х. В. (2022). Цитологічна та патоморфологічна характеристика медіастинальної великої В-клітинної лімфому у мейн-куна. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти». Житомир, 96–101.

197. Орехова Х. В., Щербентовська О. М. (2023). Патоморфологічні зміни в органах котів, спричинені аліментарною лімфомою. Клінічні випадки. Науково-технічний вісник Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів і кормових добавок та Інституту біології тварин, 24(2), 145–155. doi:10.36359/scivp.2023-24-2.15.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

НАУКОВІ ПРАЦІ, У ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

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

1. Oriekhova, K., & Shchebentovska, O. (2022). Pathohistological features of mediastinal lymphoma in domestic cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(3), 317–323. doi:10.15421/022241 *(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготувала матеріали до друку).*

2. Oriekhova, K., & Shchebentovska, O. (2023). Pathomorphology of the renal form of lymphoma in cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(1), 3–9. doi:10.15421/022301 *(Здобувачка провела патологоанатомічний розтин котів, відібрала матеріал для патогістологічного дослідження, підготувала статтю до друку).*

Статті у фахових наукових виданнях України:

3. Орєхова Х. В., Щебентовська О. М. (2023). Патоморфологічні зміни в органах котів, спричинені аліментарною лімфомою. Клінічні випадки. Науково-технічний вісник Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів і кормових добавок та Інституту біології тварин, 24(2), 145–155. doi:10.36359/scivp.2023-24-2.15 *(Здобувачка провела патологоанатомічний розтин котів, відібрала матеріал для патогістологічного та імуногістохімічного дослідження, підготувала матеріал до друку).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

Тези наукових доповідей:

4. Орєхова Х. В. (2021). Патоморфологічні зміни в лімфатичних вузлах за лімфосаркоми у котів. *Матеріали II конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині», присвячені 140-річчю відкриття навчального закладу «Цісарсько-королівська ветеринарна школа та*

школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові». Львів, 113–114.

5. Орєхова Х. В. (2021). Патоморфологічні зміни в нирках за екстранодальної форми лімфоми у котів. *Збірник матеріалів IV всеукраїнської науково-практичної конференції «Теорія та практика сучасної морфології»*. Дніпро, 106–108.

6. Орєхова Х. В. (2022). Цитологічна та патоморфологічна характеристика медіастинальної великої В-клітинної лімфоми у мейн-куна. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 35-річчю заснування факультету ветеринарної медицини «Сучасний стан розвитку ветеринарної медицини, науки і освіти»*. Житомир, 96–101.

ДОДАТОК Б



«Затверджую»
ФОП Директор ветеринарної клініки
«Ветпрактик», м. Львів, вул. П. Панча, 5
Дацишин М.І.
«13» жовтня 2023р.

Акт впровадження/використання результатів

кандидатської дисертаційної роботи у ветеринарну практику

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему:
«Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів», що
представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі
спеціальності 211 Ветеринарна медицина, виконаної

Ореховою Христиною Василівною

впроваджено в практику лікарів ветеринарної медицини, які спеціалізуються на
профілактиці та лікуванні захворювань дрібних домашніх тварин методи
діагностики та дослідження лімфосарком у котів, їх верифікація для подальшого
вибору найоптимальнішого методу лікування та найефективнішого протоколу
хіміотерапії.

З метою встановлення фенотипу лімфосарком рекомендовано проводити
імуногістохімічні дослідження даного виду новоутворень.

ДОДАТОК В

«Затверджую»

ФОП, Директор ветеринарної клініки

«Доктор VET», м. Львів, вул. Рясівська, 27а

Яковенко Яковець О.Б.
« 23 » жовтня 2023р.**Акт впровадження/використання результатів****кандидатської дисертаційної роботи у ветеринарну практику**

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: **«Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів»**, що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 Ветеринарна медицина, виконаної

Орською Христиною Василівною

впроваджено в практику лікарів ветеринарної медицини, які спеціалізуються на профілактиці та лікуванні захворювань дрібних домашніх тварин методи діагностики та дослідження лімфосарком у котів, їх верифікація для подальшого вибору найоптимальнішого методу лікування та найефективнішого протоколу хіміотерапії.

З метою встановлення фенотипу лімфосарком рекомендовано проводити імуногістохімічні дослідження даного виду новоутворень.

ДОДАТОК Г

ЗАТВЕРДЖЕНО:
Проректор з науково-педагогічної,
наукової роботи, к.с.-г.н., доцент
Олег ГОРБ

« 6 » лютого 2024 р.

АКТ

**Про впровадження/використання результатів
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, Орехової Христини Василівни на тему: **«Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів»** впроваджені у навчальний процес при вивченні таких дисциплін, як: «Патологічна анатомія та розтин», «Патологічна фізіологія» і використовуються в наукових дослідженнях на кафедрі нормальної і патологічної анатомії та фізіології тварин Полтавського державного аграрного університету.

2. Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри нормальної і патологічної анатомії та фізіології тварин ПДАУ, протокол засідання кафедри № 8 від 5 лютого 2024 року.

Декан факультету
ветеринарної медицини ПДАУ,
доктор ветеринарних наук, професор  Сергій КУЛИНИЧ

Завідувач кафедри
нормальної і патологічної анатомії
та фізіології тварин ПДАУ,
кандидат ветеринарних наук, доцент  Ганна ОМЕЛЬЧЕНКО

ДОДАТОК Д



Затверджую

Проректор з наукової роботи та
інноваційного розвитку

Людмила РОМАНЧУК

« 28 »

01

2024р.

А К Т

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

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи аспіранта кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Орехової Христини Василівни на тему: «Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів», що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – «Ветеринарна медицина», впроваджено у навчальний процес при викладанні дисципліни «Патологічна анатомія».

Одержані результати дисертаційної роботи щодо патоморфології (макроскопічних і мікроскопічних змін) у котів за різного типу лімфосарком використовуються при читанні лекцій і проведенні лабораторних занять з патоморфології хвороб тварин на кафедрі нормальної і патологічної морфології, гігієни та експертизи у підготовці здобувачів освітнього ступеня «Магістр» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» у Поліського національного університету (протокол № 8 від 12.01.2024 р.).

/Декан факультету ветеринарної
медицини, кандидат ветеринарних
наук, доцент

Анатолій РЕВУНЕЦЬ

Завідувач кафедри нормальної і
патологічної морфології, гігієни та
експертизи, кандидат
ветеринарних наук, доцент

Ігор СОКУЛЬСЬКИЙ

ДОДАТОК Е

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Проректор з міжнародної та
наукової діяльності,д.с.н., професор
Юрій ДАНЬКО

2024 р.

АКТ

Про впровадження/використання результатів
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, Орехової Христини Василівни на тему: **«Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів»** 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 № 9 від 15.01. 2024 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 Ж

ЗАТВЕРДЖУЮ

проректор з наукової та інноваційної
діяльності Білоцерківського НАУ

 професор О.М. Варшанко
«9» лютого 2024 року



АКТ

**Про впровадження/використання результатів
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, Орехової Христини Василівни на тему: **«Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів»** впроваджені у навчальний процес при вивченні таких дисциплін, як: «Ветеринарна мікробіологія та вірусологія», «Лабораторна діагностика», «Біологічна безпека та мікробіологічна діагностика інфекційних хвороб», і використовуються в наукових дослідженнях на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри мікробіології та вірусології Білоцерківського НАУ, протокол засідання кафедри №1 від 08.02. 2024 року.

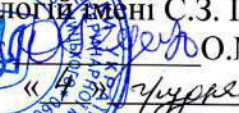
Завідувач кафедри
мікробіології та вірусології,
доктор ветеринарних наук, доцент

 І.О. Рубленко

/ Декан ФВМ,
доктор ветеринарних наук, доцент

 С.А. Власенко

ДОДАТОК 3

ЗАТВЕРДЖЕНО:
 проректор з наукової роботи
 Львівського національного університету
 ветеринарної медицини та
 біотехнологій імені С.З. Гжицького
 доцент  О.М. Федець
 «4» грудня 2023р.



АКТ
Про впровадження/використання результатів
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, Орехової Христини Василівни на тему: **«Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів»** впроваджені у навчальний процес при вивченні таких дисциплін, як: «Патологічна морфологія та розтин», «Клінічна патологія» та використовуються в наукових дослідженнях на кафедрі нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії, протокол засідання кафедри № 5 від 01 грудня 2023 року.

Завідувач кафедри
 д.вет.н., професор

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

ЖИЛА М.І.

СТРОНСЬКИЙ Ю.С.