

## **РЕЦЕНЗІЯ**

на дисертаційну роботу Орехової Христини Василівни на тему: «Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів», що подається на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія», за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

### **Актуальність теми.**

Загальновідомо, що онкологічні захворювання належать до числа найбільш небезпечних патологій у людини та тварин. Адже, діагностують неоплазії, здебільшого, на пізніх етапах їхнього розвитку, тому лікування, зазвичай, буває малоефективним, а прогноз, через високу летальність, несприятливим. Водночас, слід відмітити, що незважаючи на значні досягнення світової гуманної та ветеринарної медичної науки і практики пухлини залишаються найменш вивченими в діагностичному, клінічному, патогенетичному і лікувальному аспектах. Це стосується і цілої низки лімфопроліферативних захворювань лімфатичної системи, які об'єднані під назвою лімфома (лімфосаркома). Зважаючи, що лімфатична система поширена майже в усіх органах тварин і людини лімфома може поширюватися на усі органи та уражати практично усі тканини в організмі. При цьому відомо, що лімфопроліферативні захворювання, залежно від локалізації, суттєво відрізняються між собою за біологічними властивостями, клінічними проявами, морфологічними особливостями, відповіддю на терапію та прогнозом. На сьогодні класифікація ВООЗ, містить уже кілька десятків типів лімфом і, з кожним роком, на підставі результатів численних наукових досліджень, такий перелік збільшується. Нині наукові дослідження зосередженні на найбільш суперечливих аспектах щодо діагностичних критеріїв визначення типів лімфоми, нових діагностичних і прогностичних параметрів, термінології, перебігу лімфоми у ссавців різних видів, включаючи людину, а також питаннях сучасних методів лікування. Ці питання нерідко є предметом наукової дискусії і часто трактується з різних точок зору. Звичайно, що окремі з питань, вище вказаної проблеми, стали об'єктом проведення дисертанткою цілеспрямованих досліджень.

Отже, дисертаційна робота Орехової Христини Василівни на тему: «Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів» є актуальною, має теоретичне і практичне значення для вітчизняної ветеринарної медицини.

### **Аналіз структури та змісту дисертації**

Рецензована дисертаційна робота оформлена згідно з вимогами, що ставляться до таких робіт та містить, відповідно, усі основні структурні елементи. Зокрема, в анотації, українською та англійською мовами, висвітлено зміст та основні результати досліджень, зазначено елементи наукової новизни та практичного значення, ключові слова. Подано список 6 опублікованих праць за темою дисертації із зазначенням частки особистої участі та наукового доробку здобувачки.

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.

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

Робота виконувалася в умовах навчально-дослідної лабораторії кафедри нормальної та патологічної, морфології і судової ветеринарії ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького та клінік «Доктор Вет» і «Ветпрактик», м. Львів.

Результати власних досліджень становлять основну частину дисертації. Дисертантка провела дослідження із використанням як сучасних, так і класичних методів дослідження, зокрема застосовано фізикальні, клініко-морфологічні, візуальної діагностики (ультрасонографічні, рентгенологічні та компютерної томографії), патогістологічні, імуногістохімічні, електронно-мікроскопічні, морфо метричні та статистичні.

За результатами аналізу поширення захворювань котів на неоплазії встановлено, що в структурі онкологічних захворювань у котів в клініках «Доктор Вет» та «Ветпрактик» м. Львова на пухлини молочних залоз припадало 75,60 % та 74,06 %, відповідно. Лімфоми становили 22,24 % і 23,35 %, саркоми – 0,80 % та 0,72 %, мастоцитоми – 0,45 % та 0,43 %, відповідно, первинні новоутворення грудної порожнини реєстрували у 0,91% і 1,43 %.

Дисертанткою встановлено, що серед діагностованих в клініках «Доктор Вет» і «Ветпрактик» лімфом у котів аліментарна займала – 60,31 % та 61,96 %, відповідно; медіастинальна – 28,35 % та 28,24 %; екстранодальна – 11,34 % та 9,20 %. За результатами тонкогілкової біопсії уражених тканин при різних типах лімфоми на цитологічних препаратах виявлено лімфобластні клітини з невеликою азурофільною цитоплазмою, помірно вираженим анізоцитозом та анізокаріозом, зернистістю каріоплазми та атипovими мітозами.

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 – відмічено збільшення та деформацію нирок за рахунок туморозних утворень, прослідковується слабовиражена межа між кірковою і мозковою зонами. 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.

За результатами імуногістохімічних досліджень дисертанткою верифіковано фенотип лімфом. Встановлено, що у всіх клінічних випадках у котів переважала В-клітинна лімфома. На частку аліментарної В-клітинної лімфоми 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 %.

Морфометричними дослідженнями встановлено площу лімфобласних клітин за різних типів лімфом, а саме: за аліментарної лімфоми площа В-лімфобластів дорівнювала  $38,72 \pm 1,68$  мкм<sup>2</sup>, площа ядра –  $25,62 \pm 0,86$  мкм<sup>2</sup>, ЯЦВ (ядерно-цитоплазматичне відношення) –  $0,66 \pm 0,17$ ; за аліментарної Т-клітинної лімфоми – площа клітин становила  $36,71 \pm 1,45$  мкм<sup>2</sup>, площа ядра –  $19,45 \pm 1,02$  мкм<sup>2</sup>, ЯЦВ –  $0,53 \pm 0,21$ . За медіастинальної В-клітинної лімфоми площа лімфобласних клітин займала  $51,89 \pm 1,98$  мкм<sup>2</sup>, площа ядра –  $30,89 \pm 1,67$  мкм<sup>2</sup>; ЯЦВ становило  $0,59 \pm 0,97$ ; за медіастинальної Т-клітинної лімфоми – площа клітин дорівнювала  $29,57 \pm 2,14$  мкм<sup>2</sup>, площа ядра –  $18,54 \pm 1,12$  мкм<sup>2</sup>, ЯЦВ –  $0,62 \pm 0,71$ . Тоді, як за ренальної В-клітинної лімфоми на площу клітин припадало  $32,95 \pm 1,34$  мкм<sup>2</sup>, на площу ядра –  $22,64 \pm 0,98$  мкм<sup>2</sup>, ЯЦВ дорівнювало  $0,68 \pm 0,76$ . За ренальної Т-клітинної лімфоми площа клітин становила  $31,48 \pm 2,03$  мкм<sup>2</sup>, площа ядра –  $20,42 \pm 1,12$  мкм<sup>2</sup>, ЯЦВ –  $0,64 \pm 0,52$ . Встановлені показники рівня експресії маркеру Ki-67 в середостінних лімфатичних вузлах ( $19,11 \pm 2,14$  %,.) свідчили про тенденцію до підвищення проліферативної активності клітин. Водночас, достатньо висока активність маркеру -  $\geq 24$  % могла вказувати на несприятливий прогноз та ймовірне поширення патологічного процесу на інші органи.

На основі фактичного матеріалу дисертантка зробила 10 логічних, чітких і послідовних висновків та 4 пункти пропозицій виробництву, що впливають з власних досліджень і відображають досягнення поставленої мети та виконання завдань досліджень. Використана література відповідає напрямку досліджень, що свідчить про обізнаність дисертантки зі світовими науковими досягненнями в даній галузі науки.

### **Наукова новизна і практичне значення одержаних 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 клініко-анатомічні 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.

Вперше у вітчизняній ветеринарній медицині верифіковано імунофенотип лімфоми у котів з використанням імуногістохімічних маркерів CD3 (Т-лімфоцити) та CD79a (В-лімфоцити). Встановлено, що серед усіх

досліджуваних лімфом у котів переважала В-клітинна (76,4 %), тоді як на Т-клітинну припадало 23,6 %.

За застосування морфометричних методів 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.

Практичне значення одержаних результатів полягає у тому, що 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 рекомендуються використовувати у якості основних та додаткових диференційно-діагностичних критеріїв імунофенотипування лімфоми у котів.

Результати досліджень використовуються у навчальному процесі при викладанні дисципліни «Патологічна анатомія та розтин» на факультетах ветеринарної медицини ряду закладів вищої освіти профільного спрямування. Можуть бути використані при написанні підручників, монографій з ветеринарної онкології.

**Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.** Аналіз змісту дисертації свідчить, що вона виконана на достатньо високому науково-методичному рівні, однак поряд з аргументованими, безперечними положеннями трапляються твердження, які потребують додаткового уточнення. Зокрема:

- ст.26. 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. Уточніть, чи уражалися зовнішні міжреберні м'язи чи інші м'язи грудної стінки та, відповідно, які саме лімфатичні вузли слід вважати регіонарними, тобто такими, що першими реагують за ураження грудних м'язів?
- У другому абзаці пункту «Практичне значення отриманих результатів» (ст. 28.) пишете: «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». Поясніть зміст цього речення у контексті практичного значення отриманих результатів.

- Чи вивчали Ви стан кісткового мозку? Адже, згідно даних огляду літератури (ст.46) Вами відмічено, що усі коти з лімфоною, незалежно від локалізації, можуть мати вторинну інфільтрацію кісткового мозку, що призводить до анемії та лейкомічного профілю крові;
- Уточніть, у який період перебігу захворювання в котів хворих на лімфому досліджували морфологічні показники крові, і чому, в одних випадках проведення гематологічних досліджень, наприклад, за аліментарної (табл. 3.3; ст.61) та ренальної форми хвороби (табл. 3.10; ст.116), тварин не виокремлювали в окремі групи на підставі результату тесту, а у котів з медіастинальною формою лімфоми (табл.3.7; ст. 97) було розділено на дві групи - FeLV –позитивних та, відповідно, FeLV – негативних.
- ст.116. За опису лейкограми за ренальної лімфоми допущено неточності, зокрема, вказано про збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів на 33,3 % та зменшення лімфоцитів, відповідно на 38,8 %. Оскільки показники лейкограми представлені у відсотках то не варто вираховувати відсотки із відсотків, а потрібно було лише встановити різницю, яка у першому випадку становила 18, а у другому 14 %.
- ст. 134. Незрозуміле трактування: «Анатомічна підгрупа з ураженням середостіння мала наймолодший зареєстрований середній вік 5, 6 років, порівняно з іншими анатомічними підгрупами. Що означає «анатомічна підгрупа»?
- ст. 145. У висновку 2 вказано, що на медіастинальну лімфому хворіють коти до 4 років, уточніть конкретно у якому віці тварини захворіли та впродовж якого часу вони загинули, а також яка медіана та мода тривалості життя котів за ураження лімфоною?
- ст. 145 Згідно з висновком 3 встановлено, що за аліментарної лімфоми відбувалось достовірне підвищення активності трансаміназ – аспартатамінотрансферази у 3,5 рази, аланінамінотрансферази у 6 разів та загального білірубіну, відносно показників фізіологічно здорових котів, що може свідчити про пошкодження мембран та розпад самих клітин, пошкодження проток залоз внутрішньої секреції внаслідок мультифокального інфільтативного росту пухлини. Уточніть про розпад яких саме клітин, а також про які залози внутрішньої секреції йде мова?
- У назві дисертації доцільно би було застосувати назву захворювання в однині (згідно Міжнародної класифікації хвороб (МКХ-10), замість «різних типів лімфосарком» чи «лімфом» вжити «різних типів лімфосаркоми» чи «лімфоми»;
- Некоректні вирази, що трапляються у тексті: ст.23,46,50 ветеринарні лікарі; ст. 46 запальне захворювання кишечника; ст. 109 цитопласма; ст. 136 хронічні клінічні захворювання; ст. 140 ...середня тривалість клінічних ознак до їх появи становила, в середньому, 11 днів; ст. 140 м'яких тканин грудини; ст. 141. під час огляду встановлено двобічну реномегалію. ст141. посилену візуалізація дрібних судин.
- У прикінцевій частині Розділу 4 варто було зробити підсумкове заключення щодо важливості отриманих Вами результатів для науки і практики, зокрема, у поглибленні знань за діагностики лімфоми

Наявні зауваження не є принциповими і не зменшують наукової цінності та проблемного значення виконаної роботи. Сподіваємось, що висловлені оцінки та побажання сприятимуть подальшому науковому вдосконаленню дисертантки.

### **Загальний висновок на дисертацію.**

Вважаю, що рецензована дисертаційна робота Орехової Христини Василівни на тему: «Патоморфологічна верифікація різних типів лімфосарком у котів», оформлена згідно з наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій», за змістом, актуальністю, науковою новизною, ступенем обґрунтованості висновків і пропозицій є завершеною науковою працею та відповідає вимогам, що передбачені Порядком присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії (затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44) і пропонується до захисту на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії, галузі знань 21 «Ветеринарія», за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

Рецензент,

доктор ветеринарних наук, професор,  
професор кафедри хірургії  
Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій  
імені С. З. Гжицького



Андрій МИСАК



**ВІРНО**  
начальник відділу кадрів  
Львівського  
національного університету  
ветеринарної медицини  
та біотехнологій  
імені С.З. Гжицького