

# KOMPARATIVNA ANALIZA LIMFOMA PASA DIJAGNOSTICIRANIH NA ZAVODU ZA VETERINARSKU PATOLOGIJU VETERINARSKOG FAKULTETA SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

---

**Matasović, Mavro**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:462727>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-29**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)





**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**VETERINARSKI FAKULTET**

Mavro Matasović

**KOMPARATIVNA ANALIZA LIMFOMA PASA**  
**DIJAGNOSTICIRANIH NA ZAVODU ZA VETERINARSKU**  
**PATOLOGIJU VETERINARSKOG FAKULTETA SVEUČILIŠTA U**  
**ZAGREBU**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2023.

VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

ZAVOD ZA VETERINARSKU PATOLOGIJU

Predstojnik: izv. prof. dr. sc. Marko Hohšteter

Mentori: izv. prof. dr. sc. Marko Hohšteter, dr. sc. Lidija Medven Zagradišnik

Članovi povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Andrea Gudan Kurilj
2. izv. prof. dr. sc. Marko Hohšteter
3. dr. sc. Lidija Medven Zagradišnik
4. dr. sc. Doroteja Huber, zamjena

## **POPIS PRILOGA**

**Graf 1.** Omjer nepotvrđenih i potvrđenih dijagnoza limfoma u pasa na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

**Graf 2.** Broj pasa s dijagnosticiranim limfomom prema dobi psa (u godinama) u vrijeme postavljanja dijagnoze

**Graf 3.** Omjer spolova pasa s dijagnosticiranim limfomom

**Graf 4.** Omjer pasa čistokrvnih, miješanih i nepoznatih pasmina s dijagnosticiranim limfomom

**Tablica 1.** Anatomska klasifikacija limfoma u pasa (VAIL i YOUNG, 2007.).

**Tablica 2.** Klinički stadiji Svjetske zdravstvene organizacije za multicentrični limfom u pasa (OWEN, 1980.).

**Tablica 3.** Deskriptori potvrđenih dijagnoza limfoma u pasa

**Tablica 4.** Prikaz pasa s dijagnosticiranim limfomima po pasminama i postotak oboljelih u odnosu na broj pasa po pasminama zavedenim u Issa Vams Tec sustav

**Tablica 5.** Raspodjela pasa prema podvrstama limfoma po anatomskoj klasifikaciji

**Tablica 6.** Raspodjela pasa prema imunofenotipu neoplastičnih stanica

**Tablica 7.** Prikaz broja cjelovitih dijagnoza prema klasifikaciji po SZO, broja specificirane morfologije stanica u potvrđenim dijagnozama, te veličina stanica

## ZAHVALA

Autor ovog rada zahvaljuje svojim mentorima izv. prof. dr. sc. Marku Hohšteteru i dr. sc. Lidiji Medven Zagradišnik, ostalim djelatnicima Zavoda za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i kolegici Karli Pavliček.

Nadalje, zahvaljuje sljedećim ljudima: Luji, Ranku i Tajani Matasović, Ljerki Muretić Sertić, Maji i Franu Matasoviću, Albertu Greglu, Margareti Sačer i ostalim članovima svoje obitelji, te Silviju Škudaru, Jerku Meštoviću, Petri Piršić, Anti Markovu, Hani Milošević, Dariji Pervan, Emi Muselin, Nikoli Mohoroviću i drugim dobrim prijateljima i znancima koji su mu pomagali na različite načine kroz godine studiranja, a kojih je, na sreću, previše da bi ih se ovdje sve spomenulo.

## POPIS KRATICA

**ALP** – *alkaline phosphatase* (alkalna fosfataza)

**ALT** – *alanine transaminase* (alanin transaminaza)

**Bcl-2** – *B-cell lymphoma 2* (B-stanični limfom 2)

**Bcl-6** – *B-cell lymphoma 6* (B-stanični limfom 6)

**CD** – *Cluster of differentiation* (klaster diferencijacije)

**CD3** – *Cluster of differentiation 3* (stanični diferencijacijski antigen 3)

**CD4** – *Cluster of differentiation 4* (stanični diferencijacijski antigen 4)

**CD8** – *Cluster of differentiation 8* (stanični diferencijacijski antigen 8)

**CD20** – *Cluster of differentiation 20* (stanični diferencijacijski antigen 20)

**CD21** – *Cluster of differentiation 21* (stanični diferencijacijski antigen 21)

**CD79 $\alpha$**  – *Cluster of differentiation 79 alpha* (stanični diferencijacijski antigen 79 alfa)

**CT** – *Computed tomography* (kompjutorizirana tomografija)

**DNA** – *Deoxyribonucleic acid* (deoksiribonukleinska kiselina)

**FNA** – *Fine-needle aspirate* (aspirat tankom iglom)

**GALT** – *Gut-associated lymphoid tissue* (limfno tkivo pridruženo probavnom traktu)

**GATA3** – *GATA Binding Protein 3* (GATA vezujući protein 3)

**GST** – *Glutathione S-transferase* (glutation S-transferaza)

**IGHV** – *Immunoglobulin heavy chain variable region gene* (gen varijabilne regije teškog imunoglobulinskog lanca)

**MALT** – *Mucosa-associated lymphoid tissue* (limfno tkivo pridruženo sluznicama)

**MMC** – *Medium-sized macronucleated cell* (srednje velika makronuklearna stanica)

**NF- $\kappa$ B** – *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (jezgrin čimbenik kappa B)

**REAL** – *Revised European American Lymphomas Classification* (Revidirana europska i američka klasifikacija limfoma)

**RH** – Republika Hrvatska

**SAD** – Sjedinjene Američke Države

**SZO** – Svjetska zdravstvena organizacija

**SŽS** – Središnji živčani sustav

**TBX21** – *T-Box Transcription Factor 21* (T-box transkripcijski čimbenik 21)

**TRAF3** – *TNF receptor associated factor 3* (adapterski protein TNF receptora 3)

# SADRŽAJ RADA

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD.....   | 1  |
| 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA .....  | 3  |
| 2. 1. Epidemiologija psećih limfoma .....  | 3  |
| 2. 1. 1. Epidemiologija psećih limfoma u svijetu .....   | 4  |
| 2. 1. 2. Epidemiologija psećih limfoma u Republici Hrvatskoj .....   | 4  |
| 2. 2. Etiologija psećih limfoma .....  | 5  |
| 2. 3. Molekularna biologija psećih limfoma .....   | 6  |
| 2. 4. Anatomska klasifikacija psećih limfoma .....   | 8  |
| 2. 4. 1. Multicentrični limfom.....  | 9  |
| 2. 4. 2. Medijastinalni limfom .....   | 10 |
| 2. 4. 3. Alimentarni limfom .....  | 10 |
| 2. 4. 4. Kutani limfom.....  | 11 |
| 2. 4. 5. Ekstranodalni limfom .....  | 11 |
| 2. 4. 6. Atipični oblici limfoma .....   | 13 |
| 2. 5. Dijagnostika limfoma.....  | 14 |
| 2. 5. 1. Klinička fiziologija .....  | 14 |
| 2. 5. 2. Citološka, histološka, imunocitokemijska i imunohistokemijska dijagnostika ....   | 15 |
| 2. 5. 3. Najčešća protutijela za imunofenotipizaciju psećih limfoma i klasteri<br>diferencijacije (CD) .....   | 16 |
| 2. 5. 4. Patohistološka klasifikacija limfoma.....   | 16 |
| 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....  | 20 |
| 4. MATERIJALI I METODE .....   | 21 |
| 4. 1. Prikupljeni podaci .....   | 21 |
| 4. 2. Procjena zastupljenosti pojedinih pasmina pasa u Republici Hrvatskoj .....   | 23 |
| 4. 3. Obrada podataka.....   | 24 |
| 5. REZULTATI.....  | 25 |
| 5. 1. Potvrđene i nepotvrđene dijagnoze limfoma u pasa.....  | 25 |
| 5. 2. Potvrđene dijagnoze limfoma u pasa; analiza dobi, spola i čistokrvnosti pasmine .....  | 25 |
| 5. 3. Pasmine pasa kojima je dijagnosticiran limfom.....   | 27 |
| 5. 3. 1. Broj čistokrvnih pasmina pasa s dijagnosticiranim limfomom .....  | 27 |
| 5. 3. 2. Usporedba broja pasa s dijagnosticiranim limfomom po pasminama i<br>zastupljenosti različitih pasmina pasa zavedenih u Issa Vams Tec sustav ..... | 27 |



|  |    |
|--|----|
| 5. 4. Dijagnoze limfoma rastavljene na različite deskriptore .....                         | 30 |
| 5. 4. 1. Anatomska klasifikacija .....   | 30 |
| 5. 4. 2. Uzorkovana tkiva.....   | 31 |
| 5. 4. 3. Imunofenotip neoplastičnih stanica .....  | 31 |
| 5. 4. 4. Cjelovite dijagnoze, morfologija i veličina stanica .....                         | 32 |
| 5. 4. 5. Distribucija neoplastičnih stanica u tkivu.....                                   | 33 |
| 6. RASPRAVA .....  | 34 |
| 6. 1. Mali broj potvrđenih dijagnoza limfoma .....   | 34 |
| 6. 1. 1. O dobi, spolu i čistokrvnosti pasmina pasa s dijagnosticiranim limfomom.....      | 34 |
| 6. 2. Pokušaji određivanja predispozicije pojedinih pasmina pasa za razvitak limfoma ..... | 35 |
| 6. 3. Izazovi u rastavljanju nepotpunih dijagnoza na deskriptore .....                     | 36 |
| 6. 3. 1. O anatomskoj klasifikaciji .....  | 37 |
| 6. 3. 2. O imunofenotipu neoplastičnih stanica .....                                       | 37 |
| 6. 3. 3. O cjelovitim dijagnozama prema SZO klasifikaciji .....                            | 38 |
| 6. 3. 4. O distribuciji neoplastičnih stanica u tkivu .....                                | 39 |
| 7. ZAKLJUČCI.....  | 40 |
| 8. LITERATURA .....  | 41 |
| 9. SAŽETAK .....   | 49 |
| 10. SUMMARY .....  | 50 |
| 11. ŽIVOTOPIS.....   | 51 |

# 1. UVOD

Limfomi su skupina različitih neoplazija stanica limfnog sustava, a nastaju klonalnom ekspanzijom neoplastičnih stanica limfoidne linije u centralnim ili perifernim limfnim tkivima te se potom mogu širiti u druga tkiva dostupna limfocitima. S obzirom na stadij razvitka limfocita koji su neoplastično promijenjeni, na zahvaćena tkiva tumorom, imunofenotip neoplastičnih stanica i njihove molekularne i biološke karakteristike, različiti tipovi limfoma imaju različita biološka ponašanja i različite kliničke manifestacije. Međutim, oni su redovito zloćudni tumori kompleksne etiologije koji u pravilu završavaju smrću (ZACHARY i MCGAVIN, 2008.).

Limfomi su u pasa najčešći hematopoetski tumori i čine 80 do 90 % ovih tumora, te 5 do 7 % svih psećih tumora (MORRIS i DOBSON, 2001.). Etiologija nastanka limfoma u pasa još za sada nije do kraja razjašnjena, no čini se da izloženost kancerogenim čimbenicima iz okoliša pridonosi njihovom razvoju. Limfomi se mogu klasificirati na različite tipove i podtipove prema svojem anatomskom položaju, vrsti neoplastičnih stanica i njihovom imunofenotipu, te ostalim citološkim i histološkim karakteristikama. Tijekom godina sustavi klasifikacije limfoma u pasa su se mijenjali, a danas je općeprihvaćen sustav klasifikacije prema SZO (Svjetska zdravstvena organizacija). U kliničke svrhe, međutim, najčešće se primjenjuje anatomska klasifikacija. Limfomi u pasa su u pravilu smrtonosni iako se različitim protokolima kemoterapije mogu neko vrijeme držati pod kontrolom, a psi održavati na životu. Pravovremena dijagnoza i tipizacija limfoma u pasa omogućuje određivanje prognoze, te odabir ispravne terapije, čime se uvelike može produžiti vrijeme preživljavanja psa (ZANDVLIET, 2016.).

Epidemiološka istraživanja limfoma u pasa, kao i većina epidemioloških istraživanja u veterinarskoj medicini, usprkos velikom napretku ove znanstvene discipline, i danas se susreću s mnogim problemima, od kojih su primarni pomanjkanje podataka o populacijama proučavanih vrsta životinja na nekom području, a sekundarni nedovoljno dijagnosticiranje limfoma, s mnogim slučajevima koji prođu neprimijećeno, ili nedovoljno precizno dijagnosticiranje ove bolesti, bez određivanja o kojem se tipu i podtipu radi.

Od 2009. godine podatci o zaprimljenim uzorcima, provedenim pretragama i postavljenim dijagnozama na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu počinju se bilježiti u Issa Vams Tec sustav te time postaju lakše dostupni i podložni obradi. Do 2021. godine brojni su uzorci pasa s dijagnosticiranim limfomima i

postavljenim sumnjama na limfom bili zaprimljeni na Zavodu za veterinarsku patologiju, pregledani i arhivirani tijekom redovnog rada Zavoda. Do sada, prema znanju autora, nije rađena cjelovita analiza spomenutih dijagnoza i arhiviranih uzoraka, kao ni pokušaj procjene pojavnosti limfoma u različitim pasmina pasa u Republici Hrvatskoj.

## **2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA**

### **2. 1. Epidemiologija psećih limfoma**

U veterinarskoj medicini epidemiološka istraživanja nailaze na izazove s kojima se slična istraživanja u humanoj medicini ne susreću. Dijagnosticiranje i liječenje pojedinih bolesti, samim time i mogućnost da podatci o bolesti budu dostupni istraživaču, u veterinarskoj medicini prvenstveno ovise o volji vlasnika da životinju dovede veterinaru, te volji vlasnika da plaća dijagnostičke postupke i kasnije eventualno liječenje. Također, sama procjena veličine populacije određene vrste životinja u nekom području može biti izazov za epidemiologa istraživača budući da se pojedine vrste životinja (poput kućnih ljubimaca) katkad ne prijavljuju i ne registriraju dosljedno, čak i ukoliko je to propisano zakonom (kao što je to u slučaju pasa) (ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN i sur., 2013.). Iz tih razloga, kada se provode epidemiološka istraživanja o pojedinoj bolesti životinja u različitim zemljama ili različitim dijelovima iste zemlje, epidemiološki podatci (kao na primjer incidencija tumora) mogu ispadati lažno različiti, naprosto zato što se u nekim zemljama ili prostorima životinje manje liječe ili odvede veterinaru.

U ovom potpoglavlju, će biti navedeni podatci o dosadašnjim istraživanjima vezanim uz epidemiologiju psećih limfoma u svijetu i u Hrvatskoj. Pojam pseći limfom obuhvaća mnoštvo različitih bolesti, a različiti tipovi limfoma nemaju u pasa svi jednaku incidenciju, pa je to još jedan izazov u proučavanju incidencije limfoma, pogotovo zato što se svi podtipovi limfoma ne dijagnosticiraju uvijek jednako lako.

Dakle, izazovi u procjeni pojavnosti limfoma u pasa su:

(i) slaba dostupnost podataka o izbijanju limfoma;

(ii) slaba tipizacija limfoma jednom kad su dijagnosticirani (jer vlasnici uglavnom ne pristaju na dodatne troškove za detaljnu dijagnostiku o kojem se tipu ili podtipu limfoma radi, ukoliko je to klinički nebitno, ukoliko je prognoza loša ionako, ili ukoliko vlasnik ne pristaje na liječenje);

(iii) slaba dostupnost podataka o broju pasa na nekom području (ukoliko nisu registrirani);

(iv) slaba dostupnost podataka koji opisuju populaciju pasa u području u kojem se provodi istraživanje (pasmine, spolovi, dob proučavane populacije, ukoliko psi nisu registrirani).

### *2. 1. 1. Epidemiologija psećih limfoma u svijetu*

Prema istraživanjima koja je u Nizozemskoj proveo TESKE (1994.), incidencija limfoma kod pasa bila je 13 do 24 na 100 000 pasa na godinu, ali je on sam upozorio na činjenicu kako smatra da je prava incidencija vjerojatno viša, a samo prividno ovako niska zbog već opisanih izazova u epidemiološkim istraživanjima u veterinarskoj medicini. DOBSON i sur. (2002.) su u Velikoj Britaniji utvrdili da je incidencija limfoma bila 114 na 100 000 pasa na godinu, ali su im promatranu populaciju činili samo osigurani psi. Zbog toga ZANDVLIET (2016.) procjenjuje incidenciju limfoma kod pasa na 13 do 114 na 100 000 pasa na godinu.

Psi u dobi od 6 do 8 godina su najviše predisponirani za razvoj limfoma (TESKE, 1994.), odnosno mogućnost razvoja limfoma raste kako pas stari i doseže vrhunac kad pas navrši 10 godina (EDWARDS i sur., 2003.). Spol pasa ne utječe na incidenciju limfoma, ali čini se da je incidencija značajno niža u nesteriliziranih kuja, što se pripisuje protektivnoj ulozi ženskih spolnih hormona koji smanjuju rizik od nastanka limfoma (VILLAMIL i sur., 2009.).

B-stanični limfomi u pasa su češći nego T-stanični limfomi, te čine oko 70 % limfoma u pasa (MODIANO i sur., 2005.; GARDNER i sur., 2016.). T-stanični limfomi čine oko 25 % limfoma, a ne-B-/ne-T-stanični limfomi čine oko 5 % limfoma u pasa (ZANDVLIET, 2016.).

Pasmine pasa u kojih je rizik od razvitka limfoma povećan su: engleski baset, bernski planinski pas, flandrijski stočarski pas, koker španijel, buldog, bulmastif, bokser, irski vučji hrt, doberman, škotski terijer, labrador retriever, zlatni retriever, njemački ovčar i bernardinac (ZANDVLIET, 2016.). U boksera je veći rizik od razvitka T-staničnog limfoma, a u njemačkog ovčara i rotvajlera veći rizik od razvoja B-staničnog limfoma (PASTOR i sur., 2009.).

### *2. 1. 2. Epidemiologija psećih limfoma u Republici Hrvatskoj*

Detaljne informacije o incidenciji psećih limfoma i pojedinih tipova psećih limfoma u Republici Hrvatskoj, koliko autor zna, za sada ne postoje. ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN i sur. (2013.) utvrdili su da je stopa incidencije za limfome pasa u Zagrebu i okolici 47.3 na 100 000 pasa na godinu (procjenjujući populaciju pasa u Zagrebu i okolici koristeći podatke iz Nacionalnog registra cijepljenih pasa), što se otprilike podudara s istraživanjima provedenim

u drugim zemljama. Psi u kojih je limfom najčešće dijagnosticiran u Republici Hrvatskoj bili su između 6 i 8 godina starosti, što se također podudara s ostalom literaturom (ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN i sur., 2013.).

## 2. 2. Etiologija psećih limfoma

Točan uzrok nastanka psećih limfoma još nije otkriven, ali smatra se kako izloženost različitim kancerogenim vanjskim čimbenicima doprinosi razvoju limfoma (ZANDVLIET, 2016.). Otkriveno je, naime, da psi koji žive u blizini spalionica otpada, na mjestima s visokim kemijskim zagađenjem i uz mjesta s radioaktivnim otpadom u Francuskoj imaju veću mogućnost razvitka limfoma (PASTOR i sur., 2009.). Ideju o vanjskim (geografskim) faktorima koji utječu na razvitak limfoma u pasa poduprlo je i otkriće da zlatni retriveri češće obolijevaju od B-staničnog limfoma u pojedinim regijama Sjedinjenih Američkih Država (SAD), a od limfoma T-zone u drugim regijama SAD-a (RUPLE i sur., 2017.). Isto tako, GINN i sur. (2014.) su otkrili da 18 % pasa s limfomom ima genetski uvjetovan poremećaj funkcije enzima glutation S-transferaze (GST), što dovodi do teže detoksifikacije vanjskih kancerogena i također doprinosi ovoj teoriji.

Iako u mnogih životinja i čovjeka postoje virusom uzrokovane leukemije i limfomi, u pasa virusna etiologija limfoma za sada još nije potvrđena (ZANDVLIET, 2016.). Iako je Epstein-Barrov virus odgovoran za razvitak više tipova limfoma u ljudi, a značajan dio populacije pasa je pozitivan na ovaj virus, nisu pronađeni dokazi koji bi potvrdili da je ovaj virus ili neki drugi gamaherpesvirus odgovoran za razvitak limfoma u pasa (WAUGH i sur., 2015.). Također, iako je u ljudi infekcija bakterijom *Helicobacter pylori*, između ostaloga povezana i s razvojem alimentarnog limfoma MALT-a (*mucosa-associated lymphoid tissue*, eng.), eksperimentalna infekcija biglova ovom bakterijom nije dovela do razvoja alimentarnog limfoma (ROSSI i sur., 1999.).

Teorija da limfomi u pasa nastaju uslijed supresije imunskog sustava za sada nije dokazana ni općeprihvaćena, iako je imunosupresija jedan od etioloških čimbenika nastanka limfoma u ljudi (ZANDVLIET, 2016.). Ipak, psi s atopijskim dermatitisom imaju 12 puta veću mogućnost razvitka mycosis fungoides, podvrste kutanog limfoma; za sada nije poznato je li to zbog imunodisregulacije uslijed samog atopijskog dermatitisa, ili zbog imunosupresivne terapije atopijskog dermatitisa (SANTORO i sur., 2007.).

### 2. 3. Molekularna biologija psećih limfoma

Genetske anomalije koje dovode do razvitka limfoma dobro su istražene i opisane u humanoj medicini, ali slabo u veterinarskoj (ZANDVLIET, 2016.). Genetska nestabilnost mnogo je izraženija u ljudskih limfoma nego u psećih, ali abnormalne varijacije broja kopija DNA na pojedinim regijama kromosoma 13 i 31 u psećih limfoma odgovaraju odstupanjima od fiziološkog u broju kopija DNA na kromosomima 8 i 21 u ljudskih limfoma (THOMAS i sur., 2011.). U neoplastičnim stanicama psećih limfoma redovito se pojavljuje adicija 13. kromosoma, ali ona nije specifična samo za limfome već se pojavljuje i u drugih neoplazija u pasa (THOMAS i sur., 2009.).

NF- $\kappa$ B (jezgrin čimbenik kappa B) put je signalni put koji je zaslužan za regulaciju imunskog i upalnog odgovora. To je kompleks proteina koji čine skupinu transkripcijskih čimbenika (GILMORE, 2006.); oni regulacijom transkripcije ciljnih gena odgovornih za stvaranje imunološkog odgovora imaju važnu ulogu u proliferaciji i preživljavanju normalnih B limfocita, ali i malignih B limfocita u ljudi (ŠKUNCA i PLANINC-PERAICA, 2015.). Smatra se da disregulacija ovog signalnog puta utječe na razvitak i progresiju psećih B-staničnih limfoma, uzrokujući nekontroliranu proliferaciju B limfocita; na tu tvrdnju upućuje opservacija da psi s B-staničnim limfomom imaju povećanu aktivnost NF- $\kappa$ B signalnog puta (AVERY, 2020.), odnosno opservacija da je u 44 % pasa s difuznim B staničnim limfomom velikih stanica pronađena inaktivirajuća mutacija TRAF3 (adapterski protein TNF receptora 3) gena, gena koji regulira TRAF3 protein (koji je, između ostalog, odgovoran za inhibiciju NF- $\kappa$ B nekanonskog signalnog puta), čime dolazi do smanjene ekspresije TRAF3 gena i povećane aktivnosti NF- $\kappa$ B nekanonskog signalnog puta (GARDNER i sur., 2016.).

MYC gen je onkogen odgovoran za kodiranje transkripcijskih čimbenika i, kao takav, odgovoran je za ekspresiju brojnih drugih gena, te je često neprestano eksprimiran u tumorima ljudi i brojnih životinja, a njegova inhibicija uzrokuje regresiju tumora (MADDEN i sur., 2021.). MYC gen je neprestano eksprimiran u psećih difuznih B-staničnih limfoma velikih stanica (AVERY, 2020.), vjerojatno zato što se nalazi na 13. kromosomu, čija je trisomija česta u ovih tumora (ZANDVLIET, 2016; AVERY, 2020.). Povećana ekspresija MYC gena praćena je često u psećeg difuznog B-staničnog limfoma velikih stanica i s povećanom ekspresijom Bcl-2 onkogenom (CURRAN i sur., 2017.).

Bcl-2 (B-stanični limfom 2) je protein iz Bcl-2 grupe proteina kodiranih Bcl-2 genom, a zadužen je za regulaciju apoptoze (ZANDVLIET, 2016.). Bcl-2 antiapoptotički gen nije, kao

u ljudi, uvijek pojačano eksprimiran u psećih B-staničnih limfoma (ZANDVLIET, 2016.), ali u većini psećih difuznih B-staničnih limfoma velikih stanica jest (AVERY, 2020.).

Bcl-6 (B-stanični limfom 6) onkogen kodira Bcl-6 transkripcijski čimbenik koji je odgovoran za sprječavanje diferencijacije limfocita u memorijske B-stanice i plazma stanice koja se događa nakon što B limfociti napuste germinalni centar limfnog čvora; drugim riječima, on je odgovoran za zadržavanje B limfocita u germinalnom centru, a njegova je ekspresija smanjena u B limfocita koji su iz germinalnog centra izašli (AVERY, 2020.). Iako je ekspresija Bcl-6 gena povećana u stanicama difuznog B-staničnog limfoma velikih stanica u ljudi, to nije primijećeno i u pasa (ZANDVLIET, 2016.).

IGHV (gen varijabilne regije teškog imunoglobulinskog lanca) je gen koji kodira regiju teškog imunoglobulinskog lanca i mijenja se uslijed somatske hipermutacije, koja uslijedi kad B limfociti u fazi centroblasta uđu u germinalni centar limfnog čvora kako bi ondje proliferirali (JAFFE i sur., 2016.). Promatrajući, dakle, koliko su geni što kodiraju varijabilnu regiju teškog imunoglobulinskog lanca u B limfocitima različiti od gena zametne linije, može se zaključiti jesu li B limfociti prošli proces somatske hipermutacije u germinalnom centru ili nisu (CHEN i sur., 2014.). Ovo se saznanje koristi i prilikom određivanja subtipova B limfoma, kada se pokušava otkriti u kojoj fazi razvitka B limfocita je došlo do njegove maligne transformacije i razvitka limfoma (AVERY, 2020.). U humanoj onkologiji, smatra se da su B limfociti prošli somatsku hipermutaciju ukoliko se IGHV u malignim stanicama B-staničnog limfoma podudara manje od 98 % sa zametnom linijom; isti je kriterij prenesen i na veterinarsku onkologiju (AVERY, 2020.). CHEN i sur. (2014.) su uspoređivali IGHV iz stanica B staničnih limfoma pasa s istim genima zametne linije boksera (jer je samo u boksera genom sekvencioniran) i ustanovili da su im sekvence pokazivale manje od 98 % sličnosti. Iako se čini da bi većina psećih difuznih B-staničnih limfoma mogla, zbog toga, biti podrijetlom od B limfocita iz germinalnog centra ili od B limfocita koji su izašli iz germinalnog centra, pomanjkanje podataka o mogućim raznovrsnim genotipovima u pasa onemogućuje za sada potvrđivanje te tvrdnje (AVERY, 2020.).

U psećeg perifernog T-staničnog limfoma bez drugih osobina, koji je uz limfom T zone najčešći pseći nodalni limfom T-limfocita, često se uočava gubitak slijedećih kromosoma: 11, 17, 22, 28 i 38; također, uočava se, kao što je to slučaj i u psećih B-staničnih limfoma i adicija kromosoma 13 i 31 (AVERY, 2020.).



Iako se u ljudi periferni T-stanični limfom može podijeliti na dva različita subtipa, promatrajući ekspresiju GATA3 i TBX21 transkripcijskih čimbenika, gdje GATA3 transkripcijski čimbenik svojom ekspresijom promiče diferencijaciju T limfocita u Th2 pomoćničke limfocite, a TBX21 u Th1 pomoćničke limfocite (između brojnih drugih funkcija koje ti transkripcijski čimbenici imaju) (HEAVICAN i sur., 2019.), u slučaju psećih perifernih T-staničnih limfoma bez drugih osobina za sad ne postoji dovoljno podataka o genetskoj ekspresiji ovih transkripcijskih čimbenika u pasa da bi se moglo utvrditi može li se ovakva tipizacija preslikati iz humane medicine ili ne (AVERY, 2020.).

## 2. 4. Anatomska klasifikacija psećih limfoma

S kliničkog aspekta, ne zalazeći u patohistološki izgled tumora, morfologiju malignih stanica ili njihove imunohistokemijske biljege, limfomi u pasa najprije će se klasificirati po svojoj anatomskej distribuciji, odnosno prema organima i organskim sustavima koje zahvaćaju (MORRIS i DOBSON, 2001.). Veterinaru kliničaru upravo će ova klasifikacija biti prva pri ruci ukoliko u svojoj svakodnevnoj praksi posumnja na pseći limfom tijekom općeg ili proširenog kliničkog pregleda. Tako se, prema anatomskej klasifikaciji, pseći limfomi dijele na: multicentrični, medijastinalni, alimentarni, kutani, ekstranodalni, hepatički, okularni, pulmonalni, neuralni, renalni, retrofaringealni limfom, te na atipične oblike (ZANDVLIET, 2016.), a to su oni limfomi koji primarno zahvate tkiva koja nisu tipična kao mjesta izbijanja limfoma u pasa te je prevalencija takvih limfoma preniska da bi oni bili svrstani u zasebne kategorije. Prema VAIL i YOUNG (2007.) anatomska klasifikacija obuhvaća multicentrični limfom, medijastinalni (ili timični), alimentarni, ekstranodalni (koji obuhvaća primarno zahvaćena tkiva izvan limfatičkog sustava) i kutani limfom (Tablica 1). Svaka od navedenih kategorija anatomske klasifikacije ima svoje daljnje podjele i određene značajke koje će biti ukratko opisane u sljedećim potpoglavljima ovoga potpoglavlja.

**Tablica 1.** Anatomska klasifikacija limfoma u pasa (VAIL i YOUNG, 2007.).

| Anatomska forma            | Karakteristike  |
|----------------------------|---|
| Multicentrični             | Bilateralna i / ili periferna limfadenopatija; moguće metastaze u jetru, slezenu, tonzile i koštanu srž |
| Medijastinalni ili timični | Abnormalni medijastinalni limfni čvorovi; moguće metastaze u koštanu srž                                |

|               |   |
|---------------|---|
| Alimentarni   | Zahvaćenost GALT-a (limfno tkivo pridruženo probavnom traktu) |
| Ekstranodalni | Primarno zahvaćeno tkivo ne pripada limfnom sustavu           |
| Kutani        | Multifokalna ili generalizirana zahvaćenost kože              |

#### 2. 4. 1. Multicentrični limfom

Multicentrični limfom je najčešći limfom u pasa i obuhvaća približno 75 % psećih limfoma (PONCE i sur., 2010.; ZANDVLIET, 2016.). Uglavnom se klinički manifestira s generaliziranom i bezbolnom limfadenopatijom te sekundarnom zahvaćenošću jetre i slezene (koje se najčešće manifestiraju klinički kao hepatomegalija i splenomegalija) ili koštane srži i krvi (ZANDVLIET, 2016.). Psi relativno rijetko pokazuju druge kliničke znakove, ali mogu pokazivati znakove letargije, mršavljenja, anoreksije i vrućice (ZANDVLIET, 2016.), a u približno 20 % slučajeva javlja se hiperkalcemija sa svojim kliničkim znakovima (poliurija, polidipsija, anoreksija, povraćanje, opstipacija, slabost skeletnog mišićja i srčane aritmije) (MORRIS i DOBSON, 2001.). U manjem broju slučajeva, mogu se pojaviti i drugi znakovi poput učestalih infekcija, neuroloških simptoma, okularnih lezija te krvarenja i tromboembolija koje su povezane s monoklonalnom gamapatijom (MORRIS i DOBSON, 2001.). Prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), pseći multicentrični limfom rangiran je u pet kliničkih stadija i dva podstadija, koji označavaju prisutnost ili izostanak sistemskih znakova (OWEN, 1980.) (Tablica 2).

**Tablica 2.** Klinički stadiji za multicentrični limfom u pasa Svjetske zdravstvene organizacije (OWEN, 1980.).

| <b>Stadij</b>    |  |
|------------------|--|
| I                | Zahvaćenost jednog limfnog čvora ili limfnog tkiva jednog organa (ne računajući koštanu srž) |
| II               | Zahvaćenost više od jednog regionalnog limfnog čvora ( $\pm$ tonzile)                        |
| III              | Generalizirana zahvaćenost limfnih čvorova   |
| IV               | Stadij I do III sa zahvaćenom jetrom ili slezenom  |
| V                | Stadij I do IV sa zahvaćenom krvlju ili koštanom srži  |
| <b>Podstadij</b> |  |
| a                | Izostanak sistemskih znakova   |

|   |   |
|---|---|
| b | Prisutnost sistemskih znakova (vrućica, gubitak tjelesne mase > 10 %, hiperkalcemija) |
|---|---|

Zahvaćenost živčanog sustava i oka također može biti prisutna kod multicentričnog limfoma, iako se u ovim organima limfom može naći i primarno (MORRIS i DOBSON, 2001.).

#### 2. 4. 2. Medijastinalni limfom

Medijastinalni limfom i limfom timusa pojavljuju se češće kod mlađih pasa (DAY, 1997.). Ovaj tip limfoma u pasa često prati hiperkalcemija, a stanice iz kojih se tumor razvija su uglavnom T-limfociti (MORRIS i DOBSON, 2001.). Medijastinalni limfomi u pasa obično se klinički manifestiraju kašljem, dispneom, sindromom kranijalne šuplje vene, pleuralnim efuzijama ili preganglijskim Hornerovim sindromom (ZANDVLIET, 2016.), a također se medijastinalni limfom može naći kao slučajni nalaz (u vidu povećanja timusa, nalaza mase u medijastinumu ili adenopatije u medijastinumu) prilikom rendgenske, ultrazvučne ili CT dijagnostike (MORRIS i DOBSON, 2001.).

#### 2. 4. 3. Alimentarni limfom

Limfomi gastrointestinalnog trakta u pasa čine između 5 % i 8 % svih psećih limfoma i predstavljaju najčešći oblik nakon multicentričnog limfoma (COUTO i sur., 1989.). Ne postoji dobna, spolna ili pasminska predispozicija za pseći alimentarni (gastrointestinalni) limfom (ZANDVLIET, 2016.). Međutim, ova je bolest najčešće ipak prijavljivana u boksera i shar peia (COYLE i STEINBERG, 2004.). Pseći alimentarni limfom može se pojaviti kao solitarna lezija ili kao multifokalna ili difuzna infiltracija gastrointestinalnog trakta pasa uz ili bez prateće limfadenopatije mezenterijalnih limfnih čvorova (MORRIS i DOBSON, 2001.). Kod infiltracije crijevnog trakta ovim tumorom, stjenka zahvaćenog crijeva zadebljava, a lumen crijeva se smanjuje (OZAKI i sur., 2006.). Bolest se klinički u pasa očituje problemima s probavnim sustavom kao što su abdominalna bol, povraćanje, tenezam, opstipacija, proljev, inapetencija i anoreksija (MORRIS i DOBSON, 2001.). Sekundarne komplikacije mogu biti prekid peristaltike zbog pritiska tumora na crijevo, te smanjena pasaža himusa zbog smanjenja lumena te posljedična konstipacija ili opstipacija, ishemijska nekroza crijeva zbog prekida krvotoka, ruptura crijeva i peritonitis te gastrični ulkusi (COUTO i sur., 1989.). Za primarni pseći alimentarni limfom nekad se vjerovalo da je prevalentno B-staničnog imunofenotipa (zbog usporedbe s limfomima gastrointestinalnog trakta u ljudi), ali su COYLE i STEINBERG

(2004.) dokazali retrospektivnim istraživanjem da su primarni alimentarni limfomi u pasa uglavnom T-staničnog podrijetla. Pouzdana dijagnoza ovog limfoma dobiva se patohistološkom analizom biopsije crijeva iako se ultrazvučna dijagnostika može koristiti kao orijentacijska metoda (ZANDVLIET, 2016.). Najčešći paraneoplastični sindrom kod primarnog T-staničnog alimentarnog limfoma u pasa je sistemska eozinofilija u perifernoj krvi (MARCHETTI i sur., 2005.) i infiltracija stjenke zahvaćenog crijeva eozinofilima (OZAKI i sur., 2006.).

#### *2. 4. 4. Kutani limfom*

Kutani limfom može biti primarni (koji započinje u koži) ili sekundarni (koji se proširio iz nekog drugog mjesta). Primarni kutani limfom podijeljen je na dvije distinktno forme (podtipa), od kojih su obje T-staničnog podrijetla, a to su: primarni kutani T-stanični limfom i epiteliotropni T-stanični limfom (MORRIS i DOBSON, 2001.). Od ove dvije forme, epiteliotropni T-stanični limfom je nešto češći (ZANDVLIET, 2016.). Pseći kutani epiteliotropni T-stanični limfom zahvaća uglavnom starije pse, ne pokazuje pasminsku ili spolnu predispoziciju i niske je prevalencije, čineći svega oko 1 % kožnih tumora u pasa. Pseći kutani epiteliotropni T-stanični limfom dijeli se na tri podforme, a to su: mycosis fungoides, pagetoidna retikuloza i Sézaryjev sindrom. Mycosis fungoides klinički se očituje ekfolijativnim dermatitisom, a od pagetoidne retikuloze razlikuje se samo na patohistološkoj osnovi: u slučaju mycosis fungoides neoplastični limfociti zahvaćaju epidermis i dermis, a u slučaju pagetoidne retikuloze, neoplastični su limfociti prisutni samo u epidermisu i adneksalnim strukturama. Sézaryjev sindrom je u pasa izrazito rijedak, a zapravo predstavlja progresivan oblik mycosis fungoides u kojem se neoplastični limfociti (Sézaryjeve stanice) mogu naći u perifernoj krvi (ROOK, 2018.).

#### *2. 4. 5. Ekstranodalni limfom*

Pojam ekstranodalni limfom prema različitim autorima obuhvaća ponešto različite podvrste limfoma. Prema MORRIS i DOBSON (2001.) označava sve one limfome koji nisu obuhvaćeni ostalim anatomskim klasifikacijama, a prema ZANDVLIET (2016.) obuhvaća sve vrste limfoma osim multicentričnog, odnosno limfome koji primarno započinju izvan limfnih čvorova. U užem smislu, međutim, prema KASHYAP i sur. (2011.), ekstranodalni limfom je svaki limfom koji primarno ne nastaje iz limfnih čvorova, slezene, timusa ili Waldeyereva prstena. Bilo kako bilo, prema kliničkoj (anatomskoj) podjeli, koja se opisuje u ovom poglavlju ovog rada, a primarno se bazira na podjeli kako je opisuju MORRIS i DOBSON (2001.),

ekstranodalni limfom u pasa uključuje slijedeće podvrste: hepatički limfom, okularni limfom, pulmonalni limfom, neuralni limfom i renalni limfom.

#### *2. 4. 5. 1. Hepatički limfom*

Primarni hepatički limfom u pasa je relativno rijedak u odnosu na druge podvrste limfoma (ZANDVLIET, 2016.). Opisana su dva tipa primarnih T-staničnih hepatičkih limfoma u pasa, a to su hepatocitotropni T-stanični limfom i hepatosplenični T-stanični limfom. Prognoza je u oba ova slučaja loša (KELLER i sur., 2013.).

#### *2. 4. 5. 2. Okularni limfom*

Primarni okularni limfomi u pasa su relativno rijetki i obuhvaćaju svega oko 0, 5 % ukupnih psećih limfoma, a mogu zahvatiti očnu jabučicu ili periokularna tkiva poput konjunktiva očne jabučice, te ekstraokularne strukture kao što su konjunktive vjeđa (ZANDVLIET, 2016.). Primarni intraokularni limfomi, koji su se pojavili primarno u očnoj jabučici i nisu praćeni drugim kliničkim znakovima u doba enukleacije oka zovu se pretpostavljenim solitarnim intraokularnim limfomima; psi s takvim limfomima imaju dugo vrijeme preživljavanja poslije enukleacije oka (LANZA i sur., 2018.). Dva najčešća podtipa primarnih intraokularnih limfoma su (prema sistematici SZO-a) periferni T-stanični limfom i difuzni B-stanični limfom velikih stanica (LANZA i sur., 2018.). Prognoza kod limfoma konjunktiva je bolja od prognoze intraokularnog limfoma, budući da prema WIGGANS i sur. (2014.), većina intraokularnih limfoma progresira do središnjeg živčanog sustava. Okularni limfom se međutim ne smije zamijeniti s okularnim simptomima koji se pojavljuju u slučaju multicentričnog limfoma, kao što je sekundarni uveitis (MORRIS i DOBSON, 2001.; ZANDVLIET, 2016.).

#### *2. 4. 5. 3. Pulmonalni limfom*

Pluća su organ često zahvaćen u slučaju psećeg limfoma, bilo kao primarno mjesto izbijanja limfoma, ili sekundarno zahvaćen organ. Klinički znakovi povezani s respiratornim sustavom, međutim, rijetko se pojavljuju uz psećih limfom, osim u slučaju da je došlo do pleuralne efuzije (kao, recimo, komplikacija medijastinalnog limfoma) (ZANDVLIET, 2016.). Rendgenski nalazi u slučaju pulmonalnog limfoma uključuju: pleuralnu efuziju i limfadenopatiju, alveolarne i intersticijske limfoidne infiltrate, nodule i mase u plućima, te bronhalne infiltrate (GEYER i sur., 2010.). Međutim, zahvaćenost pluća prema ZANDVLIET

(2016.) nema veliki značaj u procjeni prognoze psećeg limfoma, pa se rendgensko slikanje pluća ne preporuča u rutinskoj dijagnostici i određivanju kliničkog stadija psećih limfoma.

#### 2. 4. 5. 4. *Neuralni limfom*

Limfomi živčanog sustava u pasa su rijetki, a mogu se pojaviti kao limfomi središnjeg živčanog sustava i limfomi perifernog živčanog sustava (ZANDVLIET, 2016.). Živčani sustav može biti zahvaćen primarno ili zahvaćenost živčanog sustava može slijediti sekundarno uz multicentrični limfom. Neuralni limfom može biti difuzno distribuiran ili se može pojaviti kao solitarna lezija (MORRIS i DOBSON, 2001.). Limfomi središnjeg živčanog sustava (SŽS) u pasa vrlo su rijetki, a njihova se dijagnostika do sada uglavnom obavljala postmortalno, zbog pomanjkanja dijagnostičkih metoda kojima bi se ovaj tumor pouzdano dijagnosticirao za života, a tek se u novije vrijeme počela primjenjivati citološka pretraga cerebrospinalne tekućine i omogućila uspješniju dijagnostiku limfoma SŽS-a *ante mortem* (LARUE i sur., 2018.). Klinički znakovi neuralnog limfoma su uglavnom nespecifični, a ovisе ponajviše o veličini lezije, distribuciji i lokalizaciji u živčanom sustavu (MORRIS i DOBSON, 2001.).

#### 2. 4. 5. 5. *Renalni limfom*

Primarni renalni limfomi, iako dosta česti u mačaka, u pasa su prilično rijetki i prijavljuju se i opisuju u veterinarskoj praksi sporadično (APOSTOLOPOULOU i sur., 2021.), pa bi ih se kod pasa trebalo svrstavati u atipične oblike psećih limfoma (ZANDVLIET, 2016.). Prava prevalencija primarnih renalnih psećih limfoma je nepoznata. Klinička slika u tih limfoma često uključuje letargiju, povraćanje, poliuriju, polidipsiju, renomegaliju i abdominalnu bol pri palpaciji, a rijetko (u oko 14 % slučajeva) se pojavljuju i neurološki simptomi zbog uključenosti središnjeg živčanog sustava. Primarni renalni limfom u pasa, iako kratkotrajno reagira na kemoterapiju, povezan je s lošom prognozom i kratkim vremenom preživljavanja (TAYLOR i sur., 2019.).

#### 2. 4. 6. *Atipični oblici limfoma*

Kako pseći limfom može zahvatiti bilo koje tkivo ili organ (koje je dostupno neoplastičnim limfocitima ili njihovim prekursorskim stanicama), postoji veliki broj atipičnih psećih limfoma koji su kroz godine opisani u veterinarskoj struci. Tako ZANDVLIET (2016.) nabraja: limfom usne šupljine, limfom nosa, periapikalni limfom (kod vrha zubnog korijena unutar zubne alveole), limfom kralješka, limfom stražnjeg nosnog otvora, limfom kosti, limfom sinovijalne membrane, limfom nuzbubrežne žlijezde, limfom mokraćnog mjehura,

limfom prostate, srčani limfom, te limfom osrčja. Prevalencija ovih atipičnih oblika limfoma u pasa je niska (MORRIS i DOBSON, 2001.).

## **2. 5. Dijagnostika limfoma**

Jedini ispravni način da se bilo koja neoplazija u veterinarskoj medicini dijagnosticira kao neoplazija je patohistološkom pretragom tkiva za koje se sumnja da je neoplastično ili citološkom pretragom stanica sumnjivog tkiva. Nakon toga, tumor se može detaljnije klasificirati, ukoliko je to potrebno, dodatnim metodama dijagnostike kao što su molekularne metode i imunohistokemijska metoda. Međutim, iskusni veterinari kliničari mogu postaviti opravdanu sumnju da se radi o neoplaziji i o kojoj se neoplaziji radi, te o kojem se kliničkom stadiju bolesti radi, na temelju kliničke slike i dodatnih kliničkih metoda dijagnostike koje mogu biti pri ruci u veterinarskoj klinici kao što su ultrazvučna i rendgenološka dijagnostika ili klinička fiziologija. Tako, prilikom dijagnosticiranja psećih limfoma, različitim dijagnostičkim metodama služe se i veterinari u klinikama i veterinarski patolozi kako bi odredili malignost, proširenost, klinički stadij, imunofenotip i podvrstu bolesti u pitanju (MORRIS i DOBSON, 2001.). U ovom potpoglavlju ukratko će biti opisane razne metode koje pomažu u dijagnostici i klasifikaciji psećih limfoma.

### *2. 5. 1. Klinička fiziologija*

Pregledom krvi i urina pasa za koje se sumnja da boluju od limfoma može se dobiti uvid u razne parametre koji upućuju na kliničko stanje pacijenta, ali, u određenoj mjeri, pregled krvi i urina može pridonijeti i lakšem usmjeravanju dijagnostičara na neke od podvrsta limfoma. Parametri utvrđeni iz krvi i urina mogu se usporediti s kasnijim parametrima kako bi se utvrdio napredak bolesti ili uspješnost terapije, a u slučaju hematoloških parametara i eventualnu razinu mijelotoksičnosti kemoterapije (MORRIS i DOBSON, 2001.). Međutim, promijene u biokemijskim i hematološkim parametrima u pasa s limfomima, iako su često prisutne, u većini slučajeva su nespecifične (ZANDVLIET, 2016.; GAVAZZA i sur., 2008.), a također mogu i izostati (MORRIS i DOBSON, 2001.). Tako se može javiti neregenerativna anemija u slučaju da je limfom zahvatio koštanu srž, a u rijetkim slučajevima i regenerativna anemija zbog gubitka krvi uslijed krvarenja u probavnom traktu kod alimentarnog limfoma ili zbog raspada eritrocita uslijed imunosno posredovane hemolitičke anemije (ZANDVLIET, 2016.). Broj leukocita u krvi u većini slučajeva je u pasa s limfomom fiziološki, ali opisani su slučajevi i leukocitoze i leukopenije, gdje je leukocitoza češće posljedica povećanog broja neutrofila zbog upalne reakcije na tumor, a rjeđe posljedica zahvaćenosti koštane srži neoplastičnim procesom

(GAVAZZA i sur., 2008.; TASCA i sur., 2009.). U krvi se također mogu uočiti patološki oblici eritrocita kao što su akantociti, šistociti i ekcentrociti (ZANDVLIET, 2016.). Blaga trombocitopenija je uobičajeni nalaz u krvi pasa s limfomom, posebice u zlatnih retrievera (GRINDEM i sur., 1994.), a rijetko, ali ipak ne i zanemarivo, moguć je i nalaz trombocitopenije (NEEL i sur., 2012.).

Promijene u biokemijskim krvnim parametrima koje se mogu uočiti kod pasa s limfomom uključuju povišenje u jetrenim enzimima kao što su ALT (alanin transaminaza) i ALP (alkalna fosfataza) (ZANDVLIET, 2016.). Jetreni enzimi mogu biti povišeni zbog zahvaćenosti jetre limfomom ili zbog oštećenja jetre kao odgovora na stres uzrokovan neoplazijom drugdje u organizmu (TWEDT, 1998.). Serumski proteini mogu biti sniženi zbog oštećenja bubrega (i time povišeni u urinu) ili zbog malapsorpcije ili gubitka krvi u crijevima kod alimentarnog limfoma, ali mogu biti i povišeni zbog monoklonske gamopatije (ZANDVLIET, 2016.), pa u slučaju povišenih vrijednosti serumskih proteina MORRIS i DOBSON (2001.) preporučaju napraviti elektroforezu serumskih proteina kako bi se to potvrdilo ili opovrgnulo. Bubrežni parametri mogu biti abnormalni u slučaju limfoma, ali su također nespecifični. Tako je razina kreatinina povećana u serumu u slučaju primarnog renalnog limfoma (TAYLOR i sur., 2019.), a DI BELLA i sur., (2013.) opisuju kako se u slučaju multicentričnog limfoma u pasa javlja blaga do srednja proteinurija sa slabim kliničkim i umjerenim dijagnostičkim značenjem. Hipoglikemija je također opisana u slučaju primarnog renalnog limfoma u psa (ZHAO i sur., 1993.).

### *2. 5. 2. Citološka, histološka, imunocitokemijska i imunohistokemijska dijagnostika*

Citološka, histološka i imunohistokemijska dijagnostika limfoma provedena na dostavljenim uzorcima citoloških aspirata promijenjenih limfnih čvorova ili sumnjivih promijenjenih tkiva, te histoloških incizijskih ili ekscizijskih biopsata, usprkos sve veće zastupljenosti molekularnih metoda dijagnostike, ostaje zlatni standard za dijagnostiku limfoma i dan danas.

Citološka pretraga aspirata tankom iglom (FNA) je praktična i prilično osjetljiva metoda za dijagnosticiranje limfoma visokog stupnja (SÖZMEN i sur., 2005.), te je kao takva često korištena, a veterinari kliničari ovakve uzorke redovito šalju na pretrage. Međutim, za pouzdano dijagnosticiranje limfoma niskog stupnja, kao i za dijagnosticiranje atipičnih oblika limfoidnih neoplazija, ova metoda nije zadovoljavajuća, već je potrebna patohistološka



dijagnostika biopsata (ZANDVLIET, 2016.). Za potrebu daljnje subtipizacije limfoma te za određivanje radi li se o T-staničnom, B-staničnom ili drugoj vrsti limfoma, potrebna je provedba imunofenotipizacije imunocitokemijskom ili imunohistokemijskom pretragom (FISCHER i sur., 1995.). U posljednjih petnaestak godina imunofenotipizacija psećih limfoma se sve češće i sa sve većim uspjehom provodi i u sklopu protočne citometrije (GELAIN i sur., 2008.).

Histološki, limfome se karakterizira prema morfološkim karakteristikama koje uključuju obrazac rasta tumora, veličinu i oblik neoplastičnih stanica i njihovih jezgara, brzinu proliferacije neoplastičnih stanica (mitotski indeks) i imunofenotip (ZANDVLIET, 2016.).

### *2. 5. 3. Najčešća protutijela za imunofenotipizaciju psećih limfoma i klasteri diferencijacije (CD)*

Za određivanje imunofenotipa neoplastičnih stanica u veterinarskoj medicini koristi se svakim danom sve veći broj protutijela, a najčešće korištena protutijela za imunofenotipizaciju leukocitnih neoplazija u pasa su ona za površinske molekule stanica organizirane u klasterne diferencijacije (WILKERSON i sur., 2005.). Za imunofenotipizaciju psećih limfoma najčešće su korištena protutijela za slijedeće antigene: CD79 $\alpha$  ili CD20 (za dokaz B limfocita) i CD3 za dokaz T limfocita, ali uz protutijela na te antigene, često je potrebno dodati i druga kako bi se došlo do pouzdanije dijagnoze (GUIJA DE ARESPOCHAGA i sur., 2007.). Tako se, uz prethodno navedena protutijela, koriste i protutijela za slijedeće antigene: CD20, CD21 i PAX5 za dokaz B-stanica, te CD4 i CD8 za dokaz T-stanica (CANIATTI i sur., 1996.).

CD79 $\alpha$  i CD20 su proteini koji se nalaze na površini B limfocita tijekom svih njihovih faza razvoja, CD21 je marker za zrele B limfocite i za folikularne dendritičke stanice, a PAX5 je transkripcijski čimbenik eksprimiran tijekom svih faza sazrijevanja B limfocita. CD3 je kompleks proteina i imunohistokemijski biljeg za sve T limfocite, CD4 je biljeg za regulacijske i pomoćničke T-stanice, a CD8 za citotoksične T-stanice (DAY i SCHULTZ, 2014.).

### *2. 5. 4. Patohistološka klasifikacija limfoma*

Postoje različiti sustavi prema kojima se u veterinarskoj medicini limfomi u pasa klasificiraju i koji su se razvijali s vremenom, pa ih tako TESKE i sur. (1994a.) nabrajaju četiri, a ZANDVLIET (2016.) ih nabraja sedam.

#### 2. 5. 4. 1. *Različiti sustavi patohistološke klasifikacije psećih limfoma*

Sustavi klasifikacije psećih limfoma u veterinarskoj medicini su: Rappaport sustav, Lukes-Collinsonov sustav, Kiel sustav, nadograđeni Kiel sustav (TESKE i sur., 1994a., ZANDVLIET, 2016.), te Radna formulacija, REAL (*Revised European American Lymphomas Classification*) sustav i sustav klasifikacije prema SZO (ZANDVLIET, 2016.). Svaki od tih sustava ima određene prednosti i određene nedostatke. Izazov se pojavljuje u tome što, čak i paralelnim promatranjem i češće korištenih sustava klasifikacije, poput Kiel sustava, radne formulacije i sustava prema SZO, ZANDVLIET (2016.) prema VALLI i sur. (2013.) i VEZALLI i sur. (2010.) prepoznaje preko 50 različitih tipova limfoma. Ipak, prema SAYAG i sur. (2017.), najpraktičniji i najprihvatljiviji sustavi klasifikacije s obzirom na procjenu kliničkog značaja limfoma u psa su nadograđeni Kiel sustav i sustav prema SZO. VALLI i sur. (2013.) su primijetili da se primjenom SZO sustava većina psećih limfoma može svrstati u pet najčešćih kategorija i benignu limfoidnu hiperplaziju.

#### 2. 5. 4. 2. *Klasifikacija najznačajnijih tipova limfoma u pasa prema SZO sustavu i nadograđenom KIEL sustavu*

Prema SZO sustavu limfomi pasa se dijele na sljedeće:

1) B ili T-stanični: akutna limfoblastična leukemija, limfoblastični limfom, kronična limfocitna leukemija, limfocitni limfom malih stanica;

2) B-stanični: B limfocitni limfom prijelaznog tipa, limfoplazmacitni limfom, limfom stanica plašta, limfom stanica folikularnog centra (1., 2. i 3. stupnja), limfom marginalne zone (nodalni, splenični i MALT limfom), plazmacitni tumori, difuzni B-stanični limfom velikih stanica (sa zarezanom ili s nezarezanom jezgrom), imunoblastični limfom velikih stanica, T-stanicama bogati B-stanični limfom, timusni B-stanični limfom velikih stanica, limfom malih nezarezanih stanica;

3) T-stanični limfomi: limfom ili leukemija velikih granuliranih limfocita, kronična limfocitna leukemija NK-stanica, kutani epiteliotropni limfom, kutani neepiteliotropni limfom, angiocentrični limfom, te angioimunoblastični limfom (VALLI i sur., 2011.).

Pet najčešćih tipova limfoma u pasa prema sustavu SZO je: 1) difuzni B-stanični limfom velikih stanica, 2) limfom marginalne zone (također B-staničnog imunofenotipa), 3) periferni T-stanični limfom bez drugih osobina, 4) limfom T zone i 5) T-stanični limfoblastični limfom. Difuzni B-stanični limfom velikih stanica čini otprilike 54 % psećih limfoma, limfom

marginalne zone 4 %, periferni T-stanični limfom bez drugih osobina čini 16 % psećih limfoma, limfom T zone čini otprilike 14 %, a T-stanični limfoblastični limfom čini otprilike 5 % limfoma u pasa (VALLI i sur., 2011.). Prema nadograđenom Kiel sustavu, difuzni B-stanični limfom velikih stanica može biti centroblastični, imunoblastični ili polimorfni stanica; limfom marginalne zone ima stanice srednje veličine s velikim jezgrama; periferni T-stanični limfom bez drugih osobina ima pleomorfnu mješovitu staničnu populaciju; limfom T zone ima male stanice kromofobne citoplazme; T-stanični limfoblastični limfom prema Kiel sustavu sačinjen je od limfoblasta (ZANDVLIET, 2016.).

#### *2. 5. 4. 3. Značajke pet najčešćih tipova limfoma u pasa*

Difuzni B-stanični limfom velikih stanica citološki se manifestira velikim stanicama s malo citoplazme, s velikim okruglim, bubrežastim ili zarezanim jezgrama i često vidljivim mitozama. Ove stanice mogu biti centroblasti ili imunoblasti, ovisno o podtipu ovoga limfoma. Histološki, ovaj limfom se manifestira difuznom distribucijom limfocita, nestajanjem germinalnih centara u limfnim čvorovima i normalne strukture limfnih čvorića, te stanjivanjem stijenke limfnog čvora (VALLI i sur., 2011.).

Limfom marginalne zone citološki se manifestira tzv. srednje velikim makronuklearnim stanicama (MMC), a to su stanice koje imaju u svojim jezgrama srednje veličine po jednu veliku jezgricu, te imaju svijetlu citoplazmu. Histološki, ovaj tip limfoma manifestira se nakupinama neoplastičnih B limfocita marginalne zone koji okružuju marginalnu zonu koja na taj način gubi svoju formu. Broj mitozata je mali i neoplastične stanice su indolentne (VALLI i sur., 2011.).

Periferni T-stanični limfom bez drugih osobina čine velike stanice ili stanice različitih veličina i različitih oblika s blijedom citoplazmom, zarezanim ili ovalnim jezgrama s različitim brojem jezgrica i s različitim brojem mitozata koje su difuzno distribuirane, šire se kroz parakorteks limfnih čvorova i u perinodalna tkiva, stanjujući stjenku limfnog čvora (VALLI i sur., 2011.).

Limfom T zone čini uniformna populacija malih stanica kromofobne citoplazme s okruglim jezgrama koje mogu biti plitko udubljene. Neoplastične stanice se u limfnim čvorovima šire u parakorteks i medularne tračke (VALLI i sur., 2011.).

T-stanični limfoblastični limfom čini uniformna populacija srednje velikih stanica u čijim okruglim do ovalnim jezgrama je kromatin jednoliko rasprostranjen i jezgrice se ne vide.

Ove neoplastične stanice mogu biti fokalno rasprostranjene u tkivima oko limfnih čvorova ili difuzno rasprostranjene unutar korteksa i medule limfnih čvorova (VALLI i sur., 2011.).

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Primarni cilj ovog istraživanja bio je napraviti svojevrsan pregled dostupnih podataka o limfomima pasa dijagnosticiranim na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu između 2009. i 2021. godine. Dijagnoze potvrđenih limfocitnih neoplazija i suspektnih limfoma u pasa postavljene su provođenjem različitih pretraga na uzorcima koji su potom pohranjeni u arhivu Zavoda. Saznanja o postavljenim dijagnozama limfoma, kao i o arhiviranim uzorcima mogla bi se koristiti u kasnijim retrospektivnim istraživanjima o limfomima pasa u Republici Hrvatskoj.

Sekundarni cilj ovog istraživanja bio je utvrditi pojavnost limfoma u pasa s obzirom na dob, spol i pasminu, kao i utvrditi pojavnost limfoma u različitim pasmina pasa u odnosu na zastupljenost tih pasmina u Republici Hrvatskoj.

## 4. MATERIJALI I METODE

### 4. 1. Prikupljeni podatci

U ovom istraživanju prikupljeni su podatci o svim limfomima u pasa dijagnosticiranim na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu između 2009. godine i 2021. godine. Dijagnoze limfoma i suspektnog limfoma u pasa pronađene su pretragom Issa Vams Tec sustava. Pretraga se prvo napravila za sve dijagnosticirane limfome i postavljene sumnje na limfome na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta u svih životinjskih vrsta, a onda su se iz tih podataka izvukli podatci o psima, budući da je *pas* kao životinjska vrsta navedena u Issa Vams Tec sustavu u obliku različitih opisnih imenica (primjerice *kuja*, *štene* i slično). Prikupljeni podatci o psima uključivali su: godinu rođenja psa, godinu u kojoj je provedena pretraga, spol (mužjak / ženka) i pasminu psa, te punu dijagnozu limfoma ili suspektnog limfoma. U slučaju kada je na istom psu provedeno više uzastopnih pretraga koje su skupno dovele do postavljanja konačne dijagnoze, pas je u istraživanju naveden jednom, a samo konačno postavljena dijagnoza je navedena kao njemu pripadajuća (npr. ako je prvo patohistološkom pretragom uzorka kože utvrđen kutani limfom, a zatim je rađena imunohistokemijska pretraga na preporuku patologa te je kožni limfom okarakteriziran kao T-stanični kutani epiteliotropni limfom, u ovom istraživanju navedena je samo ova konačna dijagnoza limfoma prema SZO klasifikaciji). Iz godine rođenja psa i godine provođenja pretrage kojom je dijagnosticiran limfom izračunata je dob psa s preciznošću od  $\pm 1$  godine. Psi navedeni kao *križanci* i *mješanci* u Issa Vams Tec sustavu tretirani su u ovome istraživanju istoznačno, kako bi označavali pse ne-čistokrvnih (miješanih) pasmina. Također, navedeni su podatci o vrsti provedene pretrage (citološka, imunocitokemijska, histološka, imunohistokemijska pretraga i obdukcija), te o uzorkovanom tkivu ili organu. Svi limfomi (potvrđeni ili suspekti) koji su dijagnosticirani na Zavodu bili su dijagnosticirani od strane veterinarskih patologa, djelatnika Zavoda uporabom već navedenih pretraga. Dijagnoze potvrđenih limfoma razdijeljene su na različite deskriptore prikazane u Tablici 3. Također, u slučajevima kad je to bilo jasno navedeno, izvađene su pune dijagnoze limfoma prema klasifikaciji po SZO.

**Tablica 3.** Deskriptori potvrđenih dijagnoza limfoma u pasa

| <b>Anatomska klasifikacija</b> | <b>Distribucija neoplastičnih stanica u tkivu</b> | <b>Imunofenotip neoplastičnih stanica</b> | <b>Morfologija neoplastičnih stanica</b> |
|--------------------------------|---|---|--|
| Alimentarni                    | Angiocentrični                                    | B   | Male                                     |
| Atipični                       | Difuzni   | T   | Srednje                                  |
| Ekstranodalni                  | Multinodularni                                    | Ne T ne B                                 | Velike                                   |
| Kutani                         | Epiteliotropni                                    | T-st. bogati B-st.                        | Limfoblasti                              |
| Medijastinalni                 | Zone plašta                                       |   | Imunoblasti                              |
| Multicentrični                 | Neepiteliotropni                                  |   | Centroblasti                             |
|                                | Folikularni                                       |   |  |

*Izvor: rad autora*

Kao što je vidljivo iz Tablice 3, deskriptori opisuju anatomsku klasifikaciju limfoma, distribuciju neoplastičnih stanica u tkivu, imunofenotip stanica i njihovu morfologiju, koja je podijeljena na veličinu neoplastičnih stanica i na razvojni stadij neoplastičnih limfocita procijenjen prema morfološkim značajkama. Podvrsta dijagnosticiranog limfoma u ovom istraživanju bila je prepoznata kao jedna od šest kategorija iz anatomske klasifikacije samo u slučaju da ju je patolog izravno takvom opisao ili ako je iz nalaza bilo moguće nedvosmisleno zaključiti da se doista radi o jednoj od navedenih šest kategorija (npr. ukoliko je dijagnoza postavljena prilikom obdukcije), budući da je čest slučaj da prilikom pretrage patolog može uspješno dijagnosticirati limfom, ali ne može znati kojoj anatomske klasifikaciji točno limfom u pitanju pripada (recimo, označava li dostavljeni uzorak kože na kojem se vidi da patohistološki odgovara limfomu zapravo kutani limfom ili zahvaćenost kože nekim drugim tipom limfoma). Upravo iz tog razloga u Tablici 3 razlikuje se pojam anatomske klasifikacije i uzorkovana tkiva. U Tablici 3 nisu navedena sva tkiva koja su bila uzorkovana prilikom dijagnosticiranja limfoma, budući da su to mogla biti sva tkiva psećeg organizma, pa bi navođenje svih njih u tablici bilo besmisleno. Potvrđene dijagnoze limfoma u pasa korištene u ovom istraživanju dobivene su različitim pretragama, te su zbog toga različito precizne (u nekim slučajevima jasno je jedino da se radi o limfomu, no nije utvrđeno o kojem se limfomu radi, a u drugim slučajevima dostupna je puna dijagnoza i tipizacija po nekoj od priznatih klasifikacija, npr. difuzni B-stanični limfom velikih stanica). Iz tog razloga, većina pasa imala je nepotpune podatke uz svoje dijagnoze (npr., bio je dostupan podatak o imunofenotipu neoplastičnih stanica, ali nije bio dostupan podatak o distribuciji i slično), pa su psi kod

analiziranja pojedinih deskriptora svrstani u skupine prema samim deskriptorima. Za anatomske klasifikacije limfoma, kao i za imunofenotip neoplastičnih stanica u ovom se istraživanju promatrala raspodjela pasa s obzirom na spol, dob i čistokrvnost pasmine.

Morfologija neoplastičnih stanica označava opisne komentare vezane uz izgled neoplastičnih limfocita. Podijeljena je u ovom istraživanju na veličinu neoplastičnih stanica (velike, srednje velike ili male) te na specifične nazive za stadij razvitka limfocita (limfoblast, imunoblast, centroblast).

Iako se veličina i stadij razvitka limfocita mogu međusobno preklapati, budući da nije uvijek moguće prema morfologiji odrediti o kojem se stadiju razvitka limfocita radi (u kojem je stadiju razvitka su postali neoplastično promijenjeni), ali je moguće odrediti koja je veličina limfocita, u ovom su istraživanju prikupljeni podatci i o veličini limfocita i o razvojnom stadiju.

#### **4. 2. Procjena zastupljenosti pojedinih pasmina pasa u Republici Hrvatskoj**

Pokušaj utvrđivanja međusobnog omjera brojnosti pasa po različitim pasminama u Republici Hrvatskoj napravljen je prikupljanjem podataka o svim psima zavedenim u Issa Vams Tec sustav Zavoda za patologiju od 2009. do 2021. godine. Pretpostavka je da ovi psi, budući da su zavedeni u bazu podataka Zavoda za patologiju iz različitih razloga (zbog različitih pretraga tkiva ili stanica, obdukcija, neškodljivog uklanjanja, itd.), čine dobar uzorak za procjenu dinamike pseće populacije u Republici Hrvatskoj, jer smrt ili bolest (uzmu li se u obzir svi uzroci bolesti i smrti) pogađaju pse svih pasmina jednako. Prebrojani su psi onih pasmina u kojih je limfom potvrđen dva ili više puta na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Pasmine u Issa Vams Tec sustavu su pretraživane na slijedeći način:

- (i) pretraživanje svih različitih naziva neke pasmine i sličnih riječi;
- (ii) izvlačenje svih pasa pojedine pasmine i kopiranje podataka vezanih uz tog psa u Excel tablicu; podatci su uključivali vlasnika, ime psa i pasminu psa;
- (iii) brisanje kopija kad se isti pas pojavio više puta (npr. prvi put zbog citološke pretrage, drugi put na obdukciji i slično).

Ukoliko bi se pojavilo više slučajeva pasa iste pasmine, istog imena, s istim vlasnikom, smatralo se da ti slučajevi prikazuju zapravo jednog te istog psa.



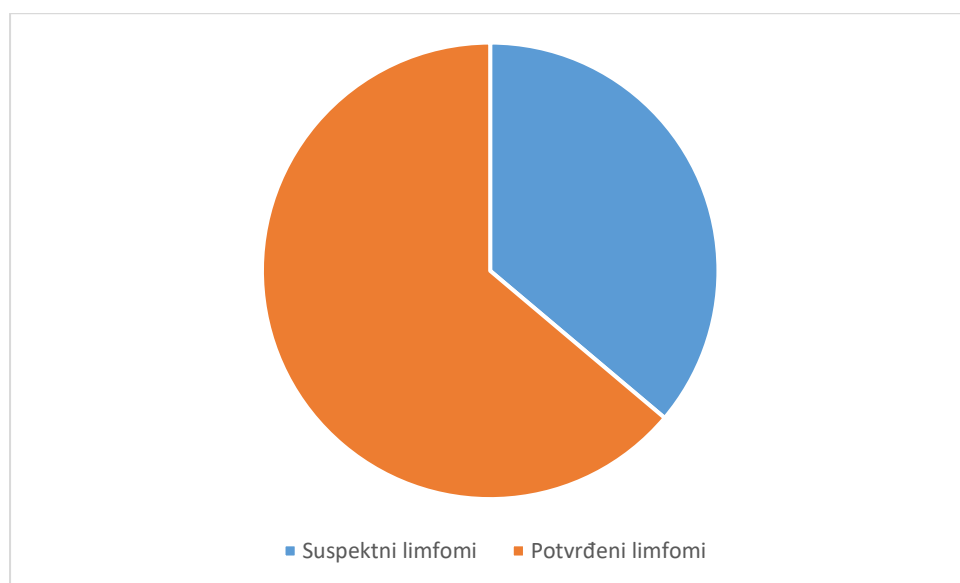
### **4. 3. Obrada podataka**

Svi su podatci obrađeni u Excel programu.

## 5. REZULTATI

### 5. 1. Potvrđene i nepotvrđene dijagnoze limfoma u pasa

Od 2009. godine do 2021. godine na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu dijagnosticirana su 242 limfoma u pasa, a postavljena je sumnja na 137 limfoma u pasa. Omjer potvrđenih i nepotvrđenih limfoma u pasa na Veterinarskom fakultetu prikazan je slikovno na Grafu 1. Omjer potvrđenih naspram nepotvrđenih (suspektnih) limfoma je 1.8: 1.

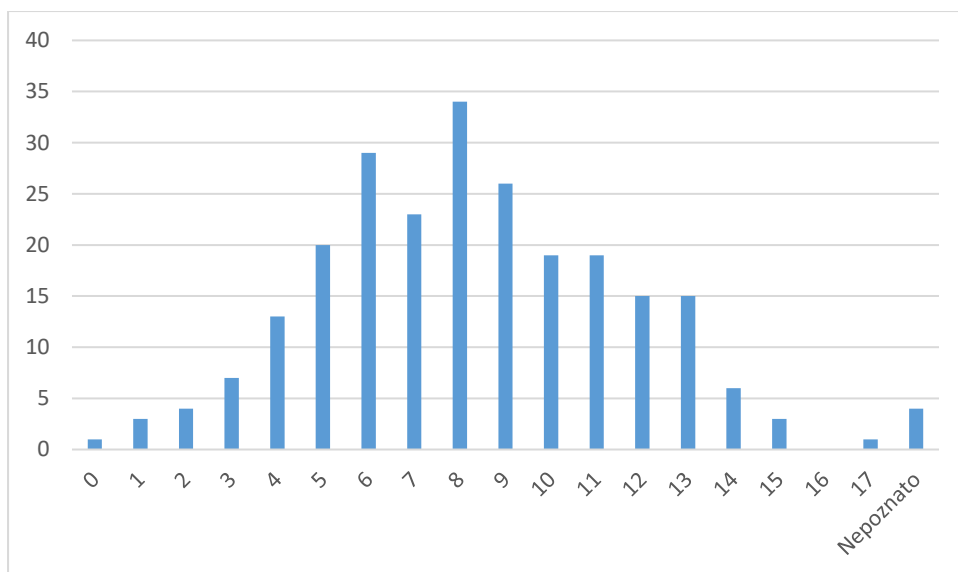


**Graf 1.** Omjer nepotvrđenih i potvrđenih dijagnoza limfoma u pasa na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

(Izvor: rad autora)

### 5. 2. Potvrđene dijagnoze limfoma u pasa; analiza dobi, spola i čistokrvnosti pasmine

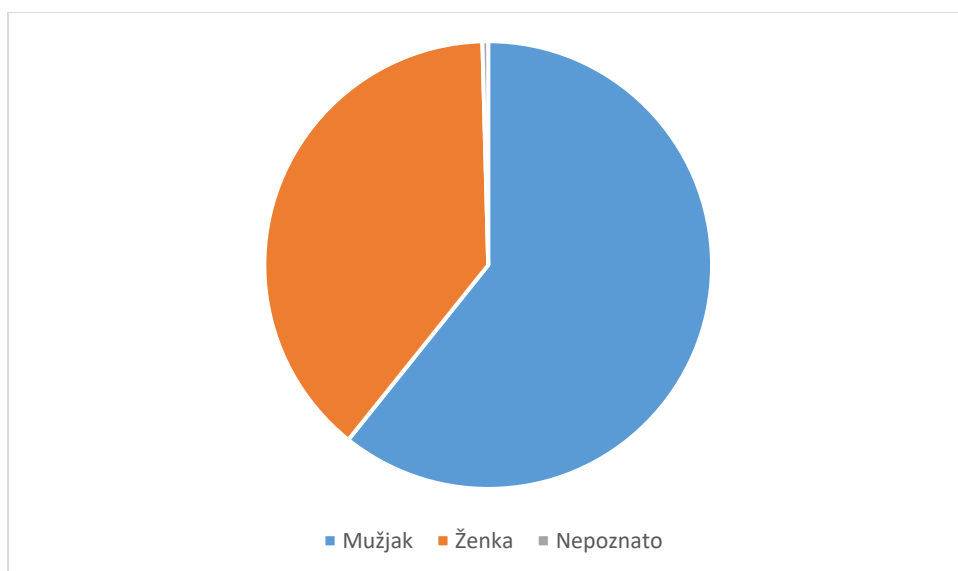
Prikaz raspodjele pasa s dijagnosticiranim limfomima prema godinama starosti u vrijeme kad je limfom dijagnosticiran nalazi se na Grafu 2. Najčešća starost psa s dijagnosticiranim limfomom je osam godina (34 psa), a raspon godina starosti proteže se od manje od jedne godine (1 pas) do sedamnaest godina (1 pas). Za četiri psa nije bio dostupan podatak o godini rođenja. Broj pasa s dijagnosticiranim limfomom je rastao po godinama starosti od nulte godine do osme godine i onda je pao do sedamnaeste godine. 54 % svih pasa s dijagnosticiranim limfomima bilo je starosti između pet i devet godina.



**Graf 2.** Broj pasa s dijagnosticiranim limfomom prema dobi psa (u godinama) u vrijeme postavljanja dijagnoze.

(Izvor: rad autora)

Od 242 pasa s dijagnosticiranim limfomom, 147 je bilo mušjaka, a 94 ženke. Za jednog psa spol nije poznat. Omjer spolova pasa s dijagnosticiranim limfomima je 1.56: 1 u korist mušjaka, a prikazan je na Grafu 3.

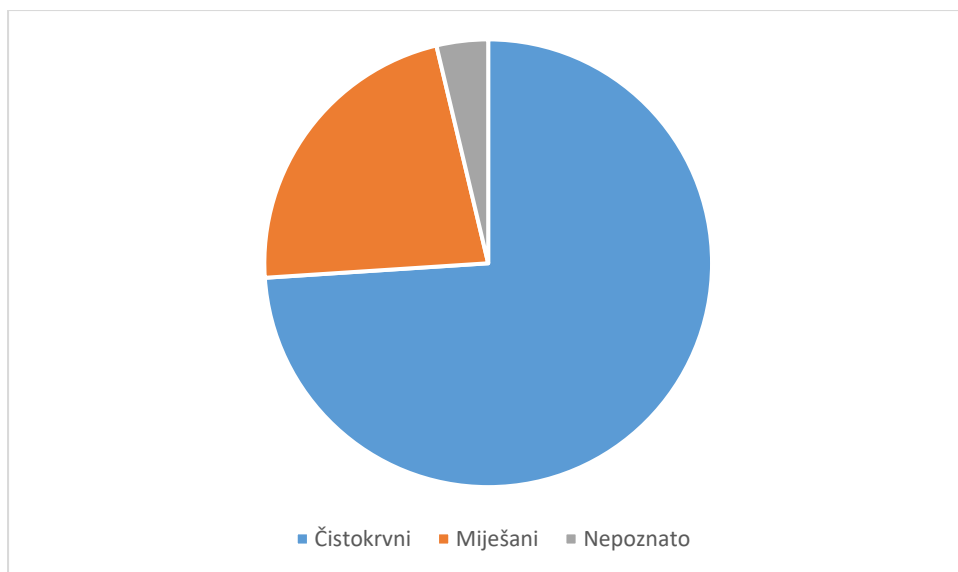


**Graf 3.** Omjer spolova pasa s dijagnosticiranim limfomom.

(Izvor: rad autora)

Broj pasa čistokrvnih pasmina s dijagnosticiranim limfomom bio je 179, a broj mješanaca i križanaca bio je 54. Omjer čistokrvnih pasmina naspram mješanaca i križanaca je

3.315: 1 u korist pasa čistokrvnih pasmina. Za devet pasa nije bio dostupan podatak pripadaju li nekoj pasmini ili jesu li mješanci ili križanci. Omjer pasa čistokrvnih, miješanih i nepoznatih pasmina prikazan je na Grafu 4.



**Graf 4.** Omjer pasa čistokrvnih, miješanih i nepoznatih pasmina s dijagnosticiranim limfomom.

(Izvor: rad autora)

### **5. 3. Pasmine pasa kojima je dijagnosticiran limfom**

#### *5. 3. 1. Broj čistokrvnih pasmina pasa s dijagnosticiranim limfomom*

Među 242 psa s dijagnosticiranim limfomom između 2009. i 2021. godine pronađena je 71 pasmina. U slučaju 27 pasmina limfom je bio dijagnosticiran na barem dva ili više pasa po pasmini, a u slučaju ostalih 44 pasmine, samo je jedan pas po svakoj pasmini dijagnosticiran s limfomom. Najzastupljenije pasmine po broju pasa s dijagnosticiranim limfomom, nakon miješanih i križanih pasmina (54 psa) bili su zlatni retriever (22 psa) i labrador retriever (11 pasa).

#### *5. 3. 2. Usporedba broja pasa s dijagnosticiranim limfomom po pasminama i zastupljenosti različitih pasmina pasa zavedenih u Issa Vams Tec sustav*

Promatramo li samo koje pasmine pasa s dijagnosticiranim limfomima ima najviše po broju pasa, možemo doći do pogrešnog zaključka da je ta pasmina predispozicionirana za razvitak limfoma. Kako se to ne bi dogodilo, u ovom radu su izbrojani psi zavedeni u Issa Vams Tec sustav onih pasmina koje se pojavljuju dva ili više puta među psima s

dijagnosticiranim limfomima. Broj pasa tih pasmina u Issa Vams Tec sustavu, broj pasa tih pasmina s dijagnosticiranim limfomom i postotak pasa određene pasmine kojima je dijagnosticiran limfom prikazani su u Tablici 4. Broj pasa po pasminama u Issa Vams Tec sustavu predstavlja pokušaj procjene zastupljenosti različitih pasmina pasa u Hrvatskoj.

**Tablica 4.** Prikaz pasa s dijagnosticiranim limfomima po pasminama i postotak oboljelih u odnosu na broj pasa po pasminama zavedenim u Issa Vams Tec sustav

| <b>Naziv pasmine</b>        | <b>Broj pasa po pasminama u Issa Vams Tec sustavu</b> | <b>Broj pasa po pasminama s limfomom</b> | <b>Postotak oboljelih pasa po pasmini</b> |
|-----------------------------|---|--|---|
| <i>Nepoznato</i>            | ???   | 9  | ???                                       |
| Flandrijski stočarski pas   | 5   | 2  | 40  |
| Bulmastif                   | 58  | 4  | 6.8966                                    |
| Shar pei                    | 62  | 4  | 6.4516                                    |
| Samojed                     | 182   | 4  | 4.878                                     |
| Cane corso                  | 161   | 6  | 3.7267                                    |
| Rodezijski gonič lavova     | 115   | 4  | 3.4783                                    |
| Zlatni retriver             | 737   | 22                                       | 2.9851                                    |
| Bigl                        | 207   | 6  | 2.8986                                    |
| Mađarska vižla              | 76  | 2  | 2.6316                                    |
| Doberman                    | 153   | 4  | 2.6144                                    |
| Bernski planinski pas       | 194   | 5  | 2.5773                                    |
| Engleski buldog             | 118   | 3  | 2.5424                                    |
| Rotvajler                   | 288   | 7  | 2.4306                                    |
| Kovrčavi bišon              | 100   | 2  | 2   |
| Koker španijel              | 58  | 3  | 1.8987                                    |
| Engleski koker španijel     | 167   | 3  | 1.7964                                    |
| Američki stafordski terijer | 487   | 7  | 1.4374                                    |

|                                  |      |    |        |
|----------------------------------|------|----|--------|
| Njemački bokser                  | 490  | 7  | 1.4286 |
| Njemački ovčar                   | 778  | 9  | 1.1568 |
| Mješanac*                        | 4756 | 54 | 1.1354 |
| Francuski buldog                 | 366  | 4  | 1.0929 |
| Labrador retriever               | 1015 | 11 | 1.0837 |
| Patuljasti šnaucer               | 185  | 2  | 1.0811 |
| Shih Tzu                         | 379  | 4  | 1.0554 |
| Mops                             | 222  | 2  | 0.9009 |
| Jorkširski terijer               | 286  | 2  | 0.6993 |
| Zapadnoškotski<br>bijeli terijer | 294  | 2  | 0.6803 |
| Maltezer                         | 742  | 4  | 0.5391 |

\*Označava sve pse miješanih i križanih pasmina

Izvor: rad autora

U Tablici 4 se vidi kako se, uzme li se u obzir brojnost pasa određene pasmine, odnosno popularnost određene pasmine na nekom području, zastupljenost limfoma u toj pasmini mijenja. Tako su psi miješanih pasmina, iako po brojnosti među onima s dijagnosticiranim limfomima najzastupljeniji (54 psa), prema postotku oboljenja na dvadesetom mjestu, zlatni retrieveri na sedmom mjestu, a labrador retrieveri na dvadeset i drugom mjestu. Zanimljivo je da maltezer, kao prilično popularna pasmina sa 742 prebrojane jedinke prema autoru, ima dijagnosticirana svega četiri limfoma i zbog toga ne ispada posebno predispozicionirana za razvoj limfoma, u odnosu na druge pasmine.

Pasmine koje se u 242 psa s dijagnosticiranim limfomom u ovom istraživanju pojavljuju samo jednom su slijedeće: dugodlaki škotski ovčar, Cavalier King Charles španijel, buldog, bul terijer, bretonski španijel, Bouvier des Ardennes, bordoška doga, bernardinac, belgijski ovčar Malinois, argentinska doga, američki pitbul terijer, afganistanski hrt, engleski seter, erdel terijer, havanezer, hrvatski ovčar, irski crveni seter, irski plavi terijer, Jack Russell terijer, kern terijer, kratkodlaki i dugodlaki jazavčar, mongolski ovčar, newfoundland, njemačka doga, njemački kratkodlaki ptičar, njemački lovni terijer, norveški špic, Parson Russell terijer, pas svetog Huberta, pekinzezer, portugalski vodeni pas, srednji pudl, ravnodlaki retriever, romanjanski pas za vodu, šarplaninac, sibirski haski, škotski terijer, srednjoazijski ovčar, staroengleski ovčar, tibetski terijer, tornjak, tosa i tulearski pas.

## 5. 4. Dijagnoze limfoma rastavljene na različite deskriptore

Dijagnoze limfoma u ovome istraživanju bile su rastavljene na deskriptore navedene u Tablici 3 (Materijali i metode), kako bi se pojedini deskriptori mogli analizirati svaki zasebno.

### 5. 4. 1. Anatomska klasifikacija

Raspodjela pasa (s obzirom na broj, dob, spol i čistokrvnost pasmine) prema dijagnozama limfoma razvrstanim po anatomskoj klasifikaciji prikazana je u Tablici 5. Iz Tablice je vidljivo da je podatak o anatomskoj klasifikaciji limfoma bio dostupan za 99 pasa od 242 psa s potvrđenim limfomom, čiji su podaci korišteni u ovom istraživanju. Najzastupljenija anatomska podvrsta limfoma bila je multicentrični limfom ( $n = 42$ ), a najmanje zastupljen bio je ekstranodalni limfom ( $n = 3$ ). Kao što je bio slučaj i u sva 242 psa s dijagnosticiranim limfomom u ovom istraživanju, i od 99 pasa s dostupnim podacima o anatomskoj podvrsti limfoma, mužjaci su bili zastupljeniji u odnosu na ženke u omjeru 1.6: 1. Promatrajući svaku od kategorija anatomске klasifikacija limfoma zasebno, u većini slučajeva zastupljeniji su bili mužjaci, s izuzetkom atipičnog limfoma (omjer mužjaka i ženki 1: 1) i medijastinalnog limfoma (omjer mužjaka i ženki 1: 3 u korist ženki). Srednja vrijednost dobi u ovih 99 pasa je 8.5 godina, što odgovara srednjoj dobi svih pasa s dijagnosticiranim limfomima u ovom istraživanju. U slučaju ekstranodalnih limfoma srednja dob je nešto viša (10.5 godina), a u slučaju medijastinalnih limfoma niža (6.25 godina). Omjer čistokrvnih i miješanih pasmina u ovih 99 pasa je 4: 1 u korist čistokrvnih pasmina. Promatrajući anatomske kategorije zasebno, najveći jaz između čistokrvnih i ne-čistokrvnih pasmina pojavljuje se u slučaju kutanih limfoma u kojem je omjer čistokrvnih i ne-čistokrvnih pasmina 13: 1; najmanji je jaz u slučaju medijastinalnih limfoma gdje je zastupljenost čistokrvnih i miješanih pasmina jednaka.

**Tablica 5.** Raspodjela pasa prema podvrstama limfoma po anatomskoj klasifikaciji

| Anatomska klasifikacija limfoma | Broj pasa | Dob psa* | Mužjaci | Ženke | Čistokrvne pasmine | Miješane pasmine | Nepoznate pasmine |
|---------------------------------|-----------|----------|---------|-------|--------------------|------------------|-------------------|
| Alimentarni                     | 16        | 9.4      | 11      | 5     | 12                 | 3                | 1                 |
| Atipični                        | 4         | 8        | 2       | 2     | 3                  | 1                | 0                 |

|                |    |      |    |    |    |    |   |
|----------------|----|------|----|----|----|----|---|
| Ekstranodalni  | 3  | 10.5 | 2  | 1  | 2  | 1  | 0 |
| Kutani         | 30 | 8.5  | 18 | 12 | 26 | 2  | 2 |
| Medijastinalni | 4  | 6.25 | 1  | 3  | 2  | 2  | 0 |
| Multicentrični | 42 | 8.4  | 27 | 15 | 31 | 10 | 1 |
| <i>Summa</i>   | 99 | 8.5  | 61 | 38 | 76 | 19 | 4 |

\*Označava srednju vrijednost dobi pasa izraženu u godinama

Izvor: rad autora

#### 5. 4. 2. Uzorkovana tkiva

Različita su tkiva bila uzorkovana tijekom dijagnosticiranja limfoma na 242 psa čiji su podatci korišteni u svrhu ovog istraživanja, a najčešći uzorak dostavljen na pretragu u Zavod za patologiju bio je punktat limfnog čvora. Nakon njega po učestalosti slijede biopsati limfnog čvora i kože, zatim biopsati stjenke probavnog trakta, te biopsati slezene i jetre.

#### 5. 4. 3. Imunofenotip neoplastičnih stanica

Od 242 potvrđena limfoma u pasa čiji su podatci korišteni u ovom istraživanju, za njih 76 otkriveno je imunocitokemijskim ili imunohistokemijskim metodama predstavljaju li limfome B limfocita, T limfocita ili limfome koji ne iskazuju imunohistokemijske markere ni za B ni za T limfocite. Raspodjela pasa prema ovim parametrima prikazana je u Tablici 6. Kao poseban oblik B-staničnog limfoma izdvojen je u Tablici 6 i T-stanicama bogati B-stanični limfom, budući da predstavlja poseban oblik dijagnoze. U Tablici 6 može se vidjeti kako je omjer B-staničnih limfoma i T-staničnih limfoma 1.27: 1 u korist B-staničnih limfoma. Također, vidljivo je da je srednja vrijednost dobi ovih 76 pasa 6.7 godina; a srednje vrijednosti dobi pasa s T limfomima i s B limfomima su gotovo jednake (8.3 godina za T limfome i između 8.1 i 8.3 za B limfome). Jedan pas kojem je dijagnosticiran Ne T ne B limfom imao je dvije godine u vrijeme postavljanja dijagnoze. Kao i u svih 242 psa s limfomima u ovom istraživanju, i u ovih 76 pasa prevladavali su mužjaci. Gledajući razdvojeno kategorije prema imunofenotipu neoplastičnih stanica, u Tablici 6 vidljivo je da više mužjaka ima B nego T-stanične limfome; i u ženki je češća dijagnoza B-staničnog limfoma. Jedino u slučaju ne B ne T-staničnog limfoma i u slučaju T-stanicama bogatog B staničnog limfoma, ženke su zastupljenije od mužjaka. Čistokrvne pasmine u ovih 76 pasa pojavljuju se puno više puta (n = 54) od miješanih pasmina (n = 18). Razlika pasa s B-staničnim limfomima i pasa s T-staničnim limfomima je mnogo manja u slučaju pasa čistokrvnih pasmina nego u slučaju pasa miješanih pasmina, iako i u jednom i u drugom slučaju prevladavaju dijagnoze B-staničnih limfoma. Među psima



miješanih pasmina dijagnoza B-staničnih limfoma je više nego dvostruko češća od dijagnoza T-staničnih limfoma.

**Tablica 6.** Raspodjela pasa prema imunofenotipu neoplastičnih stanica

| <b>Imuno-fenotip tumorskih stanica</b> | <b>Broj pasa</b> | <b>Dob pasa*</b> | <b>Mužjaci</b> | <b>Ženke</b> | <b>Čistokrvne pasmine</b> | <b>Miješane pasmine</b> | <b>Nepoznate pasmine</b> |
|--|------------------|------------------|----------------|--------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| T                                      | 33               | 8.3              | 20             | 13           | 25                        | 5                       | 3                        |
| B                                      | 38               | 8.1              | 25             | 13           | 26                        | 11                      | 1                        |
| Ne T ne B                              | 1                | 2                | 0              | 1            | 1                         | 0                       | 0                        |
| T-st. bogati B-st.                     | 4                | 8.3              | 1              | 3            | 2                         | 2                       | 0                        |
| <i>Summa</i>                           | 76               | 6.7              | 46             | 30           | 54                        | 18                      | 4                        |

\*Označava srednju vrijednost dobi pasa izraženu u godinama

Izvor: rad autora

#### 5. 4. 4. Cjelovite dijagnoze, morfologija i veličina stanica

Iz Tablice 7 jasno se može vidjeti malen sveukupan broj konačno postavljenih dijagnoza limfoma u pasa prema klasifikaciji po SZO. Sveukupno je postavljeno 29 neupitnih dijagnoza prema ovome sustavu klasifikacije. Od tih dijagnoza najučestalija je bila dijagnoza T-staničnog kutanog epiteliotropnog limfoma ( $n = 12$ ), zatim je po učestalosti slijedio difuzni B-stanični limfom velikih stanica ( $n = 5$ ), pa T-stanični kutani neepiteliotropni limfom i T-stanicama bogati B-stanični limfom ( $n = 4$ ,  $n = 4$ ), pa B-stanični limfom malih stanica ( $n = 2$ ) i na kraju limfom stanica plašta i T-stanični angiocentrični limfom ( $n = 1$ ,  $n = 1$ ). Limfoblasti su bili najzastupljenija faza razvitka neoplastičnih limfocita prosuđena po morfološkim kriterijima ( $n = 7$ ), pa su po učestalosti slijedili centroblasti ( $n = 2$ ) i imunoblasti ( $n = 1$ ). Stanice srednje veličine bile su najčešće ( $n = 26$ ), pa su po učestalosti slijedile velike stanice ( $n = 9$ ) i male stanice ( $n = 6$ ).

**Tablica 7.** Prikaz broja cjelovitih dijagnoza prema klasifikaciji po SZO, broja specificirane morfologije stanica u potvrđenim dijagnozama, te veličina stanica

| <b>Dijagnoza prema SZO</b>                | <b>Broj pasa</b> | <b>Morfologija stanice</b> | <b>Broj pasa</b> | <b>Veličina stanice</b> | <b>Broj pasa</b> |
|---|------------------|----------------------------|------------------|-------------------------|------------------|
| T-stanični kutani epiteliotropni limfom   | 12               | centroblast                | 2                | male                    | 6                |
| T-stanični kutani neepiteliotropni limfom | 4                | imunoblast                 | 1                | srednje                 | 26               |
| T-stanicama bogati B-stanični limfom      | 4                | limfoblast                 | 7                | velike                  | 9                |
| Difuzni B-stanični limfom velikih stanica | 5                |                            |                  |                         |                  |
| B-stanični limfom malih stanica           | 2                |                            |                  |                         |                  |
| Limfom stanica plašta                     | 1                |                            |                  |                         |                  |
| T-stanični angiocentrični limfom          | 1                |                            |                  |                         |                  |

*Izvor: rad autora*

#### *5. 4. 5. Distribucija neoplastičnih stanica u tkivu*

Distribucija neoplastičnih stanica u tkivu gotovo uvijek je bila difuzna. U slučaju kutanih limfoma, od 30 kutanih limfoma 18 je bilo epiteliotropno, 7 neepiteliotropno, a 5 nespecificirano. Ostali parametri distribucije, koji su označavali distribuciju limfocita u specifičnim slučajevima (npr. limfom zone plašta za opis distribucije limfocita u zahvaćenom limfnom čvoru (n = 1) ili angiocentrična distribucija kod opisa angiocentričnog limfoma (n = 1)) pojavljivale su se anegdotalno.

## 6. RASPRAVA

### 6. 1. Mali broj potvrđenih dijagnoza limfoma

Od postavljenih sumnji na limfom u pasa, u 63.85 % slučajeva je limfom bio potvrđen kao dijagnoza provođenjem daljnjih pretraga. Kako provođenje pretraga ovisi o volji vlasnika da pretragu plati, a liječenje limfoma ima u najmanju ruku dubiozni ishod, relativno mali postotak konačno postavljenih dijagnoza ne začuđuje. Također, važno je za napomenuti kako je mnogim veterinarima kliničarima često već i izraženo mišljenje patologa da se radi o mogućem limfomu dovoljno da, uz kliničku sliku i promatranje progresije bolesti sami donesu zaključke koji mogu voditi njihovo daljnje postupanje s pacijentom pa, iako preporučaju vlasniku da plati cjelovitu pretragu, mogu nastaviti svoj klinički rad prema pravilima struke i bez neupitno potvrđene dijagnoze od strane patologa. To, međutim, ostavlja podatke u računalnom sustavu za pohranu patoloških nalaza na Zavodu za veterinarsku patologiju s relativno malim postotkom neupitno potvrđenih limfoma u pasa.

#### *6. 1. 1. O dobi, spolu i čistokrvnosti pasmina pasa s dijagnosticiranim limfomom*

Ipak, čak se i na tom relativno malom uzorku mogla vidjeti očekivana raspodjela pasa s limfomima s obzirom na dob, spol i čistokrvnost pasmine. Naime, kako su opisali TESKE (1994.) i EDWARDS i sur. (2003.) i na ovom uzorku je vidljivo da je pojavnost limfoma u pasa rasla više-manje pravilno do osme godine pa potom padala. Malu nepravilnost inače vrlo pravilne zvonolike raspodjele pasa s limfomom po godinama s vrhuncem u osmoj godini života, predstavlja nešto veći broj slučajeva u pasa starih šest godina. Autor smatra da je ovo slučajno i da bi se krivulja ispravila da se poveća broj slučajeva.

Veća zastupljenost mužjaka među psima s dijagnosticiranim limfomom, i to izrazita, budući da je gotovo dvije trećine pasa s potvrđenom dijagnozom limfoma bila muškog spola, slaže se donekle s dosadašnjom literaturom i opažanjima što su ih opisali VILLAMIL i sur. (2009.) o sniženoj incidenciji u nesteriliziranih kuja. Ipak, kako su mužjaci mnogo zastupljeniji od ženki, čineći 61 % pasa s potvrđenim limfomom, postoji mogućnost da je to slučaj među psima na Veterinarskom fakultetu zbog nekih drugih razloga, primjerice zbog nepreciznog zapisivanja spolova pasa od strane veterinara kliničara prilikom slanja uzoraka na patološko citološke i patološko histološke pretrage.

Na Grafu 4 (Rezultati) vidljiv je slikoviti prikaz velike zastupljenosti pasa čistokrvnih pasmina među onima s dijagnosticiranim limfomom. 76.82 % svih pasa s dijagnosticiranim limfomom je pripadao čistokrvnim pasminama, iako je, kao što je vidljivo iz Tablice 4 (Rezultati), najviše pasa miješanih pasmina (križanaca i mješanaca) navedeno u Issa Vams Tec sustavu. Mješanci i križanci su u ovom istraživanju grupirani zajedno, jer je cilj bio staviti fokus na čistokrvne pasmine i odvojiti ih od ne-čistokrvnih; također, utvrđivanje razlike između križanaca i mješanaca često je nemoguće bez dostupne dokumentacije koja bi svjedočila čistokrvnost pasmina roditelja križanaca, pa je autorovo mišljenje kako se u svakodnevnoj praksi veterinaru u Hrvatskoj ovi pojmovi (križanac i mješanac) redovito koriste istoznačno ili međusobno neprimjereno miješaju. Veća predispozicija pasa čistokrvnih pasmina da razviju limfom već je opisana u literaturi i objašnjava se plićim genetskim bazenom i češćim prisustvom onkogeni i protoonkogeni (ZANDVLIET, 2016.). Drugi mogući razlog za dobivenu veću incidenciju limfoma u čistokrvnih pasmina je spremnost vlasnika na plaćanje dijagnostičkih i terapijskih postupaka. Vlasnici čistokrvnih pasmina su češće spremni financirati ove postupke jer su obično imućniji te je i sama financijska vrijednost čistokrvnih pasa veća od nečistokrvnih pasa.

## **6. 2. Pokušaji određivanja predispozicije pojedinih pasmina pasa za razvitak limfoma**

Pokušaj procjene međusobnog omjera pasmina pasa u RH napravljen je uzimanjem nasumičnog uzorka iz Issa Vams Tec sustava, pod pretpostavkom da psi svih pasmina boluju ili ugibaju od bilo čega u jednakom omjeru, pa da dinamika populacije pasa u Issa Vams Tec sustavu, iako ne može pokazati konkretne brojeve pasa određenih pasmina u RH, može ukazati na međusobni odnos popularnosti pasmina. Izračunavanjem postotka pasa oboljelih od limfoma među tim psima za svaku od tih pasmina, može se dobiti uvid u predispoziciju koju pojedine pasmine pokazuju prema razvoju limfoma u RH. Očita iznimka od ovog pravila je flandrijski stočarski pas za kojeg ispada da se pojavljuje u Issa Vet Cams sustavu pet puta i od toga dva puta s limfomom. Razlog tako malom broju pojavljivanja flandrijskog stočarskog psa u Issa Vams Tec sustavu može biti krivo navođenje ove pasmine na uputnicama prilikom slanja uzoraka na patološku pretragu zbog sličnosti flandrijskog stočarskog psa drugim pasminama (poput velikog gubičara). Važno je napomenuti da, iako je broj flandrijskih stočarskih pasa zavedenih u Issa Vams Tec sustav premali da bi se zaključilo nešto iz postotka tih pasa kojima

je dijagnosticiran limfom, ZANDVLIET (2016.) navodi flandrijskog stočarskog psa kao pasminu koja ima veću mogućnost razvitka limfoma.

Ipak, zanemari li se ta pasmina, postotci pasa s dijagnosticiranim limfomima na Zavodu za veterinarsku patologiju od ukupnog broja pasa čiji su uzorci zaprimljeni na Zavodu pokazuju sklonost pasa pojedinih pasmina razvoju limfoma. Tako su bulmastif i Shar pei najzastupljeniji, a za njima slijede samojed, cane corso i rodezijski gonič lavova. Pojedine pasmine bi možda u stvarnom svijetu zamijenile mjesta prema predispoziciji na limfome, ali autor smatra kako bi još uvijek psi pasmina koje u ovom istraživanju imaju limfome u više od 3 % slučajeva (prethodno navedene pasmine) bili zastupljeniji i na većem uzorku od pasa koji u ovom istraživanju imaju manje od 1 % slučajeva limfoma (npr. jorkširski terijer, zapadnoškotski bijeli terijer ili maltezer) (Tablica 4; Rezultati). Naravno, ova metoda ne može zamijeniti izračunavanje prave stope incidencije kroz vremenski period za limfome prema pojedinim pasminama pasa, ali autor smatra kako bi mogla poslužiti kao gruba orijentacijska metoda i pomoći u budućim cjelovitijim istraživanjima vezanim za veterinarsku epidemiologiju koja bi se eventualno provodila na području RH, jer omogućuje određivanje pasmina na koje bi se u tom slučaju stavio fokus, odnosno omogućuje svrstavanje različitih pasmina pasa s obzirom na moguću predispoziciju za razvitak limfoma u orijentacijske skupine (one s vjerojatnom jačom predispozicijom, one s vjerojatnom umjerenom predispozicijom i one s vjerojatnom slabijom predispozicijom).

### **6. 3. Izazovi u rastavljanju nepotpunih dijagnoza na deskriptore**

Nakon prikupljanja i svrstavanja podataka o postavljenim dijagnozama limfoma u pasa na Zavodu za veterinarsku patologiju, postalo je vidljivo da je broj konačnih, cjelovitih dijagnoza, postavljenih tijekom redovnog rada Zavoda, prilično mali (Tablica 7; Rezultati). Iz tog razloga, kao i zbog velikog broja sustava klasifikacije limfoma u veterinarskoj medicini koji su se mijenjali i razvijali od 2009. godine do danas, u ovom istraživanju dijagnoze su bile rastavljene na različite deskriptore (Tablica 3; Materijali i metode). Usprkos rastavljanju na različite deskriptore, skupine dijagnoza s dostupnim pouzdanim deskriptorima bile su, iako rastavljene, još uvijek male (99 dijagnoza s dostupnim podacima o anatomskoj klasifikaciji; 76 dijagnoza s imunofenotipom neoplastičnih stanica).

### *6. 3. 1. O anatomskoj klasifikaciji*

Podataka o anatomskoj klasifikaciji bilo je najviše. Razlog tome vjerojatno je velik broj dijagnoza postavljenih nakon obdukcije (59 dijagnoza) i veliki broj kutanih limfoma ( $n = 30$ ), koje se može okarakterizirati kao takve već na osnovu histološke pretrage. Najveći udio multicentričnih limfoma ne iznenađuje, budući da je već opisano u literaturi kako se oni najčešće pojavljuju u pasa (PONCE i sur., 2010.; ZANDVLIET, 2016.). Najmanji broj dijagnoza predstavljao je u ektranodalni limfom. Razlog tome vjerojatno je raspodijeljenost ovoga limfoma na drugačije dijagnoze prema drugim sustavima klasifikacije tijekom redovnog rada Zavoda, a ne toliko mali broj ove podvrste limfoma. Najmanja srednja dob pasa s medijastinalnim limfomima ne iznenađuje budući da dio tih limfoma očito predstavljaju timusni limfomi, a kako timus s godinama gubi svoju funkciju, tako se starenjem i smanjuje rizik od razvitka ovoga limfoma. Ostale srednje vrijednosti dobi pasa su u vrijednostima oko osam godina, što se očekuje s obzirom na dosadašnju literaturu (ZANDVLIET, 2016.). Jedino su psi s alimentarnim limfomom i ektranodalnim limfomom bili nešto stariji. Razlog tome je moguća stvarna starija dob pasa u kojoj se razvijaju ovi limfomi ili slučajno pronađena takva raspodjela. Bilo je više mužjaka nego ženki sa svim kategorijama limfoma raspodijeljenima prema anatomskoj klasifikaciji i više čistokrvnih pasmina nego miješanih, osim eventualno u onim kategorijama kojih je izrazito malo, pa je takva raspodjela slučajna. Takva raspodjela je za očekivati kod svih limfoma općenito i u skladu je s dosad opisanim podacima u literaturi (MORRIS i DOBSON, 2001.; ZANDVLIET, 2016.).

### *6. 3. 2. O imunofenotipu neoplastičnih stanica*

Sveukupan broj od 76 dijagnoza limfoma za koje je moguće odrediti o kojem se imunofenotipu neoplastičnih stanica radi, kao relativno mali postotak od sveukupnog broja potvrđenih dijagnoza limfoma (31.4 %) ukazuje na relativno malobrojno provođenje imunocitokemijske ili imunohistokemijske pretrage potvrđenih dijagnoza limfoma. To se objašnjava time što su vlasnici pasa u RH još uvijek nevoljni plaćati detaljnije pretrage, pa se veterinari kliničari tijekom svojeg svakodnevnog posla uglavnom oslanjaju na dijagnoze i mišljenja patologa koja se mogu postaviti temeljem osnovnih pretraga.

Veća zastupljenost B-staničnih limfoma od T-staničnih je u skladu s dosadašnjim spoznajama, iako je u slučaju ovog istraživanja B-stanični imunofenotip neoplazija činio 55.3 % od sveukupnog broja dijagnoza u kojih je imunofenotip određen, a prema dosadašnjoj literaturi bi postotak B-staničnih limfoma trebao biti veći, odnosno oko 70 % (MODIANO i

sur., 2005.; GARDNER i sur., 2016.). Provjeravanje imunofenotipa neoplastičnih stanica na većem broju uzoraka, vjerojatno bi povećalo postotak otkrivenih B-staničnih limfoma, odnosno, udio B-staničnih limfoma bi se približio 70 %. Srednje vrijednosti starosti pasa su po svim imunofenotipovima oko osam godina, osim za jedan slučaj ne T ne B-staničnog limfoma koji je dijagnosticiran psu od dvije godine starosti.

### *6. 3. 3. O cjelovitim dijagnozama prema SZO klasifikaciji*

Potpunih dijagnoza prema SZO klasifikaciji pronađeno je u ovom istraživanju malo (n =27), kao što je vidljivo iz Tablice 7 (Rezultati). Zbog tako malog broja, čak ni svih pet najčešćih tipova limfoma u pasa prema SZO nije navedeno u Tablici 7, a međusobni omjeri broja dijagnoza uopće se ne poklapaju s dosad opisanima prema VALLI i sur. (2011.). Naime, prema literaturi, za očekivati bi bilo da većinu pronađenih dijagnoza čine onih opisanih najčešćih pet: difuzni B-stanični limfom velikih stanica, periferni T-stanični limfom bez drugih osobina, limfom T zone, T-stanični limfoblastični limfom i limfom marginalne zone, tim redoslijedom prema zastupljenosti. Međutim, u Tablici 7 (Rezultati), vidljivo je da je od navedenih pet najčešće dijagnosticiranih limfoma u pasa, u ovom istraživanju uočen samo difuzni B-stanični limfom velikih stanica. Razlog tako malo detaljno navedenih dijagnoza prema klasifikaciji SZO je, kao što je već spomenuto, mali broj cjelovito provedenih pretraga preko kojih bi se ovako detaljne dijagnoze mogle postaviti bez ikakve sumnje; iako apsolutna sigurnost patologa nije uvijek potrebna kada patolog izriče svoje mišljenje veterinaru kliničaru tijekom svojeg svakodnevnog rada, u svrhu znanstvenog istraživanja podaci koji izražavaju visoku razinu nesigurnosti su neupotrebljivi. Također, razlog malog broja cjelovitih dijagnoza prema SZO je i sedam sustava klasifikacija limfoma u pasa koji se paralelno koriste u veterinarskoj medicini, iako se u najnovije vrijeme nadograđeni Kiel sustav i sustav prema SZO najviše preporučuju (SAYAG i sur., 2017.).

Slični problemi objašnjavaju i malobrojnost podataka o veličini neoplastičnih stanica i o njihovoj morfologiji (Tablica 7, Rezultati). Naime, iako su veličina stanica i morfologija različitih staničnih populacija u promatranim suspektim i potvrđenim tumorima uglavnom bile detaljno opisivane unutar cjelovitih nalaza, retrospektivnom analizom tih podataka bilo je često teško nedvosmisleno izvući spomenute deskriptore, osim u slučajevima kada je u samoj dijagnozi jasno napisano kakve su neoplastične stanice ili je dijagnoza bila postavljena prema nekoj od klasifikacija koje veličinu neoplastičnih stanica i njihovu fazu razvitka (limfoblasti / imunoblasti / centroblasti) uključuju u naziv tipa limfoma (npr. nadograđeni Kiel sustav).

#### *6. 3. 4. O distribuciji neoplastičnih stanica u tkivu*

Difuzna distribucija neoplastičnih stanica u većini dijagnoza psećih limfoma u skladu je s dosadašnjom literaturom (PONCE i sur., 2010.). Najveći broj dostupnih podataka o specifičnoj distribuciji neoplastičnih limfocita u tkivu u slučaju kožnih limfoma ne iznenađuje, budući da je podatak o tome jesu li limfomi epiteliotropni ili neepiteliotropni važan u subtipizaciji tih limfoma u kliničkom smislu (MOORE i sur., 1994.).



## 7. ZAKLJUČCI

Analizom dostupnih podataka o dijagnosticiranim limfomima u pasa na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu između 2009. i 2021. godine uočeno je da raspodjela pasa s obzirom na dob, spol i čistokrvnosti pasmine odgovara dosadašnjoj literaturi. Zbog toga može se zaključiti kako su potvrđene dijagnoze limfoma u pasa na Zavodu za veterinarsku patologiju doista ispravno postavljene dijagnoze.

Usporedbom pojavnosti pasmina pasa s limfomom u odnosu na pojavnost pasmina pasa u Issa Vams Tec sustavu dobivena je svojevrsna gradacija pasmina pasa s obzirom na moguću predispozicioniranost na razvitak limfoma. Prema tim podacima veliku vjerojatnost predispozicije na razvitak limfoma pokazivali su bulmastif, shar pei i samojed, a malu vjerojatnost predispozicije pokazivali su jorkširski terijer, zapadnoškotski bijeli terijer i maltezer. Prave predispozicije za razvitak limfoma trebale bi se dodatno provjeriti u budućim istraživanjima određivanjem incidencije limfoma za svaku pasminu posebno u RH.

Zbog nevoljkost vlasnika da plaćaju cjelovite detaljne patološke pretrage potrebne da bi se odredili tipovi i podtipovi limfoma u pasa, kao i upitni ishodi liječenja ove bolesti u pasa, cjelovitih dijagnoza limfoma u pasa zavedenih u Issa Vams Tec sustav Zavoda za patologiju je malo. Za daljnja istraživanja vezana uz epidemiologiju limfoma u pasa u RH s obzirom na njihove cjelovite dijagnoze bit će potrebno provesti detaljne pretrage arhiviranih uzoraka na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i postaviti konačne dijagnoze prema ujednačenom sustavu klasifikacije, kao što je sustav prema SZO. Odabir uzoraka u daljnjim istraživanjima bit će jednostavniji nakon analize o dijagnosticiranim i suspektnim limfomima provedenima u ovom istraživanju.

## 8. LITERATURA

1. APOSTOLOPOULOU, E. P., I. VLEMMAS, D. PARDALI, K. K. ADAMMA-MORAITOU, T. POUTAHIDIS, P. L. PAPADOPULOU, G. D. BRELLOU (2021.): Bilateral Renal Large B Cell Lymphoma in a Dog: A Case Report and Review of the Literature. *Veterinary Sciences*, Nov 1; 8 (11): 258.
2. AVERY, A. C. (2020.): The Genetic and Molecular Basis for Canine Models of Human Leukemia and Lymphoma. *Frontiers in Oncology*, Jan; 10 (23).
3. CANIATTI, M., P. ROCCABIANCA, E. SCANZIANI, S. PALTRINIERI, P. F. MOORE (1996.): Canine Lymphoma: Immunocytochemical Analysis of Fine-needle Aspiration Biopsy. *Veterinary Pathology*, Mar; 33 (2): 204 – 212.
4. CHEN, H. W., G. W. SMALL, A. MOTSINGER-REIF, S. E. SUTER, K. L. RICHARDS (2014.): VH1-44 gene usage defines a subset of canine B-cell lymphomas associated with better patient survival. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Feb 15; 157 (0): 125 – 130.
5. COUTO, C. G., H. C. RUTGERS, R. G. SHERDING, J. ROJKO (1989.): Gastrointestinal lymphoma in 20 dogs. A retrospective study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 3: 73 – 78.
6. COYLE, K. A., H. STEINBERG (2004.): Characterization of lymphocytes in canine gastrointestinal lymphoma. *Veterinary Pathology*, Mar; 41 (2): 141 – 6.
7. CURRAN, K., M., P. A. SCHAFFER, C. B. FRANK, S. E. LANA, L. E. HAMIL, J. H. BURTON, J. LABADIE, E. J. EHRHART, P. R. AVERY (2017.): BCL2 and MYC are expressed at high levels in canine diffuse large B-cell lymphoma but are not predictive for outcome in dogs treated with CHOP chemotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, Dec; 15 (4): 1269 – 1279.
8. DAY, M. J. (1997.): Review of thymic pathology in 30 cats and 36 dogs. *Journal of Small Animal Practice*, Sep; 38 (9): 393 – 403.
9. DAY, M. J., R. D. SCHULTZ (2014.): *Veterinary Immunology: Principles and Practice*. Second Edition, CRC Press, London.

10. DI BELLA, A., C. MAURELLA, A. CAUVIN, J. M. SCHMIDT, B. B. TAPIA, S. M. NORTH (2013.): Proteinuria in canine patients with lymphoma. *Journal of Small Animal Practice*, Jan; 54 (1): 28 – 32.
11. DOBSON, J. M., S. SAMUEL, H. MILSTEIN, K. ROGERS, J. L. N. WOOD (2002.): Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 43, 240 – 246.
12. EDWARDS, D. S., W. E. HENLEY, E. F. HARDING, J. M. DOBSON, J. L. N. WOOD (2003.): Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs. Blackwell Publishing Ltd, *Veterinary and Comparative Oncology*, 1, 4, 200 – 206.
13. FISHER, D. J., D. NAYDAN, L. L. WERNER, P. F. MOORE (1995.): Immunophenotyping lymphomas in dogs: a comparison of results from fine needle aspirate and needle biopsy samples. *Veterinary Clinical Pathology*, 24 (4): 118 – 123.
14. GARDNER, H. L., J. M. FENGER, C. A. LONDON (2016.): Dogs as a Model for Cancer. *Annual Review of Animal Biosciences*, 4: 199 – 222.
15. GAVAZZA, A., G. LUBAS, E. VALORI, B. GUGLIUCCI (2008.): Retrospective survey of malignant lymphoma cases in the dog: clinical, therapeutical and prognostic features. *Veterinary Research Communications*, Sep; 32, 191 – 193.
16. GELAIN, M. E., M. MAZZILLI, F. RIONDATO, L. MARCONATO, S. COMAZZI (2008.): Aberrant phenotypes and quantitative antigen expression in different subtypes of canine lymphoma by flow cytometry. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Feb 15; 121 (3 – 4): 179 – 88.
17. GEYER, N. E., J. K. REICHLER, A. VALDÉS-MARTÍNEZ, J. WILLIAMS, J. M. GOGGIN, L. LEACH, J. HANSON, S. HILL, T. AXAM (2010.): Radiographic appearance of confirmed pulmonary lymphoma in cats and dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, Jul-Aug; 51 (4): 386 – 90.
18. GILMORE, T. D. (2006.): Introduction to NF- $\kappa$ B: players, pathways, perspectives. *Oncogene*, 25, 6680 – 6684.
19. GINN, J., J. SACCO, Y. Y. WONG, A. MOTSINGER-REIF, R. CHUN, L. A. TREPANIER (2014.): Positive association between a glutathione-S-transferase

polymorphism and lymphoma in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, Sep; 12 (3): 227 – 36.

20. GRINDEM, C. B., E. B. BREITSCHWERDT, W. T. CORBETT, R. L. PAGE, H. E. JANS (1994.): Thrombocytopenia associated with neoplasia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Nov – Dec; 8 (6): 400 – 5.

21. GUIJA DE ARESPACOHAGA, A., I. SCHWENDENWEIN, H. WEISSENBOCK (2007.): Retrospective study of 82 cases of canine lymphoma in Austria based on the Working Formulation and immunophenotyping. *Journal of Comparative Pathology*, Feb – Apr; 136 (2 – 3):186-92.

22. HEAVICAN, T. B., A. BOUSKA, J. YU, W. LONE, C. AMADOR, Q. GONG, W. ZHANG, Y. LI, B. J. DAVE, M. L. NAIRISMÄGI, T. C. GREINER, J. VOSE, D. D. WEISENBURGER, C. LACHEL, C. WANG, K. FU, J. M. STEVENS, S. T. LIM, C. K. ONG, R. D. GASCOYNE, E. MISSIAGLIA, F. LEMONNIER, C. HAIOUN, S. HARTMANN, M. BJERREGÅRD PEDERSEN, M. A. LAGINESTRA, R. A. WILCOX, BIN TEAN TEH, N. YOSHIDA, K. OHSHIMA, M. SETO, A. ROSENWALD, G. OTT, E. CAMPO, L. M. RIMSZA, E. S. JAFFE, R. M. BRAZIEL, F. D'AMORE, G. INGHIRAMI, F. BERTONI, L. DE LEVAL, P. GAULARD, L. M. STAUDT, T. W. MCKEITHAN, S. PILERI, W. C. CHAN, J. IQBAL (2019.): Genetic drivers of oncogenic pathways in molecular subgroups of peripheral T-cell lymphoma. *Blood*, Apr 11; 133 (15): 1664 – 1676.

23. JAFFE, E. S., D. ARBER, E. CAMPO, L. QUINTANILLA-MARTINEZ, A. ORAZI (2016.): *Hematopathology*, 2nd Edition, Elsevier.

24. KASHYAPA, R., B. R. MITTALA, K. MANOHARA, C. N. BALASUBRAMANIAN HARISANKARA, A. BHATTACHARYAA, B. SINGHA, P. MALHOTRAB, S. VARMAB (2011.): Extranodal manifestations of lymphoma on [18F]FDG-PET/CT: a pictorial essay. *Cancer Imaging*, 11, 166 – 174.

25. KELLER, S. M., W. VERNAU, J. HODGES, P. H. KASS, J. G. VILCHES-MOURE, V. MCELLIOT, P. F. MOORE (2013.): Hepatosplenic and hepatocytotropic T-cell lymphoma: two distinct types of T-cell lymphoma in dogs. *Veterinary Pathology*, Mar; 50 (2): 281 – 90.

26. LANZA, M. R., A. R. MUSCIANO, R. D. DUBIELZIG, A. C. DURHAM (2018.): Clinical and pathological classification of canine intraocular lymphoma. *Veterinary Ophthalmology*, 21, 2, 167 – 173.

27. LARUE, M. K., A. R. TAYLOR, A. R. BACK, S. E. LINDLEY, B. L. BOUDREAUX, G. T. ALMOND, A. SHORES, W. R. BRAUNER, A. N. SMITH (2018.): Central nervous system lymphoma in 18 dogs (2001 to 2015). *Journal of Small Animal Practice*, 59, 547 – 552.
28. MADDEN, S., K., A. D. DE ARAUJO, M. GERHARDT, D. P. FAIRLIE, J. M. MASON (2021.): Taking the Myc out of cancer: toward therapeutic strategies to directly inhibit c-Myc. *Molecular Cancer*, Jan; 20 (3).
29. MARCHETTI, V., C. BENETTI, S. CITI, V. TACCINI (2005.): Paraneoplastic hypereosinophilia in a dog with intestinal T-cell lymphoma. *Veterinary Clinical Pathology*, Sep; 34 (3): 259 – 263.
30. MODIANO, J. F., M. BREEN, R. C. BURNETT, H. G. PARKER, S. INUSAH, R. THOMAS, P. R. AVERY, K. LINDBLAD-TOH, E. A. OSTRANDER, G. C. CUTTER, A. C. AVERY (2005.): Distinct B-Cell and T-Cell Lymphoproliferative Disease Prevalence among Dog Breeds Indicates Heritable Risk. *Cancer Research*, 65: 5654 – 5661.
31. MOORE, P. F., T. OLIVRY, D. NAYDAN (1994.): Canine cutaneous epitheliotropic lymphoma (mycosis fungoides) is a proliferative disorder of CD8+ T cells. *The American Journal of Pathology*, Feb; 144 (2): 421 – 9.
32. MORRIS, J., J. DOBSON (2001.): *Small Animal Oncology*, Blackwell Science Ltd.
33. NEEL, J. A., L. SNYDER, C. B. GRINDEM (2012.): Thrombocytosis: a retrospective study of 165 dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, Jun; 41 (2): 216 – 222.
34. OWEN, L. N. (1980.): *TNM classification of tumours in domestic animals*. 1st ed. Geneva: World Health Organization.
35. OZAKI, K., T. YAMAGAMI, K. NOMURA, I. NARAMA (2006.): T-cell lymphoma with eosinophilic infiltration involving the intestinal tract in 11 dogs. *Veterinary Pathology*, May; 43 (3): 339 – 44.
36. PASTOR, M., K. CHALVET-MONFRAY, T. MARCHAL, G. KECK, J.P. MAGNOL, C. FOURNEL-FLEURY, F. PONCE (2009.): Genetic and Environmental Risk Indicators in Canine Non-Hodgkin's Lymphomas: Breed Associations and Geographic Distribution of 608 Cases Diagnosed throughout France over 1 Year. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23: 301 – 310.

37. PONCE, F., T. MARCHAL, J. P. MAGNOL, V. TURINELLI, D. LEDIEU, C. BONNEFONT, M. PASTOR, M. L. DELIGNETTE, C. FOURNEL-FLEURY (2010.): A Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in France With a Focus on Comparative Similarities Between Canine and Human Lymphoma Morphology. *Veterinary Pathology*, 47 (3), 414 – 433.
38. ROOK, K. A. (2018.): Canine and Feline Cutaneous Epitheliotropic Lymphoma and Cutaneous Lymphocytosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Jan (2019); 49 (1): 67 – 81.
39. ROSSI, G., M. ROSSI, C. G. VITALI, D. FORTUNA, D. BURRONI, L. PANCOTTO, S. CAPECCHI, S. SOZZI, G. RENZONI, G. BRACA, G. DEL GIUDICE, R. RAPPUOLI, P. GHIARA, E. TACCINI (1999.): A conventional beagle dog model for acute and chronic infection with *Helicobacter pylori*. *Infection and Immunity*, 67: 3112 – 3120.
40. RUPLE, A., A. C. AVERY, P. S. MORLEY (2017.): Differences in the geographic distribution of lymphoma subtypes in Golden retrievers in the USA. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15: 1590 – 1597.
41. SANTORO, D., R. MARSELLA, J. HERNANDEZ (2007.): Investigation on the association between atopic dermatitis and the development of mycosis fungoides in dogs: a retrospective case-control study. *Veterinary Dermatology*, Apr; 18 (2): 101 – 6.
42. SAYAG, D., C. FOURNEL-FLEURY, F. PONCE (2017.): Prognostic significance of morphotypes in canine lymphomas: A systematic review of literature. *Veterinary and Comparative Oncology*, Mar; 16 (1): 12 – 19.
43. SÖZMEN, M., S. TASCA, E. CARLI, D. DE LORENZI, T. FURLANELLO, M. CALDIN (2005.): Use of fine needle aspirates and flow cytometry for the diagnosis, classification, and immunophenotyping of canine lymphomas. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Jul; 17 (4): 323 – 30.
44. ŠKUNCA, Ž., A. PLANINC-PERAICA (2015.): Prognošički utjecaj NF- $\kappa$ B ekspresije kod podskupina difuznog B-velikostaničnog limfoma. *Acta Medica Croatica*, 69 (2015) 25 – 32.

45. ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN, I.-C., K. SEVERIN, M. HOHŠTETER, B. ARTUKOVIĆ, A. BECK, A. GUDAN KURILJ, R. SABOČANEC, P. DŽAJA, Ž. GRABAREVIĆ (2013.): Pojavnost i tipovi tumora u pasa u Hrvatskoj. *Veterinarski arhiv*, 83, 31 – 45.
46. TASCA, S., E. CARLI, M. CALDIN, L. MENEGAZZO, T. FURLANELLO, L. SOLANO GALLEGO (2009.): Hematologic abnormalities and flow cytometricimmunophenotyping results in dogs with hematopoieticneoplasia: 210 cases (2002–2006). *Veterinary Clinical Pathology*, 38: 2 – 12.
47. TAYLOR, A., R. FINOTELLO, P. VILAR-SAAVEDRA, C. G. COUTO, L. BENIGNI, A. LARA-GARCIA (2019.): Clinical characteristics and outcome of dogs with presumed primary renal lymphoma. *The Journal of Small Animal Practice*, Nov; 60 (11): 663 – 670.
48. TESKE E., P. WISMAN, P. F. MOORE, P. VAN HEERDE (1994a.): Histologic classification and immunophenotyping of canine nonHodgkin's lymphomas: unexpected high frequency of T cell lymphomas with B cell morphology. *Experimental Hematology*, 22: 1179 – 1187.
49. TESKE, E. (1994.): Canine malignant lymphoma: A review and comparison with human non hodgkin's lymphoma. *Veterinary Quarterly*, 16: 4, 209 – 219.
50. THOMAS R., H. J. WANG, P.-C. TSAI, C. F. LANGFORD, S. P. FOSMIRE, C. M. JUBALA, D. M. GETZY, G. R. CUTTER, J. F. MODIANO, M. BREEN (2009.): Influence of genetic background on tumor karyotypes: evidence for breed-associated cytogenetic aberrations in canine appendicular osteosarcoma. *Chromosome Research*, 17 (3): 365 – 377.
51. THOMAS, R., E. L. SEISER, A. MOTSINGER-REIF, L. BORST, V. E. VALLI, K. KELLEY, S. E. SUTER, D. ARGYLE, K. BURGESS, J. BELL, K. LINDBLAD-TOH, J. F. MODIANO, M. BREEN (2011.): Refining tumor-associated aneuploidy through 'genomic recoding' of recurrent DNA copy number aberrations in 150 canine non-Hodgkin lymphomas. *Leukemia & Lymphoma*, Jul; 52 (7): 1321 – 1335.
52. TWEDT, D. C. (1998.): Reactive Hepatopathies and Chronic Hepatitis in the Dog. *Veterinary Quarterly*, 20: supplement 1, S46 – S47.
53. VAIL, D. M., K. M. YOUNG (2007.): Hematopoietic tumors. U: *Small animal clinical oncology*, 3rd Edition, (Withrow, S. J., D. M. Vail, ur.), Saunders Elsevier, St. Louis, str. 699 – 716.

54. VALLI, V. E., M. SAN MYINT, A. BARTHEL, D. BIENZLE, J. CASWELL, F. COLBATZKY, A. DURHAM, E. J. EHRHART, Y. JOHNSON, C. JONES, M. KIUPEL, P. LABELLE, S. LESTER, M. MILLER, P. MOORE, S. MOROFF, P. ROCCABIANCA, J. RAMOS-VARA, A. ROSS, T. SCASE, H. TVEDTEN., W. VERNAU (2011.): Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. *Veterinary Pathology*, Jan; 48 (1): 198 – 211.
55. VALLI, V. E., P. H. KASS, M. SAN MYINT, F. SCOTT (2013.): Canine Lymphomas: Association of Classification Type, Disease Stage, Tumor Subtype, Mitotic Rate, and Treatment With Survival. *Veterinary Pathology*, 50 (5): 738 – 748.
56. VEZZALI, E., A. L. PARODI, P. S. MARCATO, G. BETTINI (2010.): Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. *Veterinary and Comparative Oncology*, Mar; 8 (1): 38 – 49.
57. VILLAMIL, J. A., C. J. HENRY, A. W. HAHN, J. N. BRYAN, J. W. TYLER, C. W. CALDWELL (2009.): Hormonal and sex impact on the epidemiology of canine lymphoma. *Journal of Cancer Epidemiology*, 2009; 2009: 591753.
58. WAUGH, E. M., A. GALLAGHER, K. A. MCAULAY, J. HENRIQUES, M. ALVES, A. J. BELL, J. S. MORRIS, R. F. JARRETT (2015.): Gammaherpesviruses and canine lymphoma: no evidence for direct involvement in commonly occurring lymphomas. *Journal of General Virology*, 96, 1863 – 1872.
59. WIGGANS, K. T., K. A. SKORUPSKI, C. M. REILLY, S. A. FRAZIER, R. R. DUBIELZIG, D. J. MAGGS (2014.): Presumed solitary intraocular or conjunctival lymphoma in dogs and cats: 9 cases (1985-2013). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Feb; 15; 244 (4): 460 – 70.
60. WILKERSON, M. J., K. DOLCE, T. KOOPMAN, W. SHUMAN, R. CHUN, L. GARRETT, L. BARBER, A. AVERY (2005.): Lineage differentiation of canine lymphoma/leukemias and aberrant expression of CD molecules. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Jul 15; 106 (3 – 4): 179 – 96.
61. ZACHARY, J. F., MCGAVIN, M. D. (2008): Specijalna veterinarska patologija, Poglavlje 7: Koštana srž, krvne stanice i limfatički sustav, Stanek, Varaždin, 443 – 533.



62. ZANDVLIET, M. (2016.): Canine lymphoma: a review. *Veterinary Quarterly*, 36: 2, 76 – 104.
63. ZHAO, D., R. YAMAGUCHI, S. TATEYAMA, Y. YAMAZAKI, H. OGAWA (1993.): Bilateral renal lymphosarcoma in a dog. *Journal of Veterinary Medical Science*, Aug; 55 (4): 657 – 9.

## 9. SAŽETAK

### **Mavro Matasović: Komparativna analiza limfoma pasa dijagnosticiranih na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu**

Limfomi u pasa predstavljaju skupinu neoplastičnih bolesti koje nastaju klonalnom ekspanzijom stanica limfoidne linije u centralnim ili perifernim limfnim tkivima te se potom mogu širiti u ostala tkiva. Limfomi su najčešći tumori hematopoetskog sustava u pasa te kao takvi imaju veliki klinički značaj u veterinarskoj medicini. Dijagnostika limfoma u pasa provodi se na temelju različitih pretraga poput citološke, histopatološke, imunocitokemijske i imunohistokemijske pretrage te uporabom molekularnih metoda dijagnostike. Usprkos sve većeg fokusa znanstvene zajednice na ovo područje, epidemiologija limfoma u pasa još je nedovoljno istražena, posebice u Republici Hrvatskoj, zbog različitih izazova s kojima se epidemiolozi susreću u svojem znanstvenom radu u veterinarskoj medicini. U ovom istraživanju provedena je analiza dostupnih podataka o dijagnozama limfoma u pasa postavljenim na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu između 2009. i 2021. godine. Raspodjela pasa s limfomima s obzirom na dob, spol i čistokrvnost pasmine u skladu je s postojećom literaturom. Usporedbom brojnosti pasa određenih pasmina s limfomom i brojnosti pasa odgovarajućih pasmina u Issa Vams Tec sustavu procijenjena je predispozicija određenih pasmina za razvitak limfoma. Visoku predispoziciju prema tim podacima pokazali su bulmastif, shar pei i samojed, a malu su pokazali jorkširski terijer, zapadnoškotski bijeli terijer i maltezer. Cjelovitih dijagnoza psećih limfoma, prema trenutno preporučenim sustavima klasifikacije, postavljenih na Zavodu za veterinarsku patologiju bilo je malo, vjerojatno zbog nevoljkosti vlasnika da plate pretrage. Zbog toga, u daljnjim istraživanjima epidemiologije psećih limfoma na području Republike Hrvatske autor preporučuje pretragu uzoraka arhiviranih na Zavodu za veterinarsku patologiju.

Ključne riječi: limfom, pas, Republika Hrvatska, epidemiologija

## **10. SUMMARY**

### **Mavro Matasović: Comparative Analysis of Canine Lymphomas Diagnosed at the Department of Veterinary Pathology of the Veterinary faculty of the University of Zagreb**

Lymphomas in dogs represent a group of neoplastic diseases that arise from the clonal expansion of cells of the lymphoid lineage in central or peripheral lymphatic tissues and can then spread to other tissues. Lymphomas are the most common tumors of hematopoietic system in dogs and as such they have great clinical significance in veterinary medicine. Diagnosis of lymphoma in dogs is carried out on the basis of various examinations such as cytological, histopathological, immunocytochemical and immunohistochemical examinations, and the use of molecular diagnostic methods. Despite the increasing focus of the scientific community on this area, the epidemiology of lymphoma in dogs is still insufficiently researched, especially in the Republic of Croatia, due to the various challenges that epidemiologists face in their scientific work in veterinary medicine. In this research, an analysis of available data on lymphoma diagnoses in dogs made at the Department of Veterinary Pathology of the Veterinary Faculty of the University of Zagreb between 2009 and 2021 was carried out. The distribution of dogs with lymphomas with regard to age, sex and breed purity is in accordance with the existing literature. By comparing the number of dogs of certain breeds with lymphoma and the number of dogs of the corresponding breeds in the Issa Vams Tec system, the predisposition of certain breeds to the development of lymphoma was assessed. Bullmastiff, Shar Pei and Samoyed showed a high predisposition according to these data, while Yorkshire terrier, West Scottish white terrier and Maltese showed a low predisposition. Complete diagnoses of lymphoma in dogs, according to the currently recommended classification systems, made at the Department of Veterinary Pathology were few, probably due to the owners' reluctance to pay for tests. For this reason, in further research on the epidemiology of canine lymphoma in the Republic of Croatia, the author recommends performing examination of the samples archived at the Department of Veterinary Pathology.

Key words: lymphoma, dog, Republic of Croatia, epidemiology

## **11. ŽIVOTOPIS**

Mavro Matasović rođen je 14. 7. 1996. godine u Zagrebu. 2011. godine završio je Osnovnu školu Izidora Kršnjavog, a 2015. godine Klasičnu gimnaziju u Zagrebu. Iste je godine upisao Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. 2020. godine opredijelio se za smjer Javno zdravlje i sigurnost hrane.