

# Pregled kazuistike tumora mliječne žlijezde kuja na Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta u razdoblju od 2016. do 2018. godine

---

Marjanović, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:000990>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-09**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

Katarina Marjanović

PREGLED KAZUISTIKE TUMORA MLIJEČNE ŽLIJEZDE KUJA NA KLINICI ZA  
PORODNIŠTVO I REPRODUKCIJU VETERINARSKOG FAKULTETA U RAZDOBLJU  
OD 2016. DO 2018. GODINE

DIPLOMSKI RAD

ZAGREB, listopad 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

KLINIKA ZA PORODNIŠTVO I REPRODUKCIJU

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod stručnim vodstvom mentora izv. prof. dr. sc. Silvijo Vince i doc. dr. sc. Ivan Folnožić.

Predstojnik: prof. dr. sc. Marko Samardžija, dr. med. vet

Mentor: izv. prof. dr. sc. Silvijo Vince

doc. dr. sc. Ivan Folnožić

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Doc. dr. sc. Branimira Špoljarić
2. Izv. prof. dr. sc. Silvijo Vince
3. Doc. dr. sc. Ivan Folnožić
4. Prof. dr. sc. Marko Samardžija

## **ZAHVALA**

Želim zahvaliti svojim mentorima, izv. prof. dr. sc. Silviju Vinceu i doc. dr. sc. Ivanu Folnožiću na puno pomoći i strpljenja koje su mi pružili tijekom pisanja ovog rada. Zahvaljujem doc. dr. sc. Branimiru Špoljarić na savjetima i pomoći s literaturom koju sam koristila za izradu diplomskog rada. Zahvaljujem svim zaposlenicima Klinike za porodništvo i reprodukciju na svim vještinama i znanju koje su nesebično prenijeli na mene.

Zahvaljujem svim prijateljima s kojima sam od prvog do zadnjeg dana provodila sve pauze uz kavu i razgovore, s kojima sam učila za kolokvije i ispite i s kojima sam proživljavala akademske i životne uspjehe i neuspjehe. Oni su učinili moje studentske dane nezaboravnim.

Zahvaljujem se cijeloj svojoj obitelji, posebno roditeljima na apsolutnoj potpori i vjeri u mene.

Bez njih nikad ne bih ostvarila svoje ciljeve.

Hvala, vama posvećujem ovaj diplomski rad.

## **POPIS KORIŠTENIH KRATICA**

RTG – rendgenska pretraga

T1 – kranijalna torakalna mliječna žlijezda

T2 – kaudalna torakalna mliječna žlijezda

A1 – kranijalna abdominalna mliječna žlijezda

A2 – kaudalna abdominalna mliječna žlijezda

I – ingvinalna mliječna žlijezda

VEGF-A – vaskularni endotelni faktor rasta A

FGF – faktor rasta fibroblasta

ER – estrogenski receptori

GH – hormon rasta

GHR – receptori hormona rasta

EMT – epitelno mezenhimalna tranzicija

OVH – ovariohisterektomija

OVT – ovariektomija

COX – enzim ciklooksigenaza

COX-2 – enzim ciklooksigenaza 2

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA .....	2
2.1. ANATOMIJA MLIJEČNE ŽLIJEDE KUJA .....	2
2.2. OPĆENITO O TUMORIMA – POJMOVI I DEFINICIJE.....	3
2.3. OSNOVE BIOLOGIJE TUMORA – MUTACIJE I EPIGENETSKE PROMJENE, HETEROGENOST, PROGRESIJA I KLONALNA EVOLUCIJA .....	3
2.4. OBILJEŽJA MALIGNOSTI .....	4
2.4.1. Samoodrživost u proliferaciji: protoonkogeni i onkogeni .....	4
2.4.2. Neosjetljivost na stanične supresore rasta.....	5
2.4.3. Izbjegavanje programirane stanične smrti .....	5
2.4.4. Neograničeni potencijal replikacije .....	5
2.4.5. Stimulacija angiogeneze .....	5
2.4.6. Invazivnost i metastaze .....	6
2.4.7. Promjena staničnog metabolizma .....	7
2.5. TUMORI MLIJEČNE ŽLIJEZDE U PASA .....	8
2.5.1. Epidemiologija.....	8
2.5.2. Rizični čimbenici .....	8
2.5.3. Patogeneza – hormoni i hormonski receptori .....	9
2.5.4. Histopatološka klasifikacija tumora mliječne žlijezde .....	10
2.5.5. TMN klasifikacija tumora.....	10
2.5.6. Histopatološki stupanj malignosti.....	11
2.6. LIJEČENJE .....	12
2.6.1. Kirurško uklanjanje.....	12
2.6.2. Adjuvantna terapija .....	13
3. MATERIJALI I METODE .....	14
3.1. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA .....	15
4. REZULTATI.....	16
5. RASPRAVA.....	27
6. ZAKLJUČCI.....	30
7. LITERATURA.....	31
8. SAŽETAK.....	38

9. SUMMARY .....	39
10. ŽIVOTOPIS .....	40

## 1. UVOD

Pojavnost tumora u svijetu raste kako u ljudi tako i u kućnih ljubimaca (PINHO i sur., 2012.). Tumori mliječnih žlijezda jedna su od najčešćih neoplazmi u kuja. Ovi procesi su vrlo slični onima koji se javljaju u žena, iako je incidencija u pasa tri puta veća (MOE, 2001.). Psi dijele veći udio svog genoma s ljudima u odnosu na glodavce i stoga predstavljaju bolji model za proučavanje tumora dojke u žena (PINHO i sur. 2012.). Pojavnost tumora mliječne žlijezde varira između pojedinih zemalja zbog kulture ranog kastriranja kuja. Tumori mliječne žlijezde mogu biti benigni i maligni, ali benigni mogu maligno alterirati. Maligni tumori često imaju lošiju prognozu zbog veće mogućnosti recidiva, pojave metastaza, potrebnog operativnog liječenja i adjuvantnih terapija. Histopatološka analiza i stupanj malignosti bitno utječu na odabir metode liječenja i prognozu. Tvorbe na mliječnim žlijezdama uglavnom su okruglasti noduli različite veličine, konzistencije i pomičnosti na podlozi, mogu se javiti i u upalnom ili ulcerativnom obliku. Svim kujama s tvorbama na mliječnim žlijezdama, prije operativnog zahvata mora se uzeti opsežna ginekološka anamneza i napraviti klinički pregled koji obuhvaća detaljni pregled svih mamarnih kompleksa i regionalnih limfnih čvorova. Kako bi se utvrdila prisutnost metastatskih promjena, koje se najčešće nalaze u plućima, potrebno je učiniti rendgensku pretragu prsnog koša u više projekcija. Metastatske promjene mogu se RTG uočiti ako su veće od 6 do 8 mm (CASSALI i sur., 2011.).

Cilj ovog istraživanja bio je istražiti pojavnost tumora mliječne žlijezde u kuja zaprimljenih na Kliniku za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu kako bi se utvrdile karakteristike tumora s obzirom na dob, pasminu, vrijednosti hematoloških i biokemijskih pokazatelja, veličinu, tip i stupanj malignosti tumora.



## **2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA**

### **2.1. ANATOMIJA MLIJEČNE ŽLIJEDE KUJA**

Mliječne žlijezde su modificirane apokrine kožne žlijezde (GEREŠ, 2012.), tj. modificirane znojne žlijezde egzokrinog tubuloalveolarnog tipa. U kuja, mliječna žlijezda u pravilu sadrži deset mamarnih kompleksa, po pet sa svake strane, složenih u dva bilateralno simetrična niza s obje strane medijalne linije na ventralnoj strani prsa i trbuha (BRAGULLA i KÖNIG, 2009.). Mamarni kompleksi nazivaju se prema svom anatomskom položaju: kranijalni torakalni (T1), kaudalni torakalni (T2), kranijalni abdominalni (A1), kaudalni abdominalni (A2) i ingvinalni (I). Međutim postoje anatomske varijacije (EVANS, 2013.). Unutrašnja struktura sastavljena je od apokrinog žljezdanog epitela koji čini alveole, sustava izvodnih kanalića i kanala okruženih kontraktilnim mioepitelnim stanicama, sinusa, sisnih kanala (8-22) i otvora, vezivnog tkiva (stroma) te krvnih i limfnih žila i živaca. Arterijska krv koja opskrbljuje torakalne mamarne komplekse dolazi granama unutarnjih torakalnih, interkostalnih i lateralnih torakalnih (T7 – T13) arterija. U kranijalni abdominalni mliječni kompleks arterijska krv dolazi iz kranijalne superficijalne epigastrične arterije i grana kaudalne interkostalne arterije, dok kaudalni abdominalni i ingvinalni mamarni kompleks snabdijeva kaudalna superficijalna epigastrična arterija. Dvije epigastrične arterije stvaraju anastomoze u području pupka. Limfa se iz kranijalnog i kaudalnog torakalnog te kranijalnog abdominalnog mamarnog kompleksa drenira u ipsilateralni aksilarni limfni čvor, dok se iz kaudalnog abdominalnog i ingvinalnog mamarnog kompleksa drenira u ipsilateralni ingvinalni limfni čvor. Ponekad se međutim limfni sustavi između kranijalnih i kaudalnih partija spajaju te se limfa iz kranijalnih kompleksa drenira u ingvinalni limfni čvor i na taj način omogućuje širenje tumorskih stanica između kranijalnih i kaudalnih mamarnih kompleksa. (SILVER, 1966.).

## **2.2. OPĆENITO O TUMORIMA – POJMOVI I DEFINICIJE**

Tumor (lat. oteklina, bujanje) je pojam koji se koristi za opis svake mase na tijelu, može biti benignog i malignog karaktera. Neoplazija je ispravan stručni termin koji opisuje patološki proces abnormalnog rasta stanica. Pojam „rak“ se odnosi na maligni tumor ili neoplaziju. Onkologija je znanost koja proučava tumore tj. neoplazije. Zajedničko obilježje svih navedenih stanja je nekontroliran rast i proliferacija stanica, uglavnom na štetu samog domaćina. Generalno je prihvaćeno, da većina prirodno nastalih tumora nastaje transformacijom jedne prekursorske ili matične stanice (DOBSON, 2011.).

## **2.3. OSNOVE BIOLOGIJE TUMORA – MUTACIJE I EPIGENETSKE PROMJENE, HETEROGENOST, PROGRESIJA I KLONALNA EVOLUCIJA**

Tumor je bolest genoma, proizlazi iz izmjena DNA različite etiologije koje narušavaju strukturu ili funkciju gena (GARRAWAY i LANDER, 2013.). Mutacije, bilo genske, bilo kromosomske, mogu nastati spontano tijekom života ili mogu biti inducirane nekim vanjskim agensima koje mogu oštetiti DNA, kao što su određeni mikroorganizmi (npr. retrovirusi, *Helicobacter pylori*), radijacija (terapijska, dijagnostička, okolišna), UV svjetlo i kemijske tvari (aromatski amini, azo boje, alkilirajući reagensi) (DOBSON, 2011.). Ponekad je mutacija jednog para baza dovoljna da dovede do promjene određene aminokiseline koja dovodi do promjene funkcije proteina koja povećava rizik od neoplastične transformacije (CULLEN i BREEN, 2017.). Pet ili šest mutacija smatra se minimalnim vjerojatnim brojem mutacija potrebnim da nastane tumor (LEY, 2008.). Mutacije nisu jedini način nastanka tumora (TIMP i FEINBERG, 2013.). Epigenetski mehanizmi reguliraju ekspresiju gena bez izazivanja strukturalnih promjena genoma i igraju ulogu u malignoj transformaciji (YOU i JONES, 2012.). Epigenetske promjene su reverzibilne, nasljedne promjene ekspresije gena bez mutacije genoma. Tri su glavna oblika epigenetske regulacije gena: metilacija DNA, modifikacija histona – acetilacija i RNA interferencija. Epigenetskim mehanizmima ekspresija gena se može utišati, umanjiti ili povećati. Stoga, da bi se stanica iz normalne transformirala u tumorsku, mora proći kroz višekratne genetske i epigenetske alteracije. Rast tumora započinje klonalnom ekspanzijom neoplastično promijenjene stanice (CULLEN i BREEN, 2017.). U početku su sve stanice neoplastične mase identične. Tumorske se stanice zbog genetskog i epigenetskog

utjecaja mijenjaju što tijekom vremena povećava njihovu heterogenost. Replikacijom se pojavljuju subklonovi koji su više lokalno agresivni, s većom vjerojatnosti metastaziranja i manjim odgovorom na terapiju (BURRELL i McGRANAHAN, 2013.). Do trenutka otkrivanja suvremenim metodama snimanja, većina malignih neoplazija sastoji se od heterogene populacije stanica i završile su veći dio svoga rasta. Naime, jedna maligno transformirana stanica mora proći najmanje trideset mitozama kako bi se formirala tumorska masa, mase otprilike 1 g, što se smatra „cut-off“ veličinom za kliničku detekciju, ali do težine tumorske mase od 1 kg, mora proći otprilike još samo 10 mitozama (CULLEN i BREEN, 2017.).

## 2.4. OBILJEŽJA MALIGNOSTI

Pod obilježjima malignosti (eng.hallmarks of cancer) smatra se šest glavnih obilježja koja su zajednička svim stanicama malignih tumora u tijelu čovjeka ili životinje a uključuju: samoodrživost u proliferaciji, neosjetljivost na stanične supresore rasta, izbjegavanje programirane stanične smrti, neograničeni potencijal replikacije, stimulaciju angiogeneze, invazivnost i metastaziranje (HANAHAHAN i WEINBERG, 2000.). U zadnje vrijeme, osnovnim obilježjima malignosti pridodane su „omogućavajuće karakteristike“ (eng.enabling characteristics) - genomska nestabilnost i kronična upala i „sve prominentnija obilježja“ (eng.emerging hallmarks) – promjena staničnog metabolizma i izbjegavanje imunološkog odgovora (HANAHAHAN i WEINBERG, 2011.).

### 2.4.1. Samoodrživost u proliferaciji: protoonkogeni i onkogeni

Najvažnija promjena u malignoj transformaciji stanice je sposobnost za kroničnu proliferaciju (MODIANO, 2013.). U svakoj se stanici fiziološki nalaze geni koji kodiraju proteine za regulaciju staničnog rasta i proliferacije i nazivaju se protoonkogeni. Proteini koje oni kodiraju nazivamo protoonkoproteinima. Otkriveno je oko 100 različitih protoonkogenata (GRABAREVIĆ, 2002.). Ukoliko protoonkogeni mutiraju, postaju neovisni o okolišnim signalima, dobivaju sposobnost neovisne stimulacije staničnog rasta. Tada se protoonkogeni nazivaju onkogenima (MODIANO, 2013.), a proteini koje oni kodiraju onkoproteinima. Fenotipska manifestacija navedenog se uočava kao povećani mitotski indeks (CULLEN i BREEN, 2017.).

#### 2.4.2. Neosjetljivost na stanične supresore rasta

Supresori staničnog rasta nazivaju se tumor supresorskim genima jer sprječavaju proliferaciju stanica s izmijenjenim genetskim materijalom (tumorskih stanica). Kada dođe do njihove inaktivacije, gubi se sposobnost regulacije proliferacije, i one se umnažaju. Najpoznatiji su RB gen koji inhibira ulazak stanice u S fazu staničnog ciklusa i TP53 gen koji prepoznaje genetski promijenjene stanice i stanice koje su pretrpjele hipoksiju te im onemogućava ulazak u S fazu kako bi se dobilo na vremenu ili za popravak stanične DNA ili za pokretanje procesa programirane stanične smrti (CULLEN i BREEN, 2017.).

#### 2.4.3. Izbjegavanje programirane stanične smrti

Apoptoza ili programirana stanična smrt krajnja je sudbina svih živih stanica u tijelu. Izbjegavanje apoptoze u tumorski promijenjenoj stanici dešava se kod suprimiranja proapoptotičkih gena ili pojačavanja funkcije antiapoptotičkih gena (MODIANO, 2013.).

#### 2.4.4. Neograničeni potencijal replikacije

Prilikom replikacije kromosoma u tumorski nepromijenjenim somatskim stanicama, telomere, krajevi kromosoma koji se sastoje od ponavljajuće sekvence baza, se prilikom svake diobe skraćuju. Kada skraćivanje telomera dosegne kritičnu točku, sprječava se daljnja dioba stanice. U spolnim, matičnim i tumorskim stanicama, za razliku od somatskih, aktivan je enzim telomeraza, koji dodaje nove sekvence na krajeve kromosoma prilikom svake replikacije DNA i na taj način sprječava skraćivanje telomeraza i omogućava staničnu besmrtnost (OLOVNIKOV, 1996.).

#### 2.4.5. Stimulacija angiogeneze

Pod angiogenezom se smatra formiranje novih krvnih žila. Fiziološki je angiogeneza povezana s rastom tkiva, reparacijom i reproduktivnim ciklusom. U odraslom, potpuno formiranom organizmu smatra se rijetkim događajem. Prethodnim istraživanjima je dokazano, da za rast tumora iznad veličine 2 mm jednostavna difuzija ne omogućava dovoljnu opskrbu

stanica kisikom i nutrijentima te mora doći do stvaranja novih krvnih žila (STEPHENSON i sur., 2003.). Tumorske stanice luče faktore rasta kao što su vaskularni endotelni faktor rasta A (VEGF-A), faktor rasta fibroblasta (FGF) ili stimuliraju druge stanice na otpuštanje čimbenika rasta koje stimuliraju rast novih krvnih žila (CULLEN i BREEN, 2017.).

#### 2.4.6. Invazivnost i metastaze

Metastaziranje je pojam koji se odnosi na mogućnost tumorskih stanica da napuste primarni tumor, prodru u krvne ili limfne žile, putuju krvi ili limfom, napuste krvnu ili limfnu žilu i započnu svoj razvoj na udaljenom mjestu (FIDLER, 2003.). Samo je mali dio stanica u mogućnosti dovršiti taj postupak (TALMADGE i FIDLER, 2010.). Osim hematogenog i limfogenog načina metastaziranja, postoji i metastaziranje stanica direktnim kontaktom. Kod hematogenog širenja, tumorske stanice ulaze u krv direktnom invazijom krvne žile ili indirektno, ulijevanjem limfe u venozni sustav (v.cava caudalis). Metastatski embolusi primarnih tumora, ovisno o njihovoj anatomskoj lokaciji, mogu se drenirati ili u venu cavu ili u portalnu venu te se zaustavljaju u prvoj kapilarnoj mreži s kojom se susretnu, u plućima ili u jetri. Limfne žile pružaju manje otpora ulasku tumorskih stanica zbog nedostatka bazalne membrane. Tumorske stanice mogu potom biti ili zaustavljene u regionalnom limfnom čvoru ili ga mogu premostiti stvarajući udaljenje metastaze. Metastaziranje stanica direktnim kontaktom (transcelomično metastaziranje) odvija se direktnim kontaktom seroznih površina u tjelesnim šupljinama i često je popraćeno akumulacijom tekućine u trećim prostorima. Puno se koraka treba odviti prilikom transformacije neinvazivnoga (in situ) karcinoma u metastatski karcinom. Dio stanica primarnog karcinoma mora se najprije odvojiti od ostatka stanica i prihvatiti se za bazalnu membranu krvne žile. Zatim mora započeti proizvodnju hidrolitičkih enzima kojima narušava njezinu strukturu i aktivno migrira kroz ekstracelularni matriks u krvnu ili limfnu žilu. Ulazak tumorske stanice u krv ili limfu naziva se invazija. Budući da limfne žile nemaju bazalnu membranu, tumorskim stanicama je lakše ući u limfnu, nego u krvnu žilu. Ulazak tumorskih stanica u žilu ne garantira nastanak metastatskih promjena. Nakon ulaska u krvotok ili limfotok, nailazi na veliki imunološki otpor organizma domaćina. Kako bi ga izbjegle, tumorske stanice razvile su određene mehanizme kao što je interferencija s fibrinom i trombocitima i stvaranje tumorskog embolusa, u kojem je tumorska stanica okružena vlastitim stanicama domaćina i na taj način ju imunološki sustav ne prepoznaje kao stranu. Zadnji korak ove faze je ekstravazacija tumorskih stanice (CULLEN i BREEN, 2017.).

Karcinomi su tumori epitelnog podrijetla, tj. grade ih epitelne stanice koje stvaraju čvrste spojeve sa susjednim stanicama. Kako bi uopće moglo doći do metastaziranja, dio stanica primarnog tumora se od ostatka mora najprije odvojiti. Kako bi se odvojile, prolaze proces koji se naziva epitelijalno-mezenhimalna tranzicija (EMT). EMT je stanični proces tijekom kojeg se epitelna stanica transformira u mezenhimalnu (CAMPBELL, 2018.). Do sada se smatralo da se stanice koje podlegnu EMT-u potpuno iz epitelne transformiraju u mezenhimalnu (HAY, 2005.). Međutim, novije studije pokazuju da to nije u potpunosti „ili-ili“, već puno fluidniji proces tranzicije, u kojem epitelne stanice poprimaju određena obilježja mezenhimalnih i često se nalaze u nekom stanju između potpuno epitelne i potpuno mezenhimalne stanice (CAMPBELL i CASANOVA, 2016.). Prilikom EMT-a, epitelne stanice gube apikalno-bazalni polaritet i stabilne međustanične veze, a za to se najviše odgovornim smatra transkripcijska represija adhezina E-kadherina ili njegova promjena u neki drugi oblik. (CAMPBELL, 2018.).

Kako bi došlo do ekstravazacije tumorske stanice treba najprije doći do adhezije stanica za endotelne stanice ili za bazalnu membranu. Prihvat tumorskih stanica na određenom mjestu može biti slučajan ili uvjetovan receptor-ligand vezanjem ili privlačenjem tumorskih stanica specifičnim kemokinima koje luče određeni organi (BALKWILL, 2004.). Kada tumorska stanica dođe na novo potencijalno mjesto nastanka tumora, kako bi preživjela, mora proći kroz dovoljno novih mutacija koje će omogućiti da se mikro metastaza može umnožavati u novom okruženju. Nemogućnost podržavanja angiogeneze čest je limitirajući faktor rasta tumora na novim mjestima. Primarni tumori također mogu lučiti inhibitorne čimbenike koji suprimiraju rast metastatskog tumora (CULLEN i BREEN, 2017.).

#### 2.4.7. Promjena staničnog metabolizma

Tumorske stanice tijekom svoje masivne proliferacije energiju, unatoč dovoljnoj koncentraciji kisika, umjesto aerobnom oksidativnom fosforilacijom dobivaju anaerobnom glikolizom. Taj fenomen se naziva Warburgov efekt (ZONG, 2016.).

## 2.5. TUMORI MLIJEČNE ŽLIJEZDE U PASA

### 2.5.1. Epidemiologija

Tumori mliječne žlijezde kuja najučestaliji su tumor u populaciji nekastriranih kuja (EGENVALL i sur., 2005.). Predstavlja 50% do 70% svih tumora u intaktnih kuja (MOE, 2001.). Od toga je otprilike 50% malignih. Prosječna dob dijagnosticiranja je 8 godina (DOBSON i sur., 2002.).

### 2.5.2. Rizični čimbenici

Tri su glavna rizična čimbenika bitna kod tumora mliječnih žlijezdi: starost životinje, utjecaj spolnih hormona i pasmina. Također, riziku pridonose, ali u manjem obimu i prehrana te tjelesna težina (SORENMO i sur. 2013.). Tumori mliječne žlijezde zahvaćaju najčešće srednje stare do starije pse (BRODEY i sur., 1983.), a iznimno se rijetko, naročito maligni, pojavljuju u pasa ispod 5 godina (SCHNEIDER, 1970.). Rizik se povećava sa starošću, s vrhuncem između 8. i 13. godine života (GOLDSCHMIDT, 2001.).

Većina tumora mliječnih žlijezdi u kuja može se prevenirati kastracijom. Kuje kastrirane prije prvog tjeranja imaju samo 0,5% rizik da će se u njih kasnije tokom života na mliječnoj žlijezdi razviti tumori. Protektivni učinak ovariohisterektomije (OVH) smanjen je prije drugog tjeranja, kada iznosi 8% i 26% nakon trećeg tjeranja. Nakon 4. godine protektivni učinak OVH je zanemariv (SCHNEIDER, 1969.). Glavne i ireverzibilne promjene koje hormoni jajnika učine na maternici dešavaju se rano u životu. Zbog tog se razloga smatra da ostale fiziološke hormonske fluktuacije (gravidnost, pseudogavidnost i porod) ne smatraju značajnim predisponirajućim čimbenicima za nastanak tumora mliječne žlijezde (BRODEY, 1966.). Farmakološka supresija estrusa egzogenim progestinima i estrogenima povećava rizik od razvoja tumora mliječne. Životinje kojima su davani progestini imaju 2,3 puta veći rizik za razvoja tumora (STOVRING, 1977.). Niske doze progestina promoviraju nastanak benignih tumora, dok kombinacija progestina i estrogena promovira razvoj malignih neoplazmi (MISDORP, 1991.). Tumori mliječne žlijezde češće se javljaju u čistokrvnih i malih pasmina pasa. (DORN, 1968.). Od malih pasmina, najrizičniji su pudli, čivave, jazavčari, jorkširski terijeri, maltezeri i koker španijeli. Od većih pasmina, povećan rizik nastanka tumora mliječne žlijezde javlja se u engleskih špringer španijela, engleskih setera, bretonskih španijela, njemačkih ovčara, pointera i dobermana (MOE, 2001.). Istraživanje na zatvorenoj populaciji

beaglova pokazalo je da dvije različite familijarne linije beaglova imaju različit rizik za razvoj tumora mliječne žlijezde. Ti rezultati idu u prilog hipotezi o utjecaju genetike na razvoj mamarnih tumora (SCHAFER, 1998.). Tjelesna težina u pubertetu (9 do 12 mjeseci) ima značajan utjecaj na rizik obolijevanja od tumora mliječnih žlijezdi kasnije tokom života. Smanjena tjelesna težina u tom periodu utječe na smanjen rizik od obolijevanja od mamarnih tumora (SONNENSCHNEIN i sur., 1991.). Pretilost i hranjenje „sa stola“ crvenim mesom povećava rizik razvoja tumora mliječnih žlijezda (ALENZA i sur., 1998.). Mehanizam djelovanja pripisuje se smanjenoj koncentraciji globulina koji veže spolne hormone te rezultira povećanom koncentracijom slobodnog estrogena. Također, adipozno tkivo predstavlja izvor pojačane produkcije estrogena putem aromataza posredovane konverzije androgena (CLEARY, 2009.).

### 2.5.3. Patogeneza – hormoni i hormonski receptori

Hormoni jajnika, estrogen i progesteron, osim što su nužni za normalan razvoj i sazrijevanje mliječne žlijezde, jedan su od najbitnijih čimbenika u patogenezi razvoja mamarnih tumora u pasa (SORENMO, 2013.). Estrogen vezanjem za estrogenske receptore (ER) pojačava proizvodnju faktora rasta što povećava proliferaciju stanica (PIKE, 1993.). Također, ima direktno genotoksično djelovanje – uzrokuje porast mutacija i aneuploidiju neovisno o ER (RUSSO, 2006.). Progesteron utječe na razvoj tumora mliječne žlijezde jer povećava sintezu hormona rasta (GH) i njegovih receptora (GHR) (SELMAN, 1994.). GH na mliječnu žlijezdu utječe direktno i indirektno preko inzulinu sličnog čimbenika rasta 1 (IGF-1) (MOL, 1997.). IGF-1 na epitelne stanice mliječne žlijezde djeluje dvojako, proliferativno i kao faktor preživljavanja te regulira ekspresiju brojnih gena uključenih u razvoj mamarnih tumora (LABAN, 2003.). Dok je uloga estrogena i progesterona u razvoju tumora mliječne žlijezde dobro istražena, postoji vrlo malo istraživanja o ulozi prolaktina. Prolaktin potiče proliferaciju, djeluje antiapoptotički, migratorno i ima pozitivan utjecaj na angiogenezu (CLEVENGER, 2003.). Maligni tumori imaju značajno veće tkivne koncentracije GH, IGF-1, progesterona i  $17\beta$  estradiola od benignih tumora. Također, stupanj povećanja korelira s važnim kliničkim i patološkim parametrima, kao što su brzina rasta, veličina i histopatološki tip (QUEIROGA i sur., 2010.). Tkivna koncentracija prolaktina, također je viša u benignih ili malignih tumora mliječne žlijezde nego u zdravim tkivima (QUEIROGA i sur., 2005.). Tumori mliječne žlijezde, progresivno se, pod utjecajem hormona razvijaju od benigne do invazivne maligne lezije (SORENMO, 2013.). Ekspresija receptora za estrogen, progesteron, prolaktin i za hormon rasta je značajno snižena u malignih mamarnih tumora u usporedbi s mamarnom hiperplazijom i



benignim mamarnim tumorima. Ekspresija ovisi i o podtipu tumora te manja je u malignijih tumorima s invanzivnim rastom, i kao takva, može poslužiti kao prognostički faktor (MOHR i sur., 2016.).

#### 2.5.4. Histopatološka klasifikacija tumora mliječne žlijezde

Histopatološki, tumori mliječne žlijezde dijele se na:

HIPERPLAZIJA/DISPLAZIJA	duktektazija, lobularna hiperplazija (regularna, sa sekretornom aktivnosti, s fibrozom, atipična), epitelioza, papilomatoza, fibroadenomatозна promjena, ginekomastija
BENIGNE NEOPLAZIJE	jednostavni adenom, intraduktalni papilarni adenom, duktalni adenom, duktalni adenom sa skvamoznom diferencijacijom, fibroadenom, mioepiteliom, kompleksni adenom, benigni mješoviti tumor
MALIGNNE EPITELNE NEOPLAZIJE	karcinom in situ, jednostavni karcinom (tubularni, tubulopapilarni, cistično papilarni i kribriformni), mikropapilarni invanzivni karcinom, solidni karcinom, komedokarcinom, anaplastični karcinom, karcinom u benignom adenomu, kompleksni karcinom, maligni mioepiteliom, mješoviti karcinom, duktalni karcinom, intraduktalni papilarni karcinom
MALIGNNE EPITELNE NEOPLAZIJE – POSEBNI TIPOVI	karcinom skvamoznih stanica, adenomatozni karcinom, mucinozni karcinom, sekretorni karcinom, spindle cell karcinomi, inflamatorni karcinomi
MALIGNI MEZENHIMALNI TUMORI – SARKOMI	osteosarkom, hondrosarkom, fibrosarkom, hemangiosarkom, ostali sarkomi
KARCINOSARKOMI	
NEOPLAZIJE BRADAVICE	adenomi, karcinomi, karcinomi s epidermalnom infiltracijom
HIPERPLAZIJA/DISPLAZIJA BRADAVICE	melanoza kože

Izvor: (GOLDSCHMIDT i sur., 2011.).

#### 2.5.5. TMN klasifikacija tumora

Prema TMN klasifikaciji, tumore klasificiramo s obzirom na veličinu primarnog tumora – T (eng.tumor size), zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova – N (eng.lymph node metastasis) i pristutnost udaljenih metastaza – M (eng.distant metastasis).

T1	R < 3cm
T2	R 3-5cm
T3	R > 5cm
T4	inflamatorni karcinom

N0	nema metastaza
N1	zahvaćeni ipsilateralni limfni čvorovi
N2	zahvaćeni kontralateralni limfni čvorovi

M0	nema udaljenih metastaza
M1	prisutnost udaljenih metastaza

Izvor: (OWEN, 1980.).

#### 2.5.6. Histopatološki stupanj malignosti

Stadij epitelnih tumora može se određivati i prema histopatološkom stupnju malignosti. Kriteriji koji se gledaju su formacija tubula, pleomorfizam jezgre i broj mitozu u 10 vidnih polja. Za svaki kriterij se dodjeljuje određen broj bodova, i prema ukupnom zbroju bodova, tumori se klasificiraju kao: 1.stupanj malignosti, nizak (3-5 bodova), 2.stupanj malignosti, srednji (6-7 bodova) i 3.stupanj malignosti, visok (6-9 bodova). Što je veći stupanj malignosti, kraće je vrijeme preživljavanja.

FORMIRANJE TUBULA	PLEOMORFIZAM JEZGRE	BR.MITOZA/10 VIDNIH POLJA
> 75% uzorka – 2 boda	jednake jezgre s pokojom jezgrićom – 1 bod	< 9 – 1 bod
10 – 75% uzorka – 2 boda	srednji stupanj varijacija u veličini i obliku jezgre, hiperkromatoza jezgre, prisutnost jezgrića – 2 boda	10 – 19 – 2 boda
< 10% uzorka – 3 boda	znatan stupanj varijacija u veličini jezgri, hiperkromatoza jezgre, s jednom ili više istaknutih jezgrića – 3 boda	> 20 – 3 boda

Izvor: (ELSTON i ELLIS, 1991.).

## 2.6. LIJEČENJE

### 2.6.1. Kirurško uklanjanje

Kirurška resekcija zlatni je standard u liječenju tumora mliječne žlijezde kuja. Opseg i tip operacije trebaju se prilagoditi svakom pacijentu individualno, ovisno o veličini primarnog tumora, lokaciji, pomičnost na podlozi, limfnoj drenaži i broju tumorskih promjena (PAPAZOGLU, 2014.). Kirurške opcije su lumpektomija ili nodulektomija, jednostavna ili jednostruka mastektomija, regionalna mastektomija, unilateralna i bilateralna mastektomija (CHANG, 2005.).

Lumpektomija ili nodulektomija indicirana je za kirurško uklanjanje benignih, čvrstih, pomičnih, malih tumora (<1 cm u promjeru). Lumpektomija malignih tumora obično dovodi do recidiviranja, i zato se ne preporuča. Jednostavna ili jednostruka mastektomija je uklanjanje jednog mamarnog kompleksa i indicirana je kod većih tumora koji se nalaze u sredini kompleksa i koji su vezani za kožu ili za podlogu. Regionalna mastektomija indicirana je kada nalazimo veće tumore na uzastopnim žlijezdama ili kad se nalaze između njih. Ona se temelji na konceptu da se zajedno uklanjaju svi mamarni kompleksi koji dijele venoznu i limfnu drenažu skupa s ipsilateralnim limfnim čvorom. (ALLEN, 1989.). Skupa se uklanjaju kranijalna torakalna, kaudalna torakalna i kranijalna abdominalna te kaudalna abdominalna i ingvinalna mliječna žlijezda. (CHANG, 2005.). Aksilarni limfni čvorovi se uklanjaju samo ako su povećani, nisu pomični na podlozi ili ako su citološki ili histološki invadirani tumorskim stanicama (PAPAZOGLU, 2014.). Unilateralna mastektomija podrazumijeva uklanjanje svih pet mamarnih kompleksa s jedne strane i indicirana je kada se tumori pojavljuju na više različitih nepovezanih žlijezdi. (ALLEN, 1989.). Ukoliko se više tumora pojavljuje na obje strane bijele linije preporuča se učiniti dvije unilateralne mastektomije u razmaku od 4 do 6 tjedana, ili, ukoliko je anatomske moguće pokriti nedostatak, učiniti istodobno bilateralnu mastektomiju (BARTELS i sur, 1978.). Unilateralna mastektomija se preporuča kao prevencija nastanka ipsilateralnih recidiva tumora nakon uklanjanja primarnog tumora jedne strane, jer se istraživanjima dokazalo da u kuja kojima je učinjena regionalna mastektomija, postotak recidiva ipsilateralno iznosi 58%, od kojih je 74% maligno (STRATMANN, 2008.). Bez obzira za koju vrstu mastektomije se kirurg odluči, kirurške margine moraju iznositi 1-2 cm zdravog tkiva (PAPAZOGLU, 2014.).

Utjecaj ovariohisterektomije (OVH) prilikom ili nedugo nakon mastektomije na nastanak recidiva tumora još uvijek nije jasan i istraživanja daju oprečne rezultate. Dok neki autori navode da OVH nema utjecaj na preživljavanje (PHILIBERT i sur, 2003.), drugi navode da je postotak preživljavanja nakon mastektomije veći, ako je OVH učinjena u isto vrijeme, ili u periodu od 2 godine prije mastektomije (SORENMO i sur., 2000.).

### 2.6.2. Adjuvantna terapija

Kemoterapija se može koristiti u pasa s malignim tumorima mliječne žlijezde kao dodatna terapija, najčešće u neoperabilnih, metastaziranih ili recidivirajućih tumora. Međutim, postoji jako malo informacija o učinkovitosti takve terapije (SORENMO, 2003.). U literaturi se najčešće spominje kombinacija doksorubicina i ciklofosfamida, ili pojedinačna primjena cisplatina ili karboplatina (CASSALI i sur, 2011.).

Povećana ekspresija enzima ciklooksigenaze 2 (COX-2) izražena je u pojedinim tumorima mliječne žlijezde i povezana je s povećanom agresivnošću i lošijom prognozom (CASSALI i sur, 2011.), odnosno kraćim vremenom preživljavanja (LAVALLE, 2009.). COX-2 inhibitori stoga se koriste kao dodatna terapija i kontrola u liječenju naprednih neoplastičnih procesa na mliječnoj žlijezdi u pasa (LAVALLE, 2009.). Postiže se poboljšanje kliničkih znakova i povećano vrijeme preživljavanja koristeći neselektivni COX inhibitor, piroksikam (SOUZA i sur, 2009.) ili selektivni COX-2 inhibitor, firokoksib (LAVALLE, 2009.). U inflamatornih karcinoma, kad kirurška resekcija nije moguća, korištenje piroksikama i firokoksiba djeluje palijativno i produžava vrijeme preživljavanja (CASSALI i sur, 2011.).

Prisutnost hormonskih receptora u tumorima mliječne žlijezde kuja navodi da hormonalna terapija može biti dodatni tretman u liječenju kao što je to slučaj u humanoj medicini (SORENMO, 2003.). Kastrirane kuje koje boluju od hormonski pozitivnog tumora mliječne žlijezde mogu se liječiti antiestrogenom tamoksifenom (TAVARES i sur, 2009.), iako su studije o njenoj učinkovitosti kontradiktorne. Međutim treba uvijek imati na umu jake nuspojave koje može izazvati, kao što su otečenje stidnice, vaginalni iscjedak, piometra i stump piometra (KITCHELL i sur, 1992. i MORRIS i sur, 1993.).

Radijacijska terapija rijetko se koristi u tretiranju tumora mliječnih žlijezda. Može se koristiti u palijativnom liječenju neoperabilnih i inflamatornih tumora, kao i za dodatnu terapiju kod nepotpuno reseciranih tumora (NOVOSAD, 2003.)

### 3. MATERIJALI I METODE

Fakultetsko vijeće Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu temeljem članka 40. Statuta Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na prijedlog Povjerenstva za etiku u veterinarstvu, na 27. redovitoj sjednici održanoj 20. veljače 2019. godine odobrilo je provođenje ovog istraživanja (klasa: 640-01/19-17/09, ur. broj: 251-61-44-19-02), sukladno Zakonu o zaštiti životinja (NN 102/2017).

U istraživanju su obrađeni arhivski podaci prikupljeni za vrijeme redovnog kliničkog rada Klinike za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u razdoblju od 01. siječnja 2016. do 31. prosinca 2018. Podaci o životinjama prikupljeni su uz pomoć aplikacije Vef. protokol. Aplikacija je razvijena za potrebe klinika Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, a korištene tehnologije su windows forms, Developer Express klijentske kontrole, CSLA i SQL server. Aplikacija radi kao centralizirani sustav evidencije pacijenata u klinikama. Moduli aplikacije su: evidencija kartica pacijenata sa svim pripadajućim podacima o pacijentu i liječenju, modul za studente, modul za komunikaciju između klinika i korisnika, izdavanje uputnica i transfer podataka između klinika i kartica. Sve kuje koje su tijekom navedenog razdoblja zaprimljene na Kliniku za porodništvo i reprodukciju s tvorbama na mliječnim žlijezdama bile su upisane u ambulantni protokol, uneseni su podaci o vlasniku, nacional i anamneza. Nakon općeg i specijalističkog ginekološkog pregleda pacijentima je ukoliko je bilo potrebe, propisana odgovarajuća terapija te su uz pristanak vlasnika upućeni na daljnju predoperativnu obradu. Predoperativna obrada je uključivala RTG dijagnostiku prsnog koša i abdomena te određivanje hematoloških i biokemijskih parametara krvi. S obzirom na rezultate pretraga i zahvaćenosti pojedinih mamarnih kompleksa suspektnim tumorskim promjena, a poštujući limfnu drenažu, kuje su podvrgnute odgovarajućem kirurškom zahvatu. U kuja koje prethodno nisu kastrirane, a prije uklanjanja tumora izvršena je ovariohisterektomija. Nakon kirurške ekscizije tvorbe su upućene na histopatološku dijagnostiku.

Analizirani podaci uključivali su pasminu životinje, dob, vrijednosti trijasa, hematološke i biokemijske parametre krvi, je li životinja kastrirana, RTG dijagnostiku eventualnih metastatskih promjena, veličinu i pomičnost tumora, histopatološku dijagnozu i stupanj malignosti. Potpuni podatci prikupljeni su za 64 kuje.

### **3.1. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA**

Statistička obrada podataka rađena je pomoću statističkog programa SAS 9.4. (Statistical Analysis Software 2002-2012 by SAS Institute Inc., Cary, USA ). Deskriptivna obrada podataka rađena je pomoću modula PROC MEANS i PROC FEQ. Grafikoni su napravljeni pomoću modula PROC SGPLOT.

#### 4. REZULTATI

Ukupno je prikupljeno podataka od 64 kuje zaprimljene na Klinici za porodništvo i reprodukciju, Veterinarskog fakulteta u razdoblju od 2016. do 2018. godine.

Tablica 1. Deskriptivni podatci starosti, veličine tumora i trijasa kuja s tumorom mliječne žlijezde zaprimljenih na Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta.

	SREDNJA VRIJEDNOST	MEDIAN	STANDARDNA DEVIJACIJA	MINIMALNE VRIJEDNOSTI	MAKSIMALNE VRIJEDNOSTI	KOEFICIJENT VARIJACIJE (%)
STAROST (godine)	10,5	11,0	2,6	2,0	16,0	25,3
VELIČINA TUMORA (cm)	4,3	3,0	4,4	0,2	20,0	101,7
TEMPERATURA (C°)	38,6	38,6	0,5	37,3	40,2	1,3
BILO	116,3	120,0	22,7	68,0	200,0	19,5
DISANJE	35,2	32,0	4,4	20,0	88,0	34,8

Tablica 2. Udjeli različitih pasmina kuja s tumorom mliječne žlijezde zaprimljenih na Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta.

PASMINA	UDIO (%)
KRIŽANA	30,7
MALTEŠKI PSIĆ	7,7
ENGLESKI KOKER ŠPANIJEL	6,1
LABRADOR RETRIVER	4,6
NJEMAČKI OVČAR	4,6
PEKINŠKI PSIĆ	4,6
SREDNJA PUDLICA	4,6
ZLATNI RETRIVER	4,6
BELGIJSKI OVČAR	3,0
FRANCUSKI BULDOG	3,0
JORKŠIRSKI TERIJER	3,0
ZAPADNO ŠKOTSKI TERIJER	3,0
OSTALO	20,5

Tablica 3. Ukupne prosječne vrijednosti hematoloških parametara kuja s tumorom mliječne žlijezde zaprimljenih na Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta.

	REFERENTNE VRIJEDNOSTI	SREDNJA VRIJEDNOST	MEDIAN	STANDARDNA DEVIJACIJA	MINIMALNE VRIJEDNOSTI	MAKSIMALNE VRIJEDNOSTI	KOEFICIJENT VARIJACIJE (%)
ERITROCITI ( $10^{12}/L$ )	5,5 - 8,5	6,8	6,8	1,0	4,8	9,0	15,4
HEMATOKRIT (%)	37 - 55	45,4	46,0	7,3	32,0	59,0	16,1
MCH (pg/stanica)	19 - 23	22,7	23,0	1,4	19,0	26,0	6,4
MCV (fL/stanica)	60 - 77	65,8	66,0	3,7	55,0	73,0	5,7
MCHC (pg/stanica)	320 - 360	346,6	348,0	11,6	322,0	379,0	3,3
RDW (%)		17,4	15,0	3,9	13,0	28,0	22,8
HEMOGLOBIN (g/L)	120 - 180	156,8	160,0	25,3	113,0	207,0	16,1
TROMBOCITI ( $10^9/L$ )	200 - 700	331,2	319,0	130,8	54,0	661,0	39,4
LEUKOCITI ( $10^9/L$ )	6 - 17	11,4	9,1	6,1	5,5	33,0	54,1
SEGMENTIRANI NEUTROFILI (%)	60 - 77	70,6	71,0	13,2	15,0	93,0	18,7
NESEGMENTIRANI NEUTROFILI (%)	0 - 1	6,8	2,0	17,0	0,0	72,0	250,3
LIMFOCITI (%)	12 - 33	20,9	19,0	9,9	4,0	45,0	47,4
MONOCITI (%)	3 - 10	3,5	2,0	2,8	1,0	12,0	80,9

Tablica 4. Ukupne prosječne vrijednosti biokemijskih parametara kuja s tumorom mliječne žlijezde zaprimljenih na Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta.

	REFERENTNE VRIJEDNOSTI	SREDNJA VRIJEDNOST	MEDIAN	STANDARDNA DEVIJACIJA	MINIMALNE VRIJEDNOSTI	MAKSIMALNE VRIJEDNOSTI	KOEFICIJENT VARIJACIJE (%)
UREJA (nmol/L)	3,3 - 8,3	5,8	5,4	2,7	2,0	18,7	47,1
KREATININ ( $\mu\text{mol}/L$ )	44 - 140	75,4	71,0	19,0	45,0	154,0	25,2
UKUPNI PROTEINI (g/L)	55 - 75	67,7	68,0	6,3	53,0	82,0	9,3
ALBUMINI (g/L)	26 - 33	30,7	30,5	4,6	20,0	39,0	15,0
ALANIN- AMINOTRANSFERAZA (U/L)	-88	64,0	42,0	68,1	22,0	399,0	106,3
ASPARTAT- AMINOTRANSFERAZA (U/L)	-82	33,0	27,0	20,8	13,0	129,0	106,3
GAMA-GLUTAMIL TRANSFERAZA (U/L)	0-6	5,6	5,0	3,1	1,0	12,0	55,1
KALCIJ (mmol/L)	2,1-3,1	2,5	2,5	0,2	2,3	2,9	8,4
C-REAKTIVNI PROTEIN (mg/L)	0-10,7	125,9	123,7	77,5	9,9	331,1	61,5

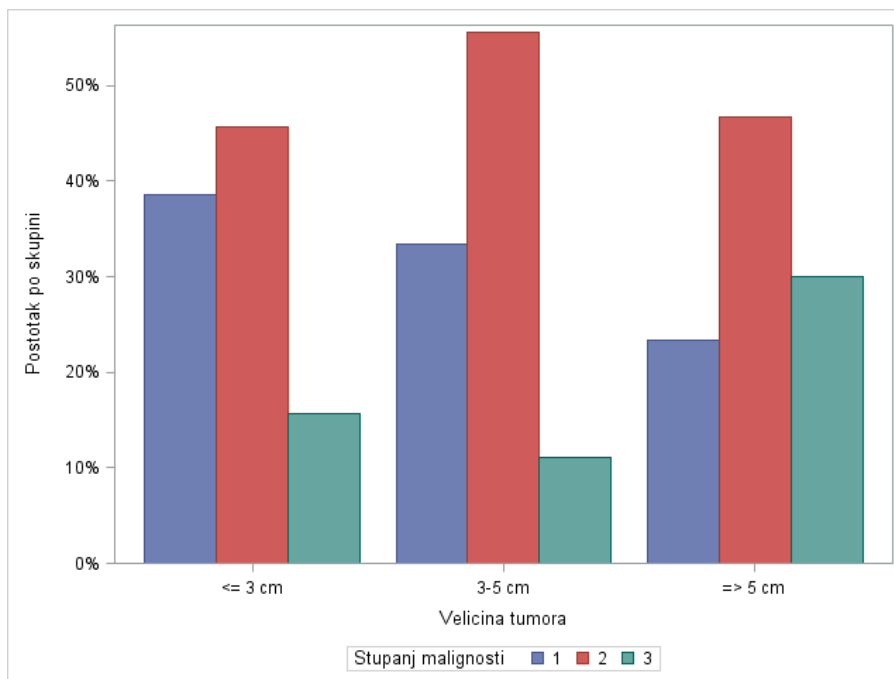


Tablica 5. Udjeli kuja s tumorom mliječne žlijezde prema normalnim, sniženim ili povišenim vrijednostima nekih hematoloških i biokemijskih parametara.

	NORMALNE VRIJEDNOSTI	SNIŽENE VRIJEDNOSTI	POVIŠENE VRIJEDNOSTI
ERITROCITI	77,4 %	22,6 %	
HEMATOKRIT	100 %	0 %	
HEMOGLOBIN	73,5 %	26,5 %	
TROMBOCITI	69,2 %	30,8 %	
LEUKOCITI	67,7 %	18,5 %	13,8 %
SEGMENTIRANI NEUTROFILI	38,5 %	29,2 %	32,3 %
NESEGMENTIRANI NEUTROFILI	47,0 %		53,0 %
UREJA I KREATININ	97,4 %		2,6 %
UKUPNI PROTEINI	69,2 %	24,6 %	6,2 %
ALBUMINI	41,5 %	36,9 %	21,6
ALANIN- AMINOTRANSFERAZA	95,0 %		5,0 %
ASPARTAT- AMINOTRANSFERAZA	92,5 %		7,5 %
GAMA-GLUTAMIL TRANSFERAZA	75,0 %		25,0 %
KALCIJ	100,0 %		0,0 %
C-REAKTIVNI PROTEIN	58,8 %		41,2 %

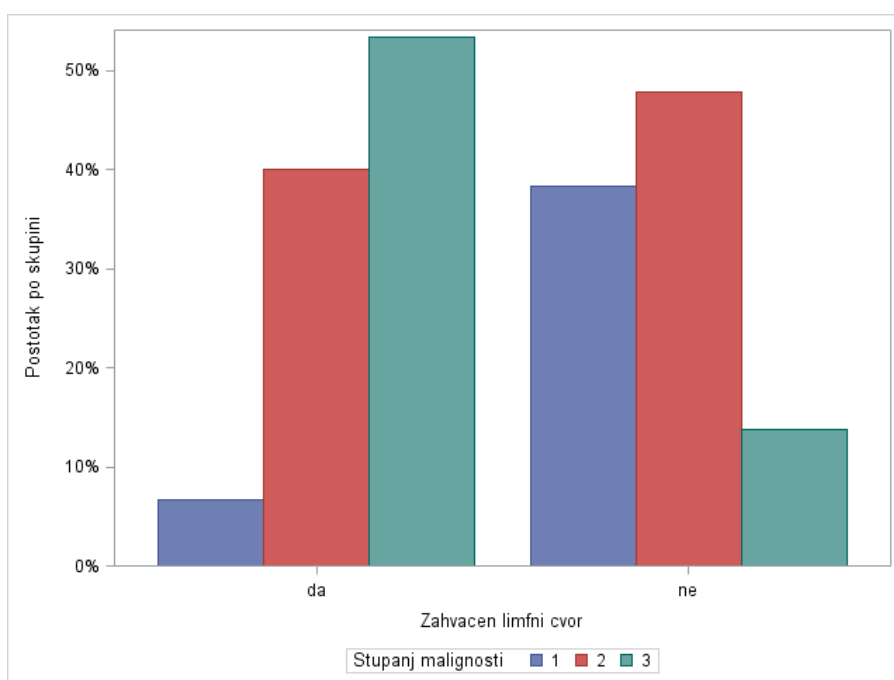
Tablica 6. Udjeli kuja prema različitim parametrima vezanim uz tumore mliječnih žlijezda.

	UDIO (%)
BENIGNI TUMORI	12,2
MALIGNI TUMORI	87,8
KARCINOM	82,9
SARKOM	4,9
HIPERPLAZIJA MLIJEČNE ŽLIJEZDE	9,8
ADENOM	2,4
METASTAZE PO PLUĆIMA	6,3
ZAHVAĆEN LIMFNI ČVOR	12,3
STUPANJ MALIGNOSTI I	33,9
STUPANJ MALIGNOSTI II	46,8
STUPANJ MALIGNOSTI III	19,3
ULCERACIJA TUMORA	7,4
INFLAMIRANI TUMOR	12,3
RECIDIV	4,0
INGVINALNA MLIJEČNA ŽLIJEZDA	39,0
KAUDALNA ABDOMINALNA MLIJEČNA ŽLIJEZDA	27,7
KRANIJALNA ABDOMINALNA MLIJEČNA ŽLIJEZDA	20,3
KAUDALNA TORAKALNA MLIJEČNA ŽLIJEZDA	8,1
KRANIJALNA TORAKALNA MLIJEČNA ŽLIJEZDA	4,9
DESNA STRANA	45,9
LIJEVA STRANA	54,1



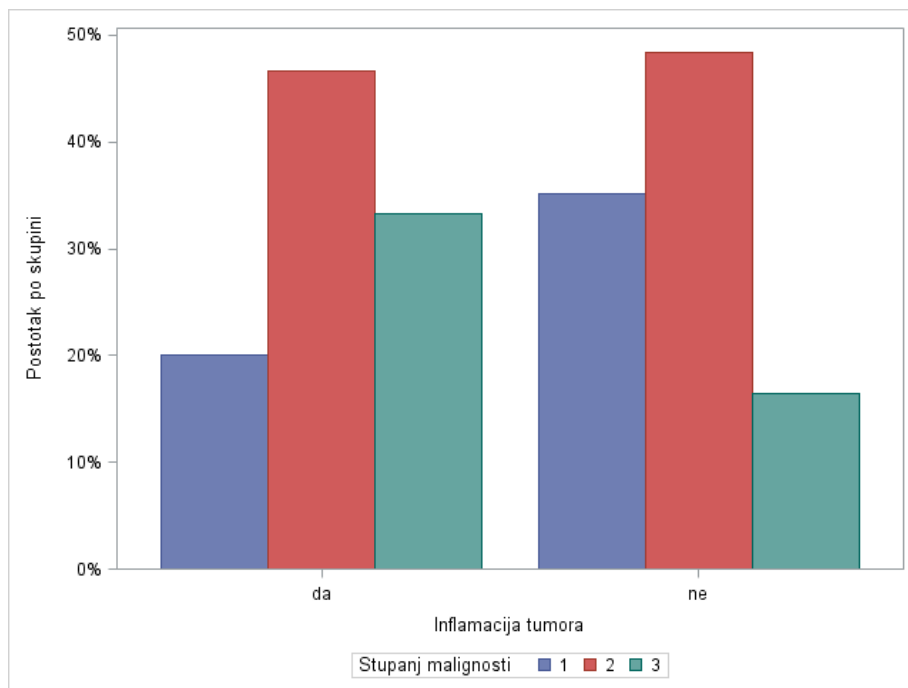
Slika 1. Stupčasti prikaz udjela stupnja malignosti tumora u odnosu na veličinu tumora.

Tumori veći od 5cm (najveći tumori u ovom istraživanju) imali su najveći udio III stupnja malignosti.



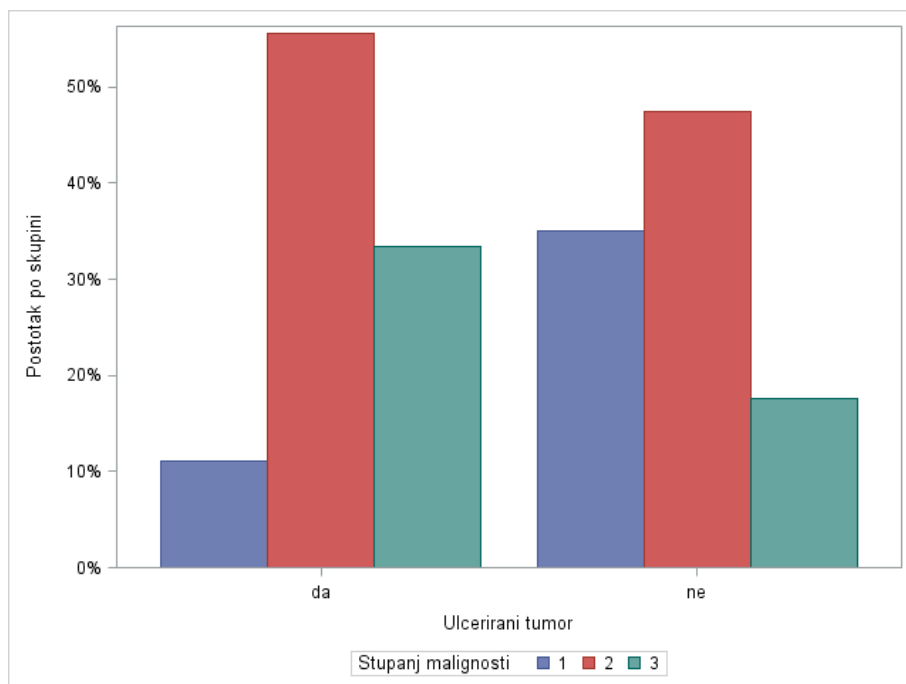
Slika 2. Stupčasti prikaz udjela stupnja malignosti tumora prema zahvaćenosti limfnog čvora.

Tumori sa zahvaćenim limfnim čvorom su najvećim dijelom bili tumori III stupnja malignosti.



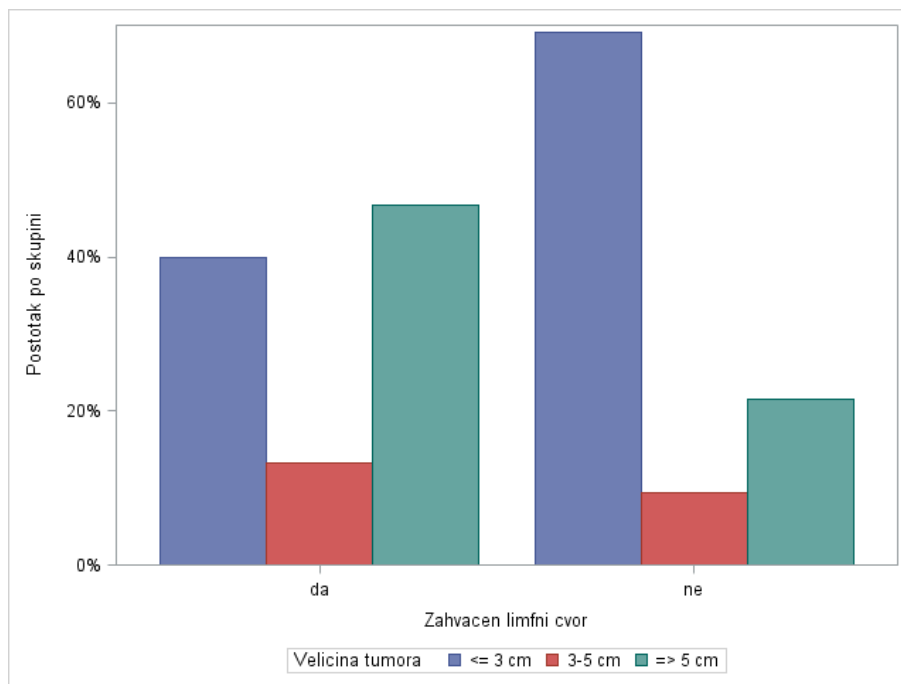
Slika 3. Stupčasti prikaz udjela stupnja malignosti tumora prema inflamaciji tumora.

Inflamatorni tumori imali su veći udio II i III stupnja malignosti.

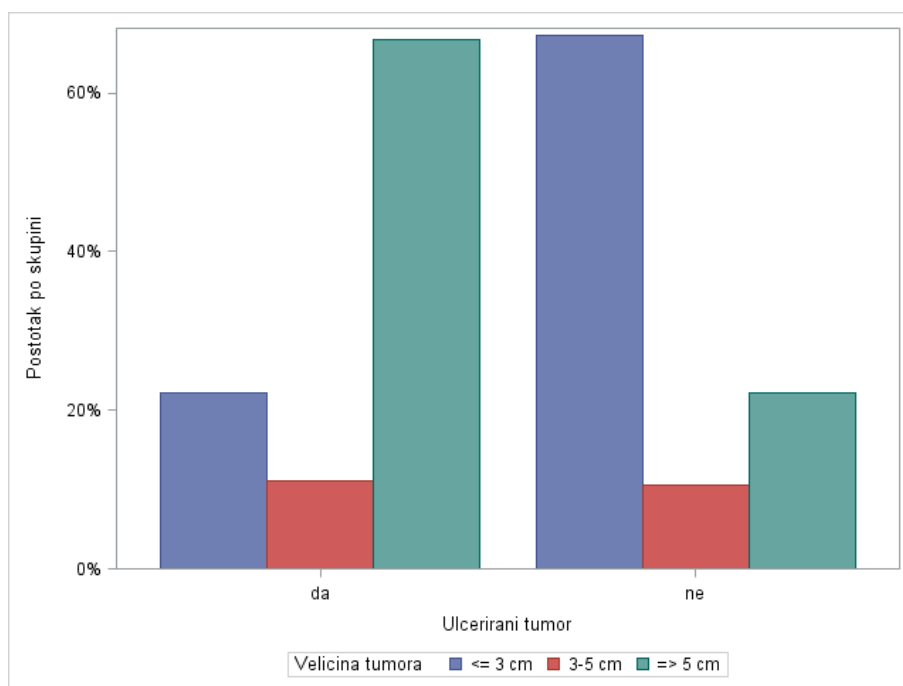


Slika 4. Stupčasti prikaz udjela stupnja malignosti tumora u odnosu na ulceraciju tumora.

Ulcerirani tumori imali su veći udio II i III stupnja malignosti.

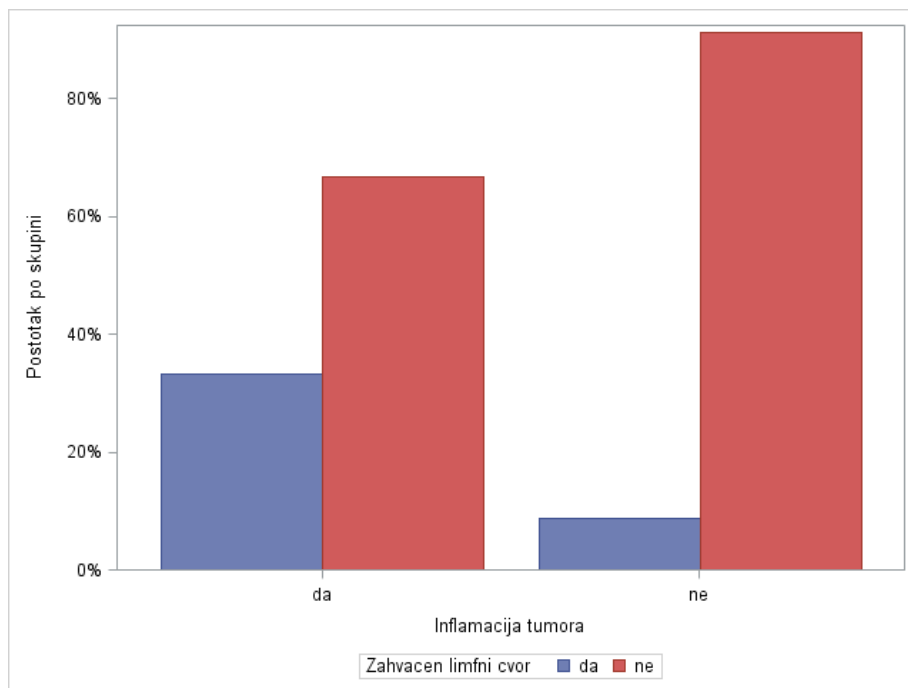


Slika 5. Stupčasti prikaz udjela veličine tumora prema zahvaćenosti limfnog čvora.



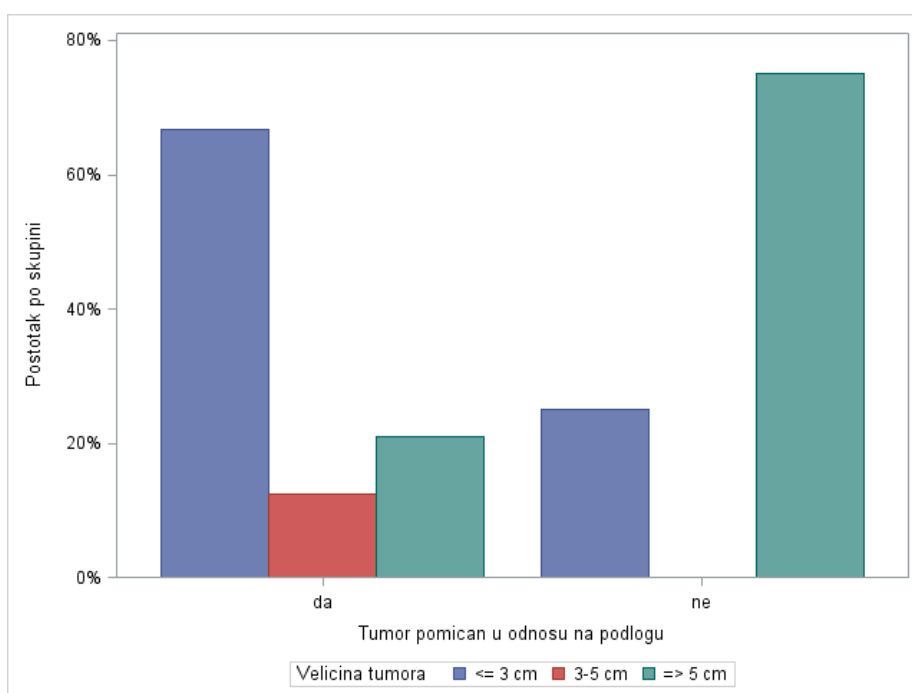
Slika 6. Stupčasti prikaz udjela veličine tumora u odnosu na ulceraciju tumora.

Tumori promjera većeg od 5cm su uglavnom imali zahvaćen regionalni limfni čvor te su bili ulcerirani.



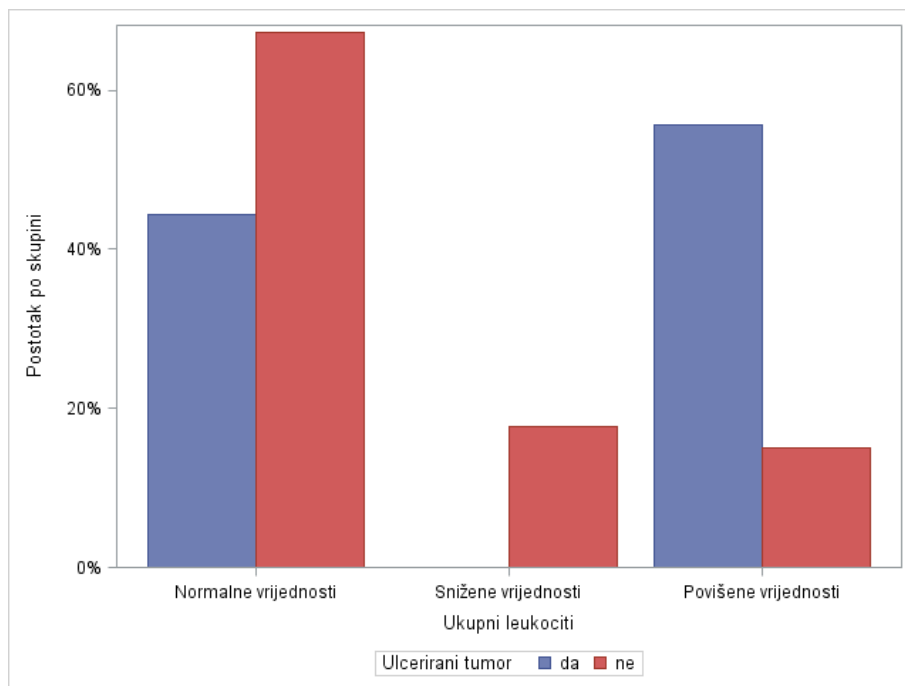
Slika 7. Stupčasti prikaz udjela zahvaćenosti limfnog čvora u odnosu na inflamaciju tumora.

Inflamatorni tumori imaju veći udio zahvaćenosti regionalnog limfnog čvora.

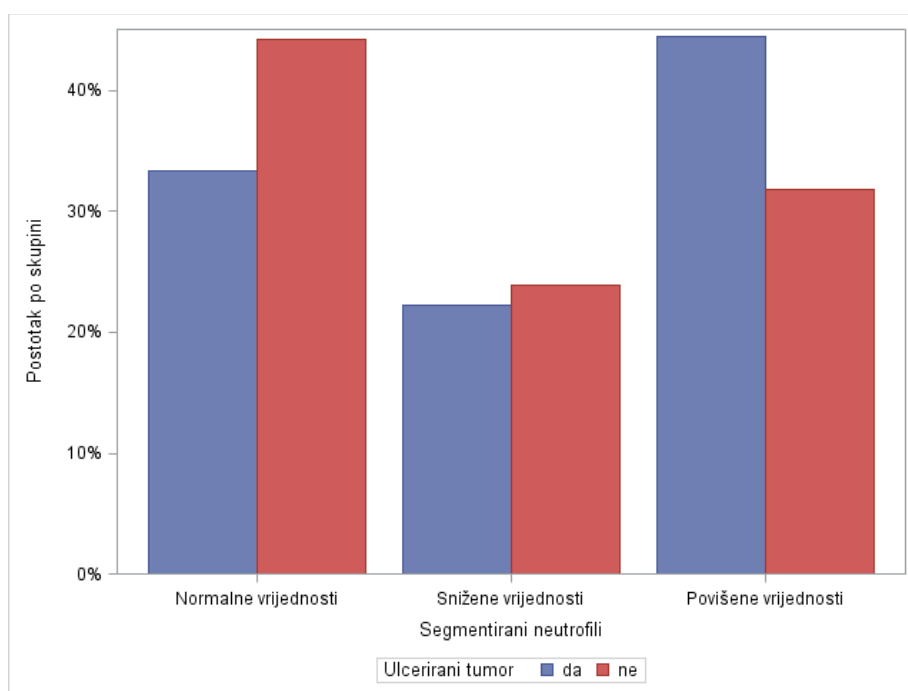


Slika 8. Stupčasti prikaz udjela veličine tumora u odnosu na pomičnost tumora prema podlozi.

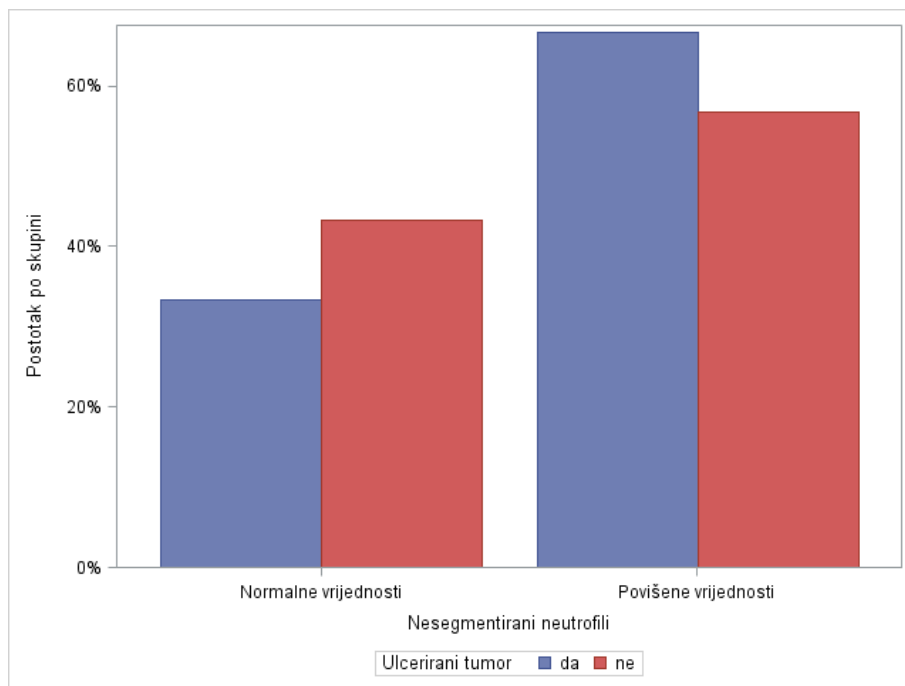
Tumori promjera većeg od 5 cm uglavnom nisu bili pomični u odnosu na podlogu.



Slika 9. Stupčasti prikaz udjela normalnih, sniženih ili povišenih vrijednosti ukupnih leukocita u odnosu na ulceraciju tumora.

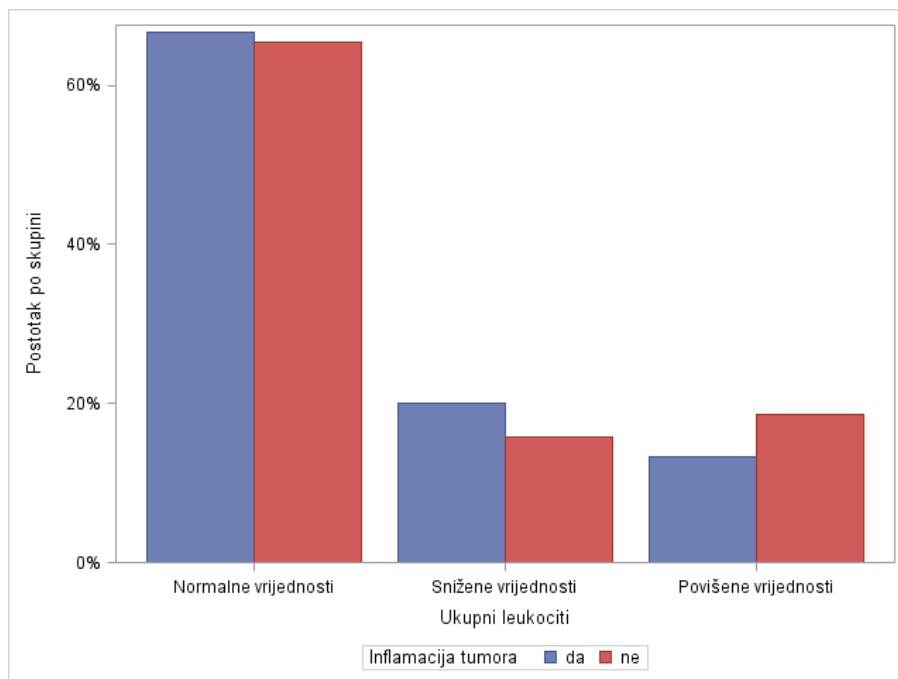


Slika 10. Stupčasti prikaz udjela normalnih, sniženih ili povišenih vrijednosti segmentiranih neutrofila u odnosu na ulceraciju tumora.



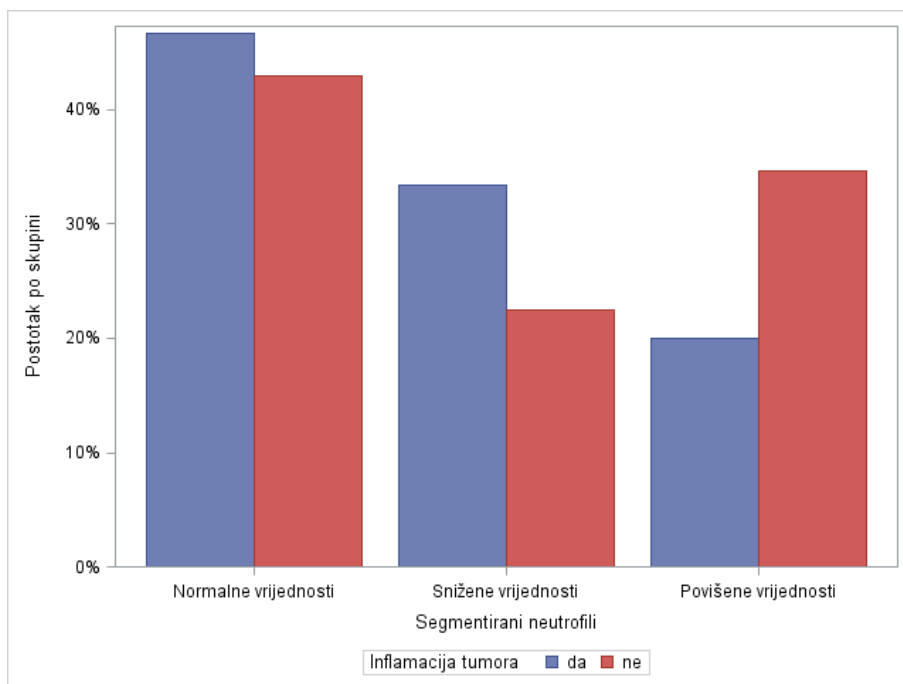
Slika 10. Stupčasti prikaz udjela normalnih ili povišenih vrijednosti nesegmentiranih neutrofila u odnosu na ulceraciju tumora.

Ulcerirani tumori imaju visok udio povišenih vrijednosti ukupnog broja leukocita, segmentiranih i nesegmentiranih neutrofila.

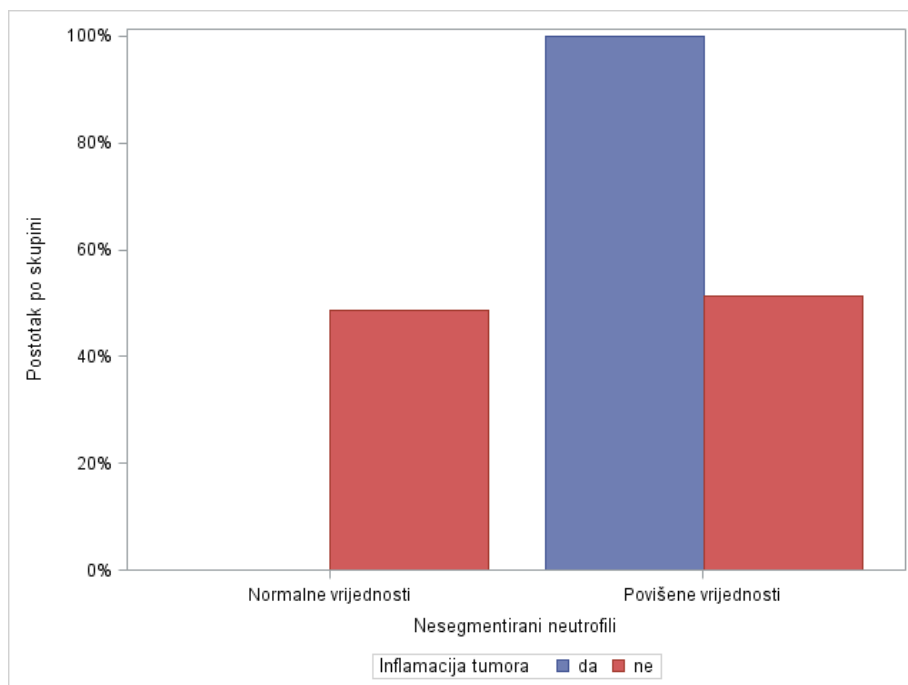


Slika 11. Stupčasti prikaz udjela normalnih, sniženih ili povišenih vrijednosti ukupnih leukocita u odnosu na inflamiranost tumora.





Slika 12. Stupčasti prikaz udjela normalnih, sniženih ili povišenih vrijednosti segmentiranih neutrofila u odnosu na inflamiranost tumora.



Slika 13. Stupčasti prikaz udjela normalnih ili povišenih vrijednosti nesegmentiranih neutrofila u odnosu na inflamiranost tumora.

## 5. RASPRAVA

Tumori mliječne žlijezde predstavljaju najčešće dijagnosticirane neoplazme u kuja (MOE, 2001., EGENVALL i sur. 2005., PASTOR i sur., 2018.). Slični rezultat utvrđeni su i u istraživanju ŠOŠTARIĆ i sur. (2013.), u kojem su tumori mliječne žlijezde činili 44% od ukupnog broja histopatoloških nalaza tumora u kuja. U istraživanju LANA i sur. (2007.) utvrđena je godišnja pojavnost tumora mliječne žlijezde od 205 slučajeva na 100 tisuća kuja. Tumori mliječnih žlijezda najčešće se javljaju u srednjoj i starijoj dobi u nekastriranih kuja (BRODEY I SUR., 1983.). U našem istraživanju prosječna dob prilikom zaprimanja na kliničku obradu bila je 10,5 godina s rasponom starosti od 2 do 16 godina. U istraživanju SONTAS i sur. (2009.) raspon dobi iznosio je od 3 do 22 godine, a srednja dob bila je 9 godina. Slična dob prilikom pojave tumora utvrđena je i u istraživanju SALAS i sur. (2015.), u kojem je raspon dobi bio između 3 i 15 godina, a prosječna dob od 9 do 12 godina. U istom istraživanju druga dobna skupina po učestalosti pojave tumora bila je između 5 i 8 godina, a obje skupine činile su 70% slučajeva. Pojavnost tumora mliječne žlijezde u kuja mlađih od dvije godine je rijetka, ali kod kuja starijih od 6 godina pojavnost se značajno povećava (MOULTON, 1990.). Međutim, u istraživanju EGENVALL i sur. (2005.) utvrđeno je da u švedskoj populaciji pasmine špringer španijel prosječna dob prilikom pojave tumora mliječne žlijezde iznosila 6,9 godine. Nadalje, u istraživanju ZATLOUKAL i sur. (2005.) utvrđena je prosječna dob u kuja oboljelih od benignih tumora 8,9 godina, dok je u kuja oboljelih od malignih tumora mliječne žlijezde prosječna dob iznosila 10 godina. Ovi rezultati kao i prethodni u istraživanju MOULTON (1990.) sugeriraju da se benigni tumori mliječnih žlijezda javljaju ranije u odnosu na maligne tumore. Isto tako, u istraživanju ZATLOUKAL i sur. (2005.) primijećen je trend povećanja postotka malignih neoplazije s povećanjem dobi u kuja. Taj trend je u skladu s trenutnim spoznajama o kancerogenezi, navodeći činjenicu da povećanje dobi u kuja dovodi do nakupljanja tumorogenih čimbenika koji dovode do razvoja malignih tumora (ZATLOUKAL i sur., 2005.). Slični rezultati dobiveni su i u istraživanju BOLDIZSAR i sur. (1992.) u kojem je pojavnost tumora mliječne žlijezde u rasla do dobi od 14 godina. Nadalje, PASTOR i sur. (2018.) navode da starija dob, križane i velike pasmine pasa imaju veći rizik od nastanka malignih tumora. Autori ne navode objašnjenje zašto su u njihovom istraživanju križana pasmine imale veću tendenciju razvoja malignih tumora. Nasuprot, u istraživanju SALAS i sur. (2015.) povezanost između malignosti i veličine pasmine nije utvrđena. U našem istraživanju najveći udio tumora mliječne žlijezde utvrđen je u križanih pasmina (30%). Sličan rezultat utvrdili su PASTOR i sur. (2018.). U njihovom istraživanju udio tumora mliječne žlijezde u

križanih pasmina iznosio je 35,7%. U našem slučaju ovakav rezultat možemo objasniti time da križane pasmina predstavljaju i najveći broj pacijenata zaprimljenih na Klinici. Od čistokrvnih pasmina pasa u našem istraživanju najveći udio tumora mliječne žlijezde zabilježen je u kuja pasmine malteški psić. Druga pasmina po učestalosti tumora mliječne žlijezde je engleski koker španijel. Od ostalih pasmina s većom učestalosti pojava tumora utvrđena je u labrador retrievera, njemačkih ovčara, pekinezera, srednjih pudlica i zlatnih retrievera. Suprotno našim rezultatima, u istraživanju SALAS i sur. (2015.) 80% zaprimljenih kuja pripadalo je čistokrvnim pasmina, a najveći broj tumora mliječne žlijezde utvrđen je u pudlica, koker španijela i njemačkih ovčara. U spomenutom istraživanju malteški psići imali su udio učestalosti od 4.1%. ZATLOUKAL i sur. (2005.) utvrdili su veći rizik od nastanka tumora mliječne žlijezde u pudlica, koker španijela i jazavčara. Isto tako, u istraživanju ŠOŠTARIĆ i sur. (2013) utvrđena je velika pojavnost tubulopapilarnog karcinoma mliječne žlijezde u pudlica (17.3%). Nadalje, u istraživanju MOE (2001) najveći rizik od razvoja tumora mliječne žlijezde utvrđen je u boksera, koker španijela, engleskih špringer španijela i jazavčara. Ove varijacija u učestalosti pojave tumora mliječne žlijezde između pasmina sugerira značajnu nasljednu genetsku komponentu bolesti u kuja (DOBSON, 2013.). Iako u nekih pasmina postoji veća predispozicija za razvoj tumora, možemo se složiti s PEREZ ALENZA i sur. (2000.) i SONTAS i sur. (2009.) da učestalost tumora u različitih pasmina uključenih u istraživanja uvelike ovisi o populaciji pasmina koje obitavaju u određenom području. Veliki broj istraživača navodi da je oko 50% tumora mliječne žlijezde maligno, a taj postotak može u različitim istraživanjima varirati između 26% i 73% (PEREZ ALENZA i sur. 2000., SALAS i sur. 2015.). U našem istraživanju postotak malignih tumora mliječne žlijezde bio je izrazito visok i iznosio je 87,8%. Slično opažanje utvrdio je i PASTOR i sur. (2018.). U njihovom istraživanju postotak malignih tumora mliječne žlijezde iznosio je 88,13%. Karcinomi su najzastupljeniji tumori mliječne žlijezde među malignim tumorima (LANA i sur., 2007.). Ovi rezultati potvrđeni su i u našem istraživanju, u kojem su karcinomi činili 82,9% ukupnih tumora mliječne žlijezde. Jedan od razloga velikog postotka malignih tumora može biti i u relativno kasnom zaprimanju pacijenata na kliničku obradu u odnosu na pojavu tumora. Isto tako, velik broj težih i uznapredovalih slučajeva oboljenja mliječnih žlijezda upućen je od strane privatnih ambulanti. Rezultate slične našima ustanovili su i SONTAS i sur. (2009.). U njihovom istraživanju udio malignih tumora iznosio je 78,30%, benignih 12,27%, a hiperplazija/displazija mliječnih žlijezda 8,02%. Udio utvrđenih hiperplazija mliječnih žlijezda u našem istraživanju je sličan, iznosio je 9,8%. Nadalje, hiperplazije mliječne žlijezde koja se najčešće javljaju na posljednje dvije mliječne žlijezde smatraju se početnim stadijima tumorogeneze (HELLMAN, 1996.). Otprilike 60% tumora

mliječne žlijezde javlja se na ingvinalnoj i kaudalnoj abdominalnoj mliječnoj žlijezdi. Postotak zahvaćenosti zadnje dvije mliječne žlijezde u našem istraživanju iznosio je 39% odnosno 27,7%. Razlog zbog čega dolazi do povećane incidencije tumora u posljednje dvije mliječne žlijezde nije do kraja poznat. Međutim, predloženo je nekoliko objašnjenja poput prisutnosti veće mase parenhimskog tkiva i aktivnijeg odgovora na estrogenu stimulaciju u obliku proliferativnih promjena. (MOULTON, 1990.).

Nadalje, osim histopatološke klasifikacije tumora oni su isto tako histološki stupnjevani u cilju određivanja njihove malignosti. U našem istraživanju udio tumora stupnja malignosti I iznosio je 33,9%, stupnja malignosti II 46,8%, dok je stupanj malignosti III iznosio 19,3%. U istraživanju DIAS i sur. (2016.) stupanj malignosti I iznosio je 35,30%, stupanj malignosti II 58,82%, a stupanj malignosti III 5,88%. Isto tako, u istraživanju NUNES i sur. (2019.) većina karcinoma u mješovitim tumorima bila je histološkog stupanja malignosti I, (67%) ili stupanja malignosti II (29%), dok je samo 3,4% klasificirano u III stupanj malignosti. Međutim, kod karcinosarkoma zabilježena je veća incidencija histoloških stupnjeva malignosti II (35%) i III (47%). Isto tako, relativno veći postotak tumora mliječne žlijezde III stupnja malignosti u našem istraživanju možemo objasniti i većim brojem uznapredovalih malignih tumora koji su podvrgnuti liječenju u kasnoj fazi bolesti. Nadalje, u našem istraživanju utvrdili smo značajno veći udio tumora III stupnja malignosti u onih tumora većih od 5 cm. Isto, tako u onih tumora kod kojih je bio zahvaćen limfni čvor, koji su bili inflamirani i oni koji su ulcerirali imali su veći udio tumora III stupnja malignosti. Slični rezultati ustanovljeni su i u istraživanju NUNES i sur. (2019.). Samim time, možemo ustvrditi da veličina tumora, inflamiranost, zahvaćenost limfnog čvora i ulceracije na površini tumora značajno utječu na stupanj malignosti tumora i važan su prognostički pokazatelj. Nadalje, možemo istaknuti da je u našem istraživanju udio nesegmentiranih neutrofila bio povišen u 53% kuja, a isto tako i C-reaktivni protein u 41,2% slučajeva. Posebno su ove vrijednosti bile povišene u inflamiranih i ulceriranih tumora. Prianjanje za podlogu i ulceracije ukazuju na lošu prognozu (CASSALI i sur., 2011.). Isto tako, u mješovitim tumorima povećana učestalost adhezija i ulceracija bila je proporcionalna povećanoj malignosti. Međutim, ove su karakteristike primijećene i u nekim slučajevima benignih mješovitih tumora, što se može objasniti njihovom veličinom i dužim vremenom razvoja. To nam govori da se pričvršćenost za podlogu i ulceracije, iako ukazuju na malignost moraju procjenjivati s oprezom. Ulceracije tumora mogu biti uzrokovane i invazivnim tumorom ili traumom, ishemijom ili infekcijom kože, a to su karakteristike koje nisu nužno povezane s agresivnim biološkim ponašanjem. (SANTOS i sur., 2015.).

## 6. ZAKLJUČCI

Rezultati ovog istraživanja potvrđuju nam da su tumori mliječnih žlijezda jedan od glavnih zdravstvenih problema kuja, osobito u manjih pasmina i kuja starije dobi. Iako tumori mliječnih žlijezda mogu biti benigni i maligni, udio malignih oblika je signifikantno veći. Od malignih tumora najzastupljeniji su karcinomi. Isto tako, ovo istraživanje dokazuje da se tumorske promjene najčešće javljaju na ingvinalnoj i kaudalnoj abdominalnoj mliječnoj žlijezdi. Na temelju istraživanja možemo zaključiti da veličina tumora, inflamiranost, zahvaćenost limfnog čvora i ulceracije na površini tumora značajno utječu na stupanj malignosti i važan su prognostički pokazatelj.

## 7. LITERATURA

1. ALLEN, S. W., E. A MAHAFFEY (1989): Canine mammary neoplasia: prognostic indicators and response to surgical therapy. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 25, 540-546.
2. BALKWILL, F. (2004): Cancer and the chemokine network. *Nat. Rev. Cancer* 4, 540-550.
3. BARTELS, K. E., H. R. FERGUSON, E. L. GILLETTE, H. L. FERGUSON (1978): Simultaneous bilateral mastectomy in the dog. *Vet. Surg.* 7, 97-102.
4. BOLDIZSÁR, H., O. SZENCI, T. MURAY, J. CSENKI (1992): Studies on canine mammary tumours. I. Age, seasonal and breed distribution. *Acta Vet. Hung.* 40, 75-87.
5. BRAGULLA, H., H. E. KÖNIG (2009): Mliječna žlijezda. U: *Anatomija domaćih sisavaca*, 1. hrvatsko izdanje, (Zobundžija, M., K. Babić, V. Gjurčević Kantura), Naklada Slap, Zagreb, str. 644-649.
6. BURRELL, R. A., N. MCGRANAHAN, J. BARTEK, C. SWANTON (2013): The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature* 501, 338-345.
7. BRODEY, R. S., I. J FIDLER, A. E HOWSON (1966): The relationship of estrous irregularity, pseudopregnancy, and pregnancy to the development of canine mammary neoplasms, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 149, 1047-1049.
8. BRODEY, R. S., M. H. GOLDSCHMIDT, J. R. ROSZEL (1983): Canine mammary gland neoplasms. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 19, 61-90.
9. CAMPBELL K., J. CASANOVA (2016): A common framework for EMT and collective cell migration. *Development* 143, 4291-4300.
10. CAMPBELL, K. (2018): Contribution of epithelial-mesenchymal transitions to organogenesis and cancer metastasis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 55, 30-35.
11. CASSALI, G. D., G. E. LAVALLE, A. B. DE NARDI, E. FERREIRA, A. C. BERTAGNOLLI, A. ESTRELA-LIMA, A. C. ALESSI, C. R. DALECK, B. S. SALGADO, C. G. FERNANDES, R. A. SOBRAL, i dr. (2011): Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors. *Braz. J. Vet. Pathol.* 4, 153-180.
12. CHANG, S. C., C. C. CHANG, T. J. CHANG, M. L. WONG (2005): Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998-2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 1625-1629.
13. CLEARY, M. P., M. E. GROSSMANN (2009): Minireview: Obesity and breast cancer: the estrogen connection. *Endocrinology* 150, 2537-2542.
14. CLEVINGER, C. V., P. A. FURTH, S. E. HANKINSON, L. A. SCHULER (2003): The role of prolactin in mammary carcinoma. *Endocrine Reviews* 24, 1-27.

15. CULLEN, J. M., M. BREEN (2017): An Overview of Molecular Cancer Pathogenesis, Prognosis, and Diagnosis. U: Tumors in Domestic Animals, 5<sup>th</sup> ed., (Meuten, D. J. Ed.), Wiley Blackwell, Ames, Iowa, str. 1-18.
16. DIAS, M. L. M., J. M. L. ANDRADE, M. B. CASTRO, P. D. GALERA (2016): Survival analysis of female dogs with mammary tumors after mastectomy: epidemiological, clinical and morphological aspects. *Pesq. Vet. Bras.* 36, 181-186.
17. DOBSON, J. M., S. SAMUEL, H. MILSTEIN, K. ROGERS, J. L. WOOD (2002): Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J. Small Anim. Pract.* 43, 240-246.
18. DOBSON, J. M. (2011): Introduction: cancer in cats and dogs. U: *BSAVA Manual of Canine and Feline oncology*, 3rd ed. (Dobson, J. M., B. D. X. Lascelles, Eds.), British Small Animal Veterinary Association, Quedgeley, Gloucester, str. 1-5.
19. DOBSON, J. M. (2013): Breed-Predispositions to Cancer in Pedigree Dogs. *ISRN Vet. Sci.* vol. 2013, Article ID 941275, 23 pages.
20. DORN, C. R., D. O. TAYLOR, R. SCHNEIDER, H. H. HIBBARD, M. R. KLAUBER (1968): Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *J. Natl. Cancer Inst.* 40, 307-318.
21. EGENVALL, A., B. N. BONNETT, P. OHAGEN, P. OLSON, A. HEDHAMMAR, H. VON EULER (2005): Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. *Prev. Vet. Med.* 69, 109-127.
22. ELSTON, C. W., I. O. ELLIS (1991): Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 19, 403-410.
23. EVANS, H. E., A. DE LAHUTA (2013): *Miller's Anatomy of the dog*. 4<sup>th</sup> ed., Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, str. 361-405.
24. FIDLER, I. J. (2003): The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat. Rev. Cancer* 3, 453-458.
25. GARRAWAY, L. A., E. S. LANDER (2013): Lessons from the cancer genome. *Cell* 153, 17-37.
26. GERESŠ, D. (2012): Tumori mliječne žlijezde. U: *Veterinarski priručnik*, 6. izdanje, (Herak-Perković, V., Ž. Grabarević, J. Kos), Medicinska naklada, Zagreb, str. 1954.

27. GOLDSCHMIDT, M., F.S SHOFER, J. A. SMELSTOYS (2001): Neoplastic lesions of the mammary gland. U: Pathobiology of the Aging Dog. (Mohr, U., W.W. Carlton, D.L. Dungworth, et al., Eds.), Iowa State University Press, Ames, str. 168-178.
28. GOLDSCHMIDT, M., L. PEÑA, R. RASOTTO, V. ZAPPULLI (2011): Classification and grading of canine mammary tumors. *Vet. Pathol.* 48, 117-131.
29. GRABAREVIĆ, Ž. (2002): Veterinarska onkologija. 1. Izdanje. DSK-FALCO d.o.o., Zagreb.
30. HANAHAN, D., R. A. WEINBERG (2000): The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57-70.
31. HANAHAN, D., R. A. WEINBERG (2011): Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646-674.
32. HAY, E. D. (2005): The mesenchymal cell, its role in the embryo, and the remarkable signaling mechanisms that create it. *Dev. Dyn.* 233, 706-720.
33. HELLMEN, E. (1996): The pathogenesis of canine mammary tumours. *The Cancer J.* 9, 282-286.
34. KITCHELL, B. E, J. L FIDEL (1992): Tamoxifen as a potential therapy for canine mammary carcinoma. *Proc. Vet. Cancer Soc. Ann. Forum* 12:91.
35. LABAN, C., S. A. BUSTIN, P. J. JENKINS (2003): The GH-IGF-I axis and breast cancer. *Trends Endocrinol. Metab.* 14, 28-34.
36. LANA, S. E., G. R. RUTTEMAN, S. J. WITHROW (2007): Tumors of the Mammary Gland. U: Small Animal Clinical Oncology. 4th, (Withrow S. J., D. M. Vail, Eds.) Saunders, Philadelphia, USA, Pp 619-636.
37. LAVALLE, G. E., A. C. BERTAGNOLLI, W. L. F. TAVARES, G. D. CASSALI (2009): Cox-2 expression in canine mammary carcinomas: correlation with angiogenesis and overall survival. *Vet. Pathol.* 46, 1275-1280.
38. LEY, T. J., E. R. MARDIS, L. DING, B. FULTON, M. D. MCLELLAN, K. CHEN, D. DOOLING, B. H. DUNFORD-SHORE, S. MCGRATH, M. HICKENBOTHAM, L. COOK, R. ABBOTT, D. E. LARSON, D. C. KOBOLDT, C. POHL, S. SMITH, A. HAWKINS, S. ABBOTT, D. LOCKE, L. W. HILLIER, T. MINER, L. FULTON, V. MAGRINI, T. WYLIE, J. GLASSCOCK, J. CONYERS, N. SANDER, X. SHI, J. R. OSBORNE, P. MINX, D. GORDON, A. CHINWALLA, Y. ZHAO, R. E. RIES, J. E. PAYTON, P. WESTERVELT, M. H. TOMASSON, M. WATSON, J. BATY, J. IVANOVICH, S. HEATH, W. D. SHANNON, R. NAGARAJAN, M. J. WALTER, D. C. LINK, T. A. GRAUBERT, J. F. DIPERSIO, R. K. WILSON (2008): DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome. *Nature* 456, 66-72.



39. MISDORP, W. (1991): Progestagens and mammary tumours in dogs and cats. *Acta. Endocrinol. (Copenh)*. 125, 27-31.
40. MODIANO, J. F (2013): The Etiology of Cancer. U: *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, 5<sup>th</sup>. (Withrow, S. J., D. M. Vail, R. L. Page, Eds.), Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, str. 1-29.
41. MOHR, A., R. F LÜDER, S. C. HAMMER, S. WILLENBROCK, M. HEWICKER-TRAUTWEIN, Z. KIELBOWICZ (2016): Hormone Receptor Expression Analyses in Neoplastic and Non-Neoplastic Canine Mammary Tissue by a Bead Based Multiplex Branched DNA Assay: A Gene Expression Study in Fresh Frozen and Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Samples. *PLoS ONE* 11(9): e0163311. doi:10.1371/journal.pone.0163311
42. MOE, L. (2001): Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 57, 439-443.
43. MOL, J. A., P. J. SELMAN, E. P. SPRANG, J. W. VAN NECK, M. A. OOSTERLAKEN-DIJKSTERHUIS (1997): The role of progestins, insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding proteins in the normal and neoplastic mammary gland of the bitch: a review. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 51, 339-344.
44. MORRIS J. S., J. M. DOBSON, D. E. BOSTOCK (1993): Use of tamoxifen in the control of mammary neoplasia. *Vet. Rec.* 133, 539-542.
45. MOULTON, J. E. (1990): Tumors of the mammary gland. U: *Tumors in domestic animals*. (Moulton, J. E., Ed.). University of California Press, London, pp. 518-552.
46. NOVOSAD, C. A. (2003): Principles of treatment for mammary gland tumors. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 18, 107-9.
47. NUNES, F. C., K. A. DAMASCENO, C. B. DE CAMPOS, A. C. BERTAGNOLLI, G. E. LAVALLE, G. D. CASSALI (2019): Mixed tumors of the canine mammary glands: evaluation of prognostic factors, treatment, and overall survival. *Veterinary and Animal Science* 7, 100039.
48. OLOVNIKOV, A. M. (1996): Telomeres, telomerase, and aging: Origin of the theory. *Exp. Gerontol.* 31, 443-448.
49. OWEN, L. N. (1980): *TNM Classification of Tumors in Domestic Animals*, 1st ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization, pp. 1-53.
50. PAPAZOGLU, L. G., E. BASDANI, S. RABIDI, M. N. PATSIKAS, M. KARAYIANNOPOULOU (2014): Current Surgical Options for Mammary Tumor Removal in Dogs. *J. Veter. Sci. Med.* 2(1): 6.

51. PASTOR, N., N. C. CABALLÉ, M. SANTELLA, L. J. EZQUERRA, R. TARAZONA, E. DURAN (2018): Epidemiological study of canine mammary tumors: age, breed, size and malignancy. *Austral. J. Vet. Sci.* 50, 143-147.
52. PIKE, M. C., D. V. SPICER, L. DAHMOUSH, M. F. PRESS (1993): Estrogens, progesterones, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol. Rev.* 15, 17-35.
53. PINHO, S. S., S. CARVALHO, J. CABRAL, C. A. REIS, F. GARTNER (2012): Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis. *Transl. Res.* 159, 165-72.
54. PHILIBERT, J. C., P. W. SNYDER, N. GLICKMAN, L. T. GLICKMAN, D. W. KNAPP, D. J. WATERS (2003): Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors. *J. Vet. Intern. Med.* 17, 102-106.
55. PEREZ ALENZA D., G. R. RUTTEMAN, L. PENA, A. C. BEYNEN, P. CUESTA (1998): Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. *J. Vet. Intern. Med.* 12, 132-139.
56. PEREZ ALENZA, M. D., L. PENA, N. DEL CASTILLO, A. I. NIETO (2000): Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. *J. Small Anim. Pract.* 41, 287-291.
57. QUEIROGA, F. L., D. PEREZ-ALENZA, G. SILVAN, et al (2010): Serum and intratumoural GH and IGF-I concentrations: prognostic factors in the outcome of canine mammary cancer. *Res. Vet. Sci.* 89, 396-403.
58. QUEIROGA, F. L., M. D PEREZ-ALENZA, G. SILVAN, L. PENA, C. LOPES J. C. ILLERA (2005): Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 94, 181-187.
59. RUSSO, J., I. H. RUSSO (2006): The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 102, 89-96.
60. SALAS, Y., A. MÁRQUEZ, D. DIAZ, L. ROMERO (2015): Epidemiological Study of Mammary Tumors in Female Dogs Diagnosed during the Period 2002-2012: A Growing Animal Health Problem. *PLoS ONE* 10(5): e0127381. doi:10.1371/journal.pone.0127381
- SCHAFFER, K. A., G. KELLY, R. SCHRADER, W. C. GRIFFITH, B. A. MUGGENBURG, L. A. TIERNEY, J. F. LECHNER, E. B. JANOVITZ, F. F. HAHN (1998): A canine model of familial mammary gland neoplasia. *Vet. Pathol.* 35, 168-177.

61. SANTOS, M., C. CORREIA-GOMES, R. MARCOS, A. SANTOS, A. DE MATOS, C. LOPES, P. DIAS-PEREIRA (2015). Value of the Nottingham histological grading parameters and Nottingham prognostic index in canine mammary carcinoma. *Anticancer Res.* 35, 4219-4227.
62. SCHNEIDER, R., C. R. DORN, D. O. TAYLOR (1969): Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *J. Natl. Cancer Inst.* 43, 1249-1261.
63. SCHNEIDER, R. (1970): Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer. *Cancer* 26, 419-426.
64. SELMAN, P. J., J. A. MOL, G. R. RUTTEMAN, A. RIJNBERK (1994): Progesterin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland. *Endocrinology* 134, 287-292.
65. SONNENSCHNEIN, E. G., L. T. GLICKMAN, M. H. GOLDSCHMIDT, L. J. MCKEE (1991): Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. *Am. J. Epidemiol.* 133, 694-703.
66. SONTAS, B. H., H. OZYOGURTCU, A. GUREL, H. EKICI (2009): Evaluation of clinical and pathological characteristics of 155 canines with mammary tumors: a retrospective study. *Arch. Med. Vet.* 41, 53-59.
67. SORENMO, K. U., F. S. SHOFER, M. GOLDSCHMIDT (2000): Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. *J. Vet. Intern. Med.* 14, 266-270.
68. SORENMO, K. U. (2003): Canine mammary gland tumors. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33, 573-596.
69. SORENMO, K. U., D. R. WORLEY, M. H. GOLDSCHMIDT (2013): Tumors of the Mammary Gland. U: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5<sup>th</sup>. (Withrow, S. J., D. M. Vail, R. L. Page, Eds.), Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, str. 538-556.
70. SOUZA, C. H. M., E. TOLEDO-PIZA, R. AMORIN, A. BARBOZA, K. M. TOBIAS (2009): Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: Clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment. *Can. Vet. J.* 50, 506-510.
71. STEPHENSON, J. A., J. C. GODDARD, O. AL-TAAN, A. R. DENNISON, B. MORGAN (2013): Tumour Angiogenesis: A Growth Area—From John Hunter to Judah Folkman and Beyond. *Journal of Cancer Research*, vol. 2013, Article ID 895019, 6 pages.

72. SILVER, I. A. (1966): The anatomy of the mammary gland of the dog and cat. *J. Small Anim. Pract.* 7, 689-696.
73. STOVING M, L. MOE, E. GLATTRE (1997): A population-based case-control study of canine mammary tumours and clinical use of medroxyprogesterone acetate, *APMIS.* 105, 590-596.
74. STRATMANN, N., K. FAILING, A. RICHTER, A. WEHREND (2008): Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. *Vet. Surg.* 37, 82-86.
75. ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN, I.-C., K. SEVERIN, M. HOHŠTETER, B. ARTUKOVIĆ, A. BECK, A. GUDAN KURILJ, R. SABOČANEC, P. DŽAJA, Ž. GRABAREVIĆ (2013): Incidence and types of canine tumours in Croatia. *Vet. arhiv* 83, 31-45.
76. TALMADGE, J. E., I. J. FIDLER (2010): AACR Centennial Series: The biology of cancer metastasis: historical perspective. *Cancer Res.* 70, 5649-5669.
77. TAVARES, W. L. F., M. S. FIGUEIREDO, A. G. SOUZA, A. C. BERTAGNOLLI, G. E. LAVALLE, G. CAVALCANTI, G. D. CASSALI (2009): Evaluation of dose and side effects of tamoxifen in female dogs. *Vet. Comp. Oncol.* 7, 93-94.
78. TIMP, W., A. P. FEINBERG (2013): Cancer as a dysregulated epigenome allowing cellular growth advantage at the expense of the host. *Nat. Rev. Cancer* 13, 497-510.
79. YOU, J. S., P. A. JONES (2012) Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin? *Cancer Cell* 22, 9-20.
80. ZATLOUKAL, J., J. LORENZOVA, F. TICHÝ, A. NEČAS, H. KECOVÁ, P. KOHOUT (2005): Breed and Age as Risk Factors for Canine Mammary Tumours. *ACTA VET. BRNO* 74, 103-109.
81. ZONG, W. X., J. D. RABINOWITZ, E. WHITE (2016): Mitochondria and cancer. *Mol. Cell* 61, 667-676.

## 8. SAŽETAK

### **Marjanović, K.: Pregled kazuistike tumora mliječne žlijezde na Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta od 2016. do 2018. godine**

Tumori mliječnih žlijezda jedna su od najčešćih neoplazmi u kuja. Mogu biti benigni i maligni, ali benigni mogu maligno alterirati. Maligni tumori imaju lošiju prognozu zbog veće mogućnosti recidiva i pojave metastaza. Histopatološka analiza i stupanj malignosti bitno utječu na odabir metode liječenja i prognozu. Cilj ovog istraživanja bio je istražiti pojavnost tumora mliječne žlijezde u kuja zaprimljenih na Kliniku za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta kako bi se utvrdile karakteristike tumora s obzirom na dob, pasminu, vrijednosti hematoloških i biokemijskih pokazatelja, veličinu, tip i stupanj malignosti tumora.

U istraživanju su obrađeni arhivski podaci prikupljeni za vrijeme redovnog kliničkog rada Klinike za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u razdoblju od 2016. do 2018. godine. Analizirani podaci uključivali su pasminu životinje, dob, trijas, hematološke i biokemijske parametre krvi, prisutnost metastatskih promjena, veličinu i pomičnost tumora, histopatološku dijagnozu i stupanj malignosti.

U našem istraživanju prosječna dob prilikom zaprimanja na kliničku obradu bila je 10,5 godina, a 30% pacijenata činile su kuje križanih pasmina. Postotak malignih tumora mliječne žlijezde iznosio je 87,8%, a najčešće su bili prisutni na kaudalnoj abdominalnoj (27,7%) i ingvinalnoj mliječnoj žlijezdi (39%). Udio tumora stupnja malignosti I iznosio je 33,9%, stupnja malignosti II 46,8%, a stupnja malignosti III 19,3% čiji je udio bio najveći u onih tumora iznad 5 cm promjera. Isto tako, veći udio tumora III stupnja malignosti utvrđen je u inflamiranih, ulceriranih i u tumora sa zahvaćenim limfnim čvorom. Udio nesegmentiranih neutrofila bio je povišen u 53% kuja, a C-reaktivni protein u 41,2% slučajeva. Posebno su ove vrijednosti bile povišene u inflamiranih i ulceriranih tumora.

Rezultati ovog istraživanja potvrđuju nam da su tumori mliječnih žlijezda jedan od glavnih zdravstvenih problema kuja, osobito u manjih pasmina i kuja starije dobi. Na temelju istraživanja možemo zaključiti da veličina tumora, inflamiranost, zahvaćenost limfnog čvora i ulceracije na površini tumora značajno utječu na stupanj malignosti i važan su prognostički pokazatelj.

Ključne riječi: kuje, tumori mliječnih žlijezda, stupanj malignosti, metastaze

## 9. SUMMARY

### **Marjanović, K.: Review of mammary gland tumor casuistic at the Clinic for Obstetrics and Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, in period between 2016 and 2018**

Mammary gland tumors are one of the most common neoplasms in bitches. They can be both, benign and malignant, but benign can alter into malignant. Malignant tumors have a poorer prognosis due to a greater chance of recidivism and the metastasis occurrence. Histopathological analysis and the degree of malignancy significantly influence the choice of treatment method and prognosis. The aim of this study was to investigate the incidence of mammary gland tumors in bitches presented at the Clinic of Obstetrics and Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb and to determine tumor characteristics according to age, breed, values of hematological and biochemical parameters, size, type and degree of malignancy of the tumor.

The research processed archival data collected during the regular clinical work of the Clinic of Obstetrics and Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, from 2016 to 2018. The data analyzed included the breed of animal, age, trias, hematological and biochemical parameters of blood, presence of metastatic changes, size and motility of the tumor, histopathological diagnosis and degree of malignancy.

In our study, the average age was 10.5 years and 30% of patients were cross-breed bitches. The percentage of malignant mammary tumors was 87.8%, most commonly present in the caudal abdominal (27.7%) and inguinal mammary gland (39%). The proportion of tumors of malignancy degree I was 33.9%, II 46.8%, and III 19.3% . Degree of malignancy III was highest in tumors above 5 cm in diameter. A higher proportion of grade III tumors were found in inflammatory, ulcerated and tumors with affected lymph nodes. The proportion of non-segmented neutrophils was increased in 53% of bitches, and the C-reactive protein in 41.2% of cases. In particular, these values were elevated in inflammatory and ulcerated tumors.

The results of this study confirm that mammary tumors are one of the major health problems in bitches, especially in small breeds and in older bitches. Based on the research, we can conclude that the size of the tumor, inflammation, involvement of the lymph node and ulceration on the tumor surface significantly influence the degree of malignancy and are important prognostic indicators.

Key words: bitches, mammary gland tumors, degree of malignancy, metastasis

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 23.7.1993. godine u Zagrebu, gdje sam završila Osnovnu školu „Mladost“ i I. gimnaziju. Odmah po završetku srednje škole, 2012. godine upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom cijelog studija bila sam aktivni član USVM „Equus“ i sudjelovala sam kao dio organizacijskog odbora u organizaciji edukativne izložbe egzotičnih životinja „Reptilomanija+“, za koju sam u akademskoj godini 2014./2015. primila posebnu Rektorovu nagradu. Tijekom studija bila sam demonstrator na predmetima Fiziologija domaćih životinja I i II te Porodništvo i reprodukcija domaćih životinja I i II. Tri godine sam volontirala na Klinici za porodništvo i reprodukciju. Kliničko stručnu praksu odradila sam u sklopu ERASMUS+ programa mobilnosti na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Gentu u Belgiji.