

# Patofiziologija leukemija i limfoma

---

**Samolec, Mia**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*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:178:389988>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-25**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

Mia Sambolec

**Patofiziologija leukemija i limfoma**

Diplomski rad

Zagreb, 2022.

Zavod za patofiziologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Predstojnik: izv. prof. dr. sc. Maja Belić

Mentor: prof. dr. sc. Romana Turk

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Maja Belić

2. prof. dr. sc. Mirna Robić

3. prof. dr. sc. Romana Turk

4. prof. dr. sc. Nina Poljičak Milas (zamjena)

## ZAHVALE

*Zahvaljujem svojim roditeljima kako na psihičkoj tako i na financijskoj podršci proteklih šest godina jer bez njih ništa od ovog ne bi bilo moguće. Dragi roditelji, hvala vam za svaku sitnicu koju ste mi omogućili, za svako „možeš ti to“, „ne brini“, „riješit ćeš ti to“, „vjerujem ja u tebe“. Hvala vam što ste trpjeli moj studentski život uz sve moje promjene raspoloženja, smijeh i radost, suze i ljutnju jer „trebala sam proći, trebao/la me pustiti.“. Najviše vam hvala što ste vjerovali u moj uspjeh i napredovanje čak ni kada sama nisam vjerovala u sebe, što nije bila tako rijetka pojava.*

*Zahvaljujem svim mojim prijateljima i kolegama na podršci tokom studija. Hvala vam za svako zajedničko učenje, a posebno ono koje je uključivalo neprospavane noći s knjigom u rukama. Hvala svakoj osobi koja me „izvukla iz kuće“ kad mi je to bilo najviše potrebno, hvala vam svima na slušanju mojeg jadikovanja oko fakultetskih obaveza i hvala vam na svakom izlasku koji me ispunio pozitivnim emocijama i energijom za dalje.*

*Jedno veliko hvala ambulanti „Specijalističke veterinarske ambulante Marković“ gdje sam odradila svoju stručnu praksu uz, prema mom osobnom mišljenju, jedne od najboljih doktora veterinarske medicine i prije svega divne ljude. Hvala svima iz ambulante s kojima sam u to vrijeme surađivala, hvala vam na povjerenju, poticaju, razumijevanju i strpljenju, a najviše vam hvala za znanje koje ste svi prenijeli na mene.*

*Hvala svim mojim trenerima i ljudima s kojima sam plesala, koji su me u slobodno vrijeme motivirali i tjerali da mogu bolje, više i jače te sam zbog njih ostala fizički aktivna sve ove godine pa sam svoje frustracije mogla riješiti plesanjem u dvorani. Hvala vam što ste mi bili oslonac u životu i pokazali da se sve može kad se to dovoljno želi.*

*Kao posljednje navela bih posebnu zahvalu svojoj mentorici, prof. dr. sc. Romani Turk, na pomoći i pristupačnosti za vrijeme trajanja cijelog studija, a posebice prilikom pisanja i predaje diplomskog rada. Ovo je profesorica koja mi je dala apsolutnu slobodu, ali i istovremenu podršku u pisanju rada, od početka (biranja teme, silnih mailova, održavanja konzultacija itd.) pa sve do kraja te opravdano preuzima titulu mentora ovog rada.*

*Mia*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA</b> .....	2
<b>2.1. Stanični ciklus i njegova kontrola</b> .....	2
2.1.1. Osnova staničnog ciklusa hematopoetskih stanica .....	2
2.1.2. Ciklini, kinaze ovisne o ciklinima i njihovi inhibitori .....	3
2.1.3. Faze ciklusa, tranzicije i njihova progresija .....	4
2.1.3.1. G0 i blokiranje ulaska u stanični ciklus .....	4
2.1.3.2. Tranzicija iz G0 u G1 fazu i progresija G1 faze .....	5
2.1.3.3. Tranzicija i regulacija G1 u S fazu te progresija S faze .....	6
2.1.3.4. Progresija G2 faze i kontrolna točka oštećenja DNK .....	7
2.1.3.5. M faza .....	7
<b>2.2. Tumorske stanice u staničnom ciklusu</b> .....	8
2.2.1. Razvoj tumora i mutacije .....	9
2.2.1.1. Onkogeni .....	10
2.2.1.2. Tumorski supresori .....	10
<b>2.3. Obilježja tumora</b> .....	11
2.3.1. Samodostatnost signala rasta .....	12
2.3.2. Neosjetljivost na signale protiv rasta .....	12
2.3.3. Mogućnost izbjegavanja apoptoze .....	12
2.3.4. Veliki replikacijski potencijal .....	13
2.3.5. Kontinuirano održavanje angiogeneze .....	13
2.3.6. Invadiranje tkiva i metastaziranje .....	14
<b>2.4. Limfom</b> .....	14
2.4.1. Osnovne značajke limfoma pasa i mačaka .....	14
2.4.1.1. Klasifikacija limfoma .....	16
2.4.1.2. Klinički oblici limfoma pasa i mačaka .....	17
2.4.1.2.1. Korelacija mačjeg limfoma i FeLV-a .....	20

2.4.2. Osnovne značajke limfoma farmskih životinja -----	21
2.4.2.1. Enzootska leukoza goveda -----	21
2.4.3. Limfom prema tipu stanične infiltracije -----	22
2.4.3.1. Neoplazije B-stanica -----	22
2.4.3.1.1. Limfoplazmocitni limfom -----	22
2.4.3.1.2. Limfom marginalne zone -----	23
2.4.3.1.3. Limfom zone plašta limfnog čvora -----	25
2.4.3.1.4. Folikularni limfom -----	26
2.4.3.1.5. Difuzni B-stanični limfom -----	27
2.4.3.1.6. Burkittov limfom -----	27
2.4.3.1.7. Hodgkinov limfom -----	28
2.4.3.2. T-stanične neoplazije -----	29
2.4.3.2.1. T-limfoblastični limfom -----	30
2.4.3.2.2. Intestinalni limfom T-stanica -----	31
2.4.3.2.3. Kožni (kutani) limfom -----	31
2.4.3.2.4. Nazalni oblik ektranodalnog limfoma NK i T-stanica -----	32
2.4.4. Prognoza -----	33
2.4.5. Liječenje -----	33
2.4.5.1. Remisija -----	34
2.4.5.2. Povratak bolesti (relaps) -----	35
<b>2.5. Leukemija -----</b>	<b>35</b>
2.5.1. Akutna leukemija -----	37
2.5.1.1. Akutna limfoblastična leukemija (ALL) -----	38
2.5.1.1.1. Korelacija ALL mačaka i FeLV-a -----	43
2.5.1.2. Akutna mijeloična leukemija (AML) -----	44
2.5.1.3. Klinički znakovi bolesti -----	48
2.5.1.4. Prognoza i liječenje -----	49
2.5.2. Kronična leukemija -----	50
2.5.2.1. Kronična limfocitna leukemija (CLL) -----	50

2.5.2.2. Kronična mijeloična leukemija (CML) -----	51
2.5.2.3. Znakovi bolesti -----	51
2.5.2.4. Prognoza i liječenje -----	52
<b>3. ZAKLJUČCI -----</b>	<b>54</b>
<b>4. LITERATURA -----</b>	<b>55</b>
<b>5. SAŽETAK -----</b>	<b>59</b>
<b>6. SUMMARY -----</b>	<b>61</b>
<b>7. ŽIVOTOPIS -----</b>	<b>63</b>

## 1. UVOD

Tema ovog diplomskog rada jest “Patofiziologija leukemija i limfoma” s obzirom na njihov veliki značaj odnosno relativno učestalu pojavu u veterinarskoj medicini. Radi se o bolestima koje nije sasvim jednostavno dijagnosticirati jer se vrlo često radi o izrazito nespecifičnoj kliničkoj slici oboljelih pacijenata. Za početak, bitno je razlikovati te dvije hematopoetske neoplazije koje u kućnih ljubimaca mogu izazivati djelomično slične kliničke znakove.

Leukemija je zloćudna bolest koštane srži koja zahvaća krvne stanice. Naziv bolesti potječe od grčke riječi “*leukos*” koja u prijevodu znači bijelo i “*haima*” koja znači krv, što znači da se radi o bolesti koja zahvaća bijele krvne stanice, leukocite (LADINES – CASTRO i sur., 2016.). S druge strane, limfom je termin koji predstavlja grupu tumora koji uključuju stanice imunološkog sustava, limfocite. Oni su vrsta bijelih krvnih stanica, čija je osnovna funkcija obrana organizma od različitih vrsta infekcija koje se u njemu ponekad javljaju. S obzirom na njihovu ulogu, najveća koncentracija tih stanica nalazi se u organima imunološkog sustava - limfnim čvorovima, slezeni i koštanoj srži. Također, iako se limfom može javiti u bilo kojem organu, on najčešće zahvaća upravo te organe koji čine osnovu imunološkog odgovora.

Ideja ovog rada jest približiti i istražiti patofiziologiju tih dviju bolesti, njihove sličnosti i razlike kroz mehanizme njihovog nastanka, pojavnosti i klasifikacije s fokusom na akutne i kronične leukemije u pasa i mačaka. Uz to, opisati patofiziološke značajke navedenih hematoloških neoplazija, njihovu kliničku sliku i postavljanje dijagnoze, a u konačnici i prognozu bolesti te liječenje.



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

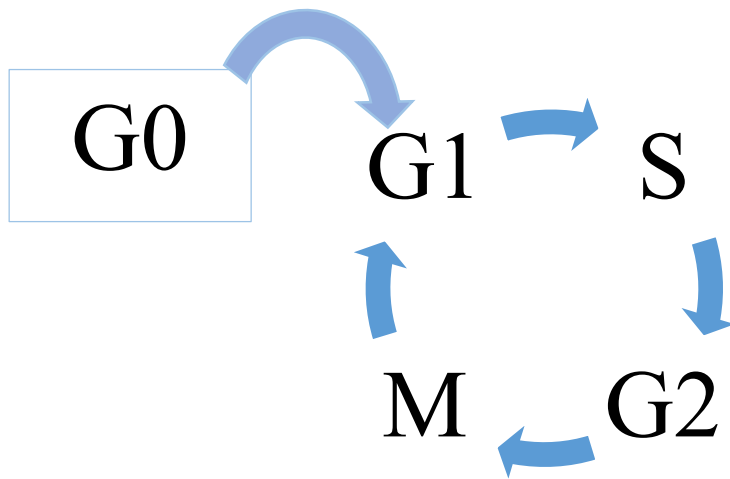
### **2.1. Stanični ciklus i njegova kontrola**

#### 2.1.1. Osnova staničnog ciklusa hematopoetskih stanica

Kako bi se razumio mehanizam nastanka malignih bolesti, potrebno je pojasniti osnovne pojmove u smislu staničnog ciklusa. Ciklus kroz koji prolazi svaka stanica obuhvaća nekoliko različitih koraka kojima se kontrolira sudbina tih stanica (Shema 1).

Prethodnik je faza G0 koja predstavlja period stanice prije ulaska u sam ciklus, to je stanična neproliferacijska faza – faza mirovanja (WEISS i WARDROP, 2010.). U jednom trenutku stanica prelazi u G1 fazu, odnosno ulazi u ciklus gdje će u nekom trenutku biti izražene proliferacijske promjene. G1 faza je najviše obilježena rastom stanice što je rezultat povećanog metabolizma koji se priprema ući u S fazu odnosno sintezu i replikaciju stanice (WEISS i WARDROP, 2010.). Nakon toga slijedi G2 faza koja predstavlja završetak cijelog procesa rasta stanice koji je potreban za diobu stanice, što je ujedno i zadnja faza u koju ulazi – M faza, mitoza.

Navedeni stanični ciklus u zdravih stanica odvija se brzo i jednostavno preko kombinacija određenih signala faze ciklusa, bilo proliferacijskog ili neproliferacijskog. Upravo na taj način, pomoću signala, određuje se sudbina stanica (LEW, 2001.). One pomoću signala ulaze u ciklus, izlaze iz njega ili im je određena programirana stanična smrt – apoptoza (WEISS i WARDROP, 2010.). Cijeli spomenuti sustav reguliranja i kontrole određenih faza razvoja stanice, u staničnom ciklusu, većinski ovisi o proteinima – ciklinima i kinazama ovisnim o ciklinima. Oni usmjeravaju stanice, odnosno omogućuju tranzicije iz faze u fazu ciklusa, njihov ulazak u ciklus, bilo kakvu progresiju i njihov izlazak iz ciklusa (SCHAFER, 1998.; WEISS i WARDROP, 2010.).



Shema 1. Faze staničnog ciklusa

### 2.1.2. Ciklini, kinaze ovisne o ciklinima i njihovi inhibitori

Ciklini predstavljaju osnovne regulatore staničnog ciklusa i podijeljeni su ovisno o fazama ili tranzicijama za koje su zaduženi. Iako postoji puno različitih tipova ciklina koji su dokazani u sisavaca, trenutni fokus je na onima koji sudjeluju u regulaciji staničnog ciklusa i međufaznim tranzicijama (WEISS i WARDROP, 2010.). Kao što je spomenuto ranije, glavna podjela ciklina bazira se na temelju faza u kojima oni sudjeluju, pa su tako grupirani u četiri osnovne skupine. To su G1, G1/S, S i M ciklini. U svakoj od tih grupa nalazi se još određeni broj podgrupa, odnosno tipova ciklina koji su označeni slovima, kao što su D1-3 ciklini i ciklin E (G1 faza), ciklini A i E (S faza) i ciklini tipa B (M faza).

Kinaze ovisne o ciklinima su enzimi koji sudjeluju u procesu fosforilacije kojim fosfatne skupine vežu na specifični protein (PAVLETICH, 1999.; KING, 2007.). Jednom kada je fosfatna grupa vezana na određeni protein, to djeluje u smislu prekidača staničnog ciklusa. On određuje, upravo zbog dodanog fosfata, djelovanje tog proteina u idućim reakcijama u smislu njegove pojačane ili smanjene aktivnosti.

Bitno je naglasiti da ciklini i kinaze ovisne o ciklinima funkcioniraju zajedno u regulacijskim procesima. Ciklini funkcioniraju kao regulacijske podjedinice za kinaze ovisne o ciklinima (*engl. Cyclin-Dependent Kinases*, CDK), jer monomerni CDK u osnovi nemaju katalitičku funkciju (WEISS i WARDROP, 2010.). Ciklini kao samostalni proteini također nemaju enzimsku aktivnost, međutim kada se vežu na CDK, dolazi do aktivacije. Upravo taj

trenutak kada se ciklin i CDK vežu predstavlja jedan od regulacijskih koraka u omogućavanju aktivacije proteinskih kinaza na čemu se temelji pravilno održavanje staničnog ciklusa.

Posljedica vezanja ciklina na CDK je aktivacija enzima. Osim toga, tim vezanjem se CDK usmjeri prema specifičnim ciljnim proteinima, koji su prikladni za onaj period staničnog ciklusa koji kontroliraju ciklini. Navedeno se može prikazati u primjeru spajanja G1/S ciklina s CDK, kada je CDK usmjeren prema ciljnim proteinima S faze što će u konačnici dovesti do poticanja replikacije DNK (KRUDE i sur., 1997.; BARNUM i O'CONNELL, 2014.). Isto tako, M ciklini prilikom spajanja s ciklin-ovisnim kinazama, vode CDK ka ciljnim proteinima M faze koji će tim reakcijama uzrokovati pucanje jezgrine ovojnice.

Inhibitori kinaza ovisnih o ciklinu su proteini koji su ujedno enzimi i oni sprječavaju enzimsko djelovanje kinaza ovisnih o ciklinu. Upravo nekoliko njih preuzima ulogu proteinskih supresora tumora, a funkcioniraju na principu odgađanja ili potpunog zaustavljanja progresije staničnog ciklusa. Podijeljeni su u dvije osnovne grupe, ovisno o njihovom mehanizmu djelovanja.

Prvu grupu predstavljaju inhibitori kinaza ovisnih o ciklinu (*engl. Inhibitors of CDK4, INK4*) u koje spadaju trenutno četiri poznata proteina: p16, p15, p18 i p19 (YANG, 2018.). Navedeni proteini se specifično vežu i inhibiraju monomere CDK4 i CDK6, međutim njihova ekspresija i funkcija ovise o funkcionalnom RB-1 (*engl. Retinoblastoma Protein*) tumor supresorskom genu (Rb). Bez obzira na to, u zdravih i funkcionalnih stanica INK4 proteina, odnosno p16 grupacije proteina, viša razina regulacije može biti postignuta transformacijom faktora rasta  $\beta$  (*engl. The Growth Factor- $\beta$ , TGF- $\beta$* ).

Druga grupacija kinaza ovisnih o ciklinima uključuje inhibitore kinaza ovisnih o ciklinima/inhibitore kinaza (*engl. CDK interacting protein/Kinase inhibitory protein, Cip/Kip*) i u nju su uvršteni p21, p27 i p57 (YANG, 2018.). Princip funkcioniranja ovih proteina zasniva se na blokiranju aktivnosti kinaza ovisnih o ciklinima putem stvaranja neaktivnih trimera čime djeluju na progresiju staničnog ciklusa.

### 2.1.3. Faze ciklusa, tranzicije i njihova progresija

#### 2.1.3.1. G0 i blokiranje ulaska u stanični ciklus

Faza mirovanja, odnosno G0 faza ciklusa, odnosi se na period stanice kada je ona u određenoj vrste homeostaze (WEISS i WARDROP, 2010.). Točnije, ekspresija cikličkih kinaza

i njihovih pomoćnika u reakcijama nije izražena što stanicu ne potiskuje dalje u ciklus i time ona miruje.

Kako bi se spriječila aktivacija T-stanica, što bi uzrokovalo njihov ulazak u ciklus, postoje negativni regulatorni mehanizmi i putevi koji dovode do blokiranja razvoja. Zbog prisutnosti više regulacijskih molekula, dolazi do prigušene signalizacije stanica i integracije protu proliferacijskog, ali i „preživljavajućeg“ signala koji dolaze preko TGF- $\beta$  receptora (WEISS i WARDROP, 2010.).

### 2.1.3.2. Tranzicija iz G0 u G1 fazu i progresija G1 faze

Do aktivacije i pokretanja staničnog ciklusa dovodi niz biokemijskih kaskadnih reakcija, kojima se automatski zaustavlja negativna regulacija, odnosno blokada ciklusa. Pokretač početne reakcije, koja je okidač za daljnju kaskadu reakcija jest, naravno, antigen koji se prihvaća na mjesto T-staničnog receptora (MAK i SAUNDERS, 2006.; WEISS i WARDROP, 2010.). Svi događaji prisutni za vrijeme G1 faze određuju duljinu trajanja te faze i bitni su za nastavak staničnog ciklusa. Određeni preobražajni događaji mogu znatno skratiti vrijeme G1 faze, što u tom slučaju zahtjeva aktivaciju i reakciju kontrolnih točaka. One će spriječiti tranziciju u S fazu ili će odvesti stanicu u smjeru njezine programirane smrti – apoptoze. Upravo iz ovih razloga, tumorske stanice moraju biti sposobne mutirati u velikom obimu kako bi izbjegle sve kontrolne mehanizme (WEISS i WARDROP, 2010.).

„Službeni“ ulazak stanice u stanični ciklus označava vrijeme tranzicije stanice između G0 i G1 faze, iako je taj prijelaz reverzibilan. Kako bi se to postiglo, potrebna je parcijalna ili potpuna aktivacija mnogih kinaza ovisnih o ciklinima, točnije aktivacija CDK4 i ciklin D2 kompleksa te tumor supresorskog gena retinoblastoma (Rb) (WEISS i WARDROP, 2010.). Osim toga, za tranziciju u G1 bitne su aktivacije CDK6 i CDK2, uz inhibitor kinaza ovisnih o ciklinima (*engl. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor*, CDKI) p27 protein koji utječe na progresiju faze. Sve stanice koje postignu dovoljnu koncentraciju navedenih CDK, što posljedično vodi do aktivacije, imaju mogućnost odgovora na proliferacijske signale koji utječu na prijelaz u iduću fazu ciklusa – S fazu. Iako ta mogućnost postoji, one nisu dužne proći tranziciju do S faze sve do kada ne prođu restriksijsku točku (R), što se uglavnom dešava prilikom aktivacije CDK4 i ciklin D3 te CDK2 i ciklin E kompleksa (COOPER, 1991.; WEISS i WARDROP, 2010.).

### 2.1.3.3. Tranzicija i regulacija G1 u S fazu te progresija S faze

Prilikom tranzicije G1/S najbitnija je tzv. „pocket protein family“ („pocket” protein obitelj proteina gdje spadaju retinoblastoma protein i proteini slični retinoblastomu), koja pomoću gena kontrolira navedenu tranziciju na način da uzrokuje njihovu ekspresiju ili supresiju. U nefosforiliranom obliku oni djeluju kao kočnica staničnog ciklusa, dok se fosforilacijom Rb proteina omogućuje aktivacija i dolazi do otpuštanja faktora transkripcije. (WEISS, WARDROP, 2010.).

S faza označava fazu replikacije, što znači da se u tom periodu stvara identična kopija cijelog DNK lanca u jezgri stanice. Drugim riječima, u navedenoj stanici genom se duplicira, čime se bliži mitozu koja rezultira dvjema genomske jednake stanicama (WAYNE, 2019.) Tijekom tog procesa bitan je poredak i aktivacija predreplikacijskih kompleksa koji se poredaju na čak 20 do 40 tisuća genetičkih mjesta prilikom stvaranja jedne kopije DNK lanca (WEISS i WARDROP, 2010.). Kako bi proces krenuo, ishodišta replikacije označavaju mjesta na dvostrukom DNK lancu i nizom reakcija omogućuju helikazama i topoizomerazama odmotavanje i razdvajanje dvaju lanaca (GOEDECKE, 2007.; SAWAN i HERCEG, 2010.; WEISS i WARDROP, 2010.; ). Prilikom njihovog odmotavanja započinje sintetiziranje nove DNK i to se zajednički naziva replikacijskom vilicom (MAGA, 2013.). Replikacijske vilice kreću se od ishodišta replikacije svaka na svoju stranu u suprotnim smjerovima. Za vrijeme cijelog procesa, uslijed oštećenja ili određene promjene i poteškoće tranzicije G1/S faze dolazi do pojave parcijalne ponovne replikacije (WEISS i WARDROP, 2010.). Ona predstavlja okidač za kontrolne točke koje će iz tog razloga uzrokovati zastoj progresije staničnog ciklusa ili rezultirati apoptozom.

S obzirom na replikaciju velikog broja baza, pogreške i oštećenja su moguća te vrlo vjerojatna za očekivati. Kako bi se greška uklonila, odnosno da bi se genom ponovno stabilizirao, replikacija DNK može biti privremeno obustavljena (REHA–KRANTZ i ZHANG, 2013.). Postoji nekoliko različitih varijanti koje stanica može upotrijebiti u slučaju oštećenja DNK, a jednu od njih predstavljaju kontrolne točke koje su bazirane na registriranju zaostalih lanaca replikacijske vilice ili direktnih oštećenja DNK (WEISS i WARDROP, 2010.; REHA – KRANTZ i ZHANG, 2013.). Kada je pogreška uočena, aktiviraju se kinaze i zaustavljaju proces. Uz to, svaka greška koja ne može biti uklonjena i efektivno sanirana, stanicu izravno vodi u apoptozu.

#### 2.1.3.4. Progresija G2 faze i kontrolna točka oštećenja DNK

Jednom kada završi replikacija DNK, stanica prelazi u G2 fazu staničnog ciklusa i u njoj su somatske stanice tetraploidne, što znači da imaju 4 kopije DNK i da su spremne za diobu.

S obzirom na to da je kontrolna točka u S fazi sklona pogreškama, postoji dodatna kontrolna točka u G2 fazi ciklusa. U toj fazi kinaze djeluju kao detektori pogreške DNK, odnosno oštećenja DNK lanca, koji ako uoče pogrešku ponovno blokiraju progresiju (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.1.3.5. M faza

M faza predstavlja zadnju „stepenicu“ staničnog ciklusa i podrazumijeva mitozu – diobu stanica, odnosno period u kojem se odvija kario- i citokineza (FISHER i sur., 2018.). Ona se sastoji od pet faza koje se odvijaju točno prema ovom strogo određenom redosljedu – profaza, prometafaza, metafaza, anafaza i telofaza (ALBERTS i sur., 2002.).

U profazi se kromosomi sve jače kondenziraju međutim još nisu pričvršćeni na diobeno vreteno (ALBERTS i sur., 2002.).

Iz profaze se nastavlja prometafaza, koja u nekim literaturama nije navedena kao zasebna faza iz razloga što se ona smatra samo dijelom profaze. U njoj se zbivaju promjene u vidu raspada jezgrine ovojnice te se kromosomi prihvaćaju na diobeno vreteno (ALBERTS i sur., 2002.).

Nakon prometafaze slijedi metafaza u kojoj se kromosomi linijski poredaju u sredini stanice i prihvaćeni su na diobeno vreteno. Svi se nalaze na jednakoj udaljenosti od svakog pola stanice i još se nisu odvojili prema njima (ALBERTS i sur., 2002.; WEISS i WARDROP, 2010.).

Kako bi se proces mitoze priveo kraju, potrebno je samouništenje ciklina koje se odvija preko proteinske oznake ubikvitina. Kada se ubikvitin preko nespecifičnih enzima aktivira i prenese u ubikvitinski nosač, dolazi do aktivacije ubikvitinske ligaze odnosno kompleksa promotora anafaze i ciklosoma (POON, 2002.). To je enzim čije je djelovanje bazirano na dodavanju prethodno spomenute proteinske oznake ubikvitina (Ub). Kada je ciklin označen ubikvitinom, on odlazi do proteinskih kompleksa proteasoma gdje proteolizom uz pomoć proteaza na kraju biva uništen. Kompleks promotora anafaze predstavlja proteinski kompleks čija je glavna uloga uništavanje M ciklina tijekom anafaze, ali isto tako on uzrokuje destrukciju

proteina koji zadržavaju sestrinske kromatide zajedno, čime dolazi do njihova razdvajanja (POON, 2002.).

Kada je stanica gotovo u potpunosti završila s dijeljenjem, ulazi u telofazu i ponovno uspostavlja normalne stanične strukture. Diobeno vretno nestaje, pojavljuje se jezgrica, stvara se jezgrina membrana i kromosomi se dekondenziraju – vraćaju se u stanje spiralnog kromatina (WEISS i WARDROP, 2010.).

## **2.2. Tumorske stanice u staničnom ciklusu**

Tumori, pa tako i tumorske stanice, direktno su vezani uz stanični ciklus. Svaki tumor nastaje kao posljedica prekomjernog dijeljenja stanica, čiji je razvoj najčešće usko vezan upravo uz aktivnost staničnih regulatora (WEISS i WARDROP, 2010.). U slučaju da uvjeti diobe nisu povoljni u bilo kojoj fazi staničnog ciklusa, inhibitori su zaduženi za blokiranje progresije ciklusa, odnosno zaustavljanje diobe stanica. Drugim riječima, ako stanica ne prati odgovarajući put razvoja tokom staničnog ciklusa, a tih inhibitora nema dovoljno ili je njihova aktivnost na bilo koji način ometena, mogući ishod ciklusa je tumor. Osim negativnih, poteškoće mogu izazvati i pozitivni regulatori, koji ukoliko je njihova aktivnost previsoka također mogu dovesti do razvoja tumora. Bilo koja od navedenih promjena najčešće je povezana s mutacijama gena. Ti geni, koji u jednom trenutku iz nekog razloga mutiraju, kodiraju proteine koji reguliraju stanični ciklus, te oni koji su jednom krivo kodirani rezultirat će lošom kontrolom ciklusa.

Najveći problem koji se javlja kod tumorskih stanica jest taj da se ponašaju drugačije od normalnih i funkcionalnih stanica u tijelu. Jedna od osnovnih razlika između običnih i tumorskih stanica je da se, za razliku od normalnih, tumorske stanice u kulturama stanica nastavljaju dijeliti bez prisustva faktora rasta ili proteina za stimulaciju rasta (COOPER, 2000.). Razlog tome leži u mogućnosti stvaranja vlastitih faktora rasta, a osim toga i u mogućnosti slanja signala susjednim stanicama koje će producirati faktore rasta upravo za te iste tumorske stanice (HANAHAN i WEINBERG, 2011.). Osim svega navedenog, tumorske stanice ignoriraju i zaobilaze sve signale koji blokiraju nastavak diobe. Jedan od primjera je taj da zdrave stanice uz susjedne stanice prilikom pretrpanosti, odnosno pravilnog poretka, prestaju s dijeljenjem jer više nema dovoljno mjesta za nove stanice. Za razliku od njih, tumorske stanice u istoj situaciji ne prestaju s dijeljenjem, nego kreću sa slaganjem jedne povrh druge i čine grudaste nakupine. Uz sve to, tumorske stanice nemaju ograničavajući faktor prilikom

replikacije, što sve ostale zdrave stanice imaju uz određene minimalne izuzetke matičnih stanica i stanica spolnog sustava. Svaki eukariotski kromosom ima telomere, koje se nalaze na njihovim krajevima i one se svakom diobom stanice postupno skraćuju, čime dovode do starenja stanica i to u konačnici stanice dovodi u smrt. Tumorske stanice također imaju telomere, međutim te stanice imaju izraženu ekspresiju enzima telomeraze – specijalizirane DNK polimeraze (HANAHAN i WEINBERG, 2011.). Telomeraza putem proširivanja telomerne DNK djeluje na principu poništavanja skraćivanja telomera, odnosno zaustavljanja progresivne erozije telomera – što se u normalnim uvjetima dešava prilikom svake diobe stanica (HANAHAN i WEINBERG, 2011.).

Izuzev svega navedenog, što je vezano uz stanični ciklus, tumorske stanice ispoljavaju dodatne karakteristike koje ih čine drugačijima od ostalih i u potpunosti jedinstvenima. Neke od tih karakteristika su sposobnost metastaziranja, angiogeneze i izbjegavanja apoptoze. Sve te karakteristike omogućuju tumorskim stanicama rast, diobu i formiranje tumora.

### 2.2.1. Razvoj tumora i mutacije

Kao što je i ranije navedeno, razvoj svakog tumora obuhvaća zaobilazanje mnogih zaštitnih mehanizama stanica i staničnog ciklusa te predstavlja rezultat kontinuiranih brojnih mutacija koje mijenjaju DNK (MALARKEY i sur., 2013.). Drugim riječima, zaobilaze se i vanjske i unutarnje kontrole dijeljenja stanica i izbjegava se programirana smrt stanice. Tumorske stanice imaju brojne karakteristike i mehanizme djelovanja pa ne možemo sa sigurnošću tvrditi da će svaki tumor, bio on benigni ili maligni, nastati identičnim redoslijedom reakcija. Iako postoji više vrsta mutacija i svaki tumor se stvara iz specifičnog seta određenih mutacija - koje ga čine genetski jedinstvenim, mutacije su uglavnom vezane uz dvije vrste regulatora staničnog ciklusa, pozitivne i negativne (BLEAM, 2012.).

Prema tome, postoji mogućnost da je stanica u početku izgubila jedino aktivnost inhibitora staničnog ciklusa, što automatski dovodi do toga da se ona ubrzano dijeli. U tom slučaju stvara se tumorska masa koja je najčešće benigne prirode jer nema potencijal za daljnje širenje – metastaziranje. U slučaju da kroz određeni vremenski period uslijedi više dodatnih mutacija, ne nužno od strane iste stanice, već možda od njezinih stanica kćeri, pojačava se broj dioba i stanice se još brže dijele. Prilikom navedenog, nekad zdrava i funkcionalna stanica, zbog brojnih mutacija krenut će poprimati karakteristike tumorske stanice koja može rezultirati



malignim tumorom. Drugim riječima, u konačnici je moguće pronaći veliku grupu stanica koje se pojačano i ubrzano dijele te invadiraju druga zdrava tkiva.

Tumor u svojim kasnijim stadijima ne znači ništa drugo osim da su mutacije sve češće prisutne i da se zahvaća sve veći dio zdravog tkiva. Iz tog razloga tumori koji su u napredovalom stadiju mogu znatno utjecati na genom, što se može prikazati čak i gubitkom ili umnažanjem kompletnih kromosoma. Navedeni mogu u potpunosti utjecati na tzv. faktor stabilnosti genoma, čija je uloga raspoznavanje oštećenja DNK i popravak istog. U slučaju nemogućnosti popravka, faktor stabilnosti ima ulogu u blokadi prenošenja te mutacije na iduće novonastale stanice. Upravo tumorske stanice i tumori mogu uzrokovati njegovu mutaciju, učiniti ga nefunkcionalnim te na taj način preuzeti potpunu kontrolu nad brojem mutacija.

#### 2.2.1.1. Onkogeni

Svaki gen koji je uključen u funkcionalan razvoj stanice u staničnom ciklusu te koji djeluje na staničnu diobu naziva se protoonkogen. Postoje brojni protoonkogeni, kao što su npr. faktor rasta i ciklini, čija je svrha pozitivna kontrola odnosno regulacija staničnog ciklusa. Svaki onaj koji postane pretjerano aktivan i krene s ekspresijom u prekomjernim količinama, postaje onkogen – promotor tumora (MALARKEY i MARONPOT, 2005.). Tri su glavna razloga i mogućnosti nastanka onkogeno iz protoonkogeno – mutacija, translokacija i amplifikacija (CHOUDHURI i sur., 2018.). Mutacija podrazumijeva nasumičnu promjenu genetskog materijala, odnosno zamjenu jednog nukleotida drugim što rezultira kodiranjem pogrešnog proteina. S druge strane, translokacija će nastati ukoliko se premještajem i ponovnim spajanjem kromosomi pogrešno spoje – protoonkogen se spoji na neki drugi gen i dolazi do poremećaja njegove aktivnosti. Zadnja varijanta jest amplifikacija što je zapravo prekomjerna aktivnost nekog gena. Poblježe opisano, javlja se stanica koja na samom početku dobije dodatne kopije gena što za posljedicu ima stvaranje prekomjerne količine određenog proteina.

#### 2.2.1.2. Tumorski supresori

Geni čija je funkcija prevencija stvaranja malignih tumora, koji za vrijeme staničnog ciklusa blokiraju progresiju ukoliko postoje određena oštećenja DNK, zovu se tumor supresorski geni. Upravo ti geni su negativni regulatori ciklusa, pa su iz tog razloga u tumorskim stanicama ili manje aktivni ili u potpunosti nefunkcionalni. Tumori se pojavljuju u slučaju kada tumorski

supresori mutiraju i više ne registriraju pogreške tijekom ciklusa ili ne pokreću pravilan odgovor.

Najvažniji tumor supresorski gen je p53, koji se još naziva čuvarom genoma, a njegova je uloga pravilan stanični odgovor na oštećenje DNK (SAHORA i KHANNA, 2013.). Njegovo djelovanje je najizraženije za vrijeme G1 faze, točnije u kasnom periodu te faze pa on čini kontrolnu točku u navedenom periodu ciklusa (BENNETT i sur., 2004.). Aktivacijom proteina p53 prilikom očitavanja DNK oštećenja za vrijeme G1 faze, ciklus se privremeno zaustavlja radi djelovanja inhibitora staničnog ciklusa. Nastala pauza služi za popravak oštećenja, što također ovisi o p53, jer je jedna od njegovih uloga i ta da aktivira enzime za popravak grešaka na DNK, te u slučaju da je pogreška uklonjena, p53 stanicu vraća u normalan stanični ciklus, međutim ako ona nije uklonjena on ju šalje u apoptozu. (BENNETT i sur., 2004.). Upravo ovim mehanizmom programirane stanične smrti osigurano je da oštećena stanica ne prenosi DNK pogrešku na iduću generaciju stanica. U tumorskim stanicama p53 često nedostaje, nije funkcionalan ili je njegova aktivnost značajno smanjena. S gubitkom normalne funkcije p53, stanica s oštećenjem DNK nastavlja stanični ciklus i dalje se dijeli, a to znači da njezine stanice kćeri nasljeđuju sve mutacije i prisutna oštećenja. Kako stanični ciklusi stanica kćeri kroz vrijeme napreduju, mutacije se akumuliraju što dovodi do toga da se protoonkogeni mijenjaju u onkogene ili se inaktiviraju drugi tumorski supresori.

### 2.3. Obilježja tumora

Otkriveno je nekoliko funkcionalnih obilježja koja čine tumore sposobnima za transformaciju stanica, od kojih su neki već ranije spomenuti (Shema 2). Većina tumora, ako ne i svi, imaju iste sposobnosti i kombiniraju ih u različitim setovima ili varijantama. Da bi se razvio tumorski fenotip potrebno je nekoliko uzastopnih mutacija, što znači da niti jedan gen samostalno nije odgovoran za transformaciju stanice (WEISS i WARDROP, 2010.).

Samodostatnost signala rasta	Neosjetljivost na signale protiv rasta	Mogućnost izbjegavanja apoptoze
Veliki replikacijski potencijal	Kontinuirano održavanje angiogeneze	Invadiranje tkiva i metastaziranje

Shema 2. Šest osnovnih karakteristika tumora koje omogućuju transformaciju

### 2.3.1. Samodostatnost signala rasta

Za održavanje normalnog broja stanica u tijelu, jednako kao i njihove ispravne funkcije zadužen je proces homeostaze. Homeostaza se postiže na mnogo načina, a sve se većinski bazira na staničnoj komunikaciji pomoću signala i gradijenata (WEISS i WARDROP, 2010.; HANAHAN i WEINBERG, 2011.). Upravo na taj način funkcioniraju autokrini, parakrini i endokrini mehanizmi signalizacije, a svi navedeni su regulirani citokinima. Sustav komunikacije temelji se na vezanju citokina na transmembranski receptor čime se pokreće kaskadna reakcija koja u konačnici rezultira transkripcijskim promjenama stanica (WEISS i WARDROP, 2010.). U funkcionalnom sustavu prilikom manjka ciklina ili nemogućnosti ekspresije receptora, sustav se zaustavlja. Problem se javlja u slučaju mutacija na bilo kojoj od molekula koje sudjeluju u regulaciji navedenog procesa, prilikom čega se javlja održavanje koncentracije signala rasta zbog nedostatka aktivacijskog ciklina. Kao rezultat daljnjih reakcija u cijelom procesu, pojavljuju se mutirani protoonkogeni, odnosno onkogeni, koji stanicama omogućuju samodostatnost iz okolišnih signala (WEISS i WARDROP, 2010.).

### 2.3.2. Neosjetljivost na signale protiv rasta

Kako bi se održala homeostaza staničnog ciklusa potrebni su signali koji djeluju suprotno faktoru rasta, odnosno zaustavljaju ga. Oni su integrirani u tumor supresorske gene i cilj njihovog djelovanja je zadržavanje homeostaze staničnog ciklusa, koja se manifestira pravilnim odvijanjem hematopoeze, upalnog odgovora te pokretanjem imunološke reakcije u organizmu. Gubitak funkcije u jednom ili više tumor supresorskih gena dešava se u svakom tumoru, uz inaktivaciju p53, RB-1 i drugih proteina, a što je vidljivo u čak više od 50% svih tumora (WEISS i WARDROP, 2010.).

### 2.3.3. Mogućnost izbjegavanja apoptoze

Sve stanice koštane srži u normalnim i funkcionalnim uvjetima prije ili kasnije završavaju programiranom smrću stanice. Najčešće se to dešava kada su im ograničeni određeni faktori preživljavanja (kao što je to na primjer faktor matičnih stanica), u slučaju kada su izražene teže poremetnje u staničnoj funkciji ili nema dovoljno nutrijenata (WEISS i WARDROP, 2010.). Tumorske stanice, za razliku od funkcionalnih stanica, imaju mogućnost izbjegavanja apoptoze, što može biti posljedica raznih mehanizama ograničavanja programirane smrti koji joj pri tome

pomažu. Zaobilaženje apoptoze može biti rezultat gubitka funkcije tumor supresorskih gena poput p53, čija je normalna funkcija promocija apoptoze (WEISS i WARDROP, 2010.; HANAHAN i WEINBERG, 2011.). Osim toga, apoptoza se može ograničiti zbog prekomjerne funkcije i ekspresije gena koji djeluju protuapoptotično (npr. BCL2) ili pojačanih signala preživljavanja (WEISS i WARDROP, 2010.; HANAHAN i WEINBERG, 2011.).

#### 2.3.4. Veliki replikacijski potencijal

Kao što je ranije spomenuto, tumorske stanice imaju izrazito velik replikacijski potencijal, one nisu ograničene telomerama zbog prisutnosti telomeraze što ih čini „besmrtnima“. Upravo u hematopoetskim stanicama je ta aktivnost telomeraze zadržana još duže nego u ostalih somatskih stanica što dodatno otežava kliničku sliku, pa tako i liječenje leukemija i limfoma (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.3.5. Kontinuirano održavanje angiogeneze

Angiogeneza je fiziološki proces kojeg karakterizira stvaranje novih krvnih žila, najčešće kao odgovor na ishemiju tkiva. Tumori imaju sposobnost pokretanja i održavanja angiogeneze stvaranjem vlastite mreže krvnih žila i krvotoka kojim se omogućuje daljnji rast i razvoj stranih masa. Za razliku od fiziološkog procesa angiogeneze koji se zbiva u tijelu mjestimično i prolazno, jednom aktivirana tumorska angiogeneza se odvija kontinuirano čime se održava širenje neoplastičnih promjena (HANAHAN i WEINBERG, 2011.). Kod tumorske angiogeneze jedan od bitnijih sudionika jest vaskularni endotelni faktor rasta (*engl. Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF*). On je signalni protein i stvaraju ga mnoge stanice u tijelu, ali isto tako i tumorske stanice. On se veže na receptore tirozinske kinaze, a jednog od njih (VEGFR–1) stvaraju pojedine tumorske stanice čime se pokreće vlastiti sustav uspostave kolateralnog krvožilja tumorskih stanica. Osim VEGF, tumorske stanice stvaraju i osnovni fibroblastni faktor rasta (*engl. basic Fibroblast Growth Factor, bFGF*), angiopoetine i interleukin-8, a svi oni su faktori angiogeneze i stimuliraju susjedne stanice na proliferaciju i migraciju (WEISS i WARDROP, 2010.). Svi navedeni djeluju sinergistički s epidermalnim faktorom rasta (*engl. Epidermal Growth Factor, EGF*), transformirajućim faktorom rasta  $\alpha$  (*engl. Transforming Growth Factor- $\alpha$ , TGF- $\alpha$* ) i hepatocitnim faktorom rasta (*engl. Hepatocyte Growth Factor, HGF*), koje stvaraju fibroblasti povezani s tumorima, da uspostave krvnu

mrežu. Također, endotelne stanice proizvode podjedinicu B faktora rasta dobivenu trombocitima (*engl. Platelet-derived Growth Factor Subunit B, PDGF-B*) koja nakon aktivacije pripadajućeg receptora uzrokuje regrutaciju pericita u kapilarama. Za kraj, smrt bilo koje tumorske stanice dovodi do otapanja krvnih žila i otpuštanja endotelnih stanica u cirkulaciju (WEISS i WARDROP, 2010.). Angiogeneza čini bitnu kariku razvoja tumora, posebice onih hematopoetske prirode, što se pokušava maksimalno iskoristiti u liječenju istih pomoću blokatora angiogeneze.

#### 2.3.6. Invadiranje tkiva i metastaziranje

Ovo obilježje tumora nije u potpunosti razjašnjeno, međutim Isaiah J. Fidler ga je 1978. godine predstavio kao invazijsko-metastatsku kaskadu u smislu stjecanja određenih mogućnosti koje dozvoljavaju stanicama napuštanje primarnog mjesta akumulacije (WEISS i WARDROP, 2010.; HANAHAN i WEINBERG, 2011.). U radu je objašnjeno kako se radi o staničnom biološkom procesu koji nakon lokalne invazije tkiva omogućuje staničnu migraciju putem krvi ili limfe i invadiranje strome stanica na drugim lokacijama (WEISS i WARDROP, 2010.; HANAHAN i WEINBERG, 2011.). Nedavna istraživanja pokazuju mogućnosti tumora u smislu protjerivanja dijela na udaljenija mjesta, a isto tako njihovu mogućnost preživljavanja u kapilarnoj mreži. Tumori koji proizlaze iz koštane srži upravo su ti koji su metastatski, zato što njihove stanice imaju intrinzične faktore, koji im omogućuju transport po cijelom tijelu i različitim organima (WEISS i WARDROP, 2010.).

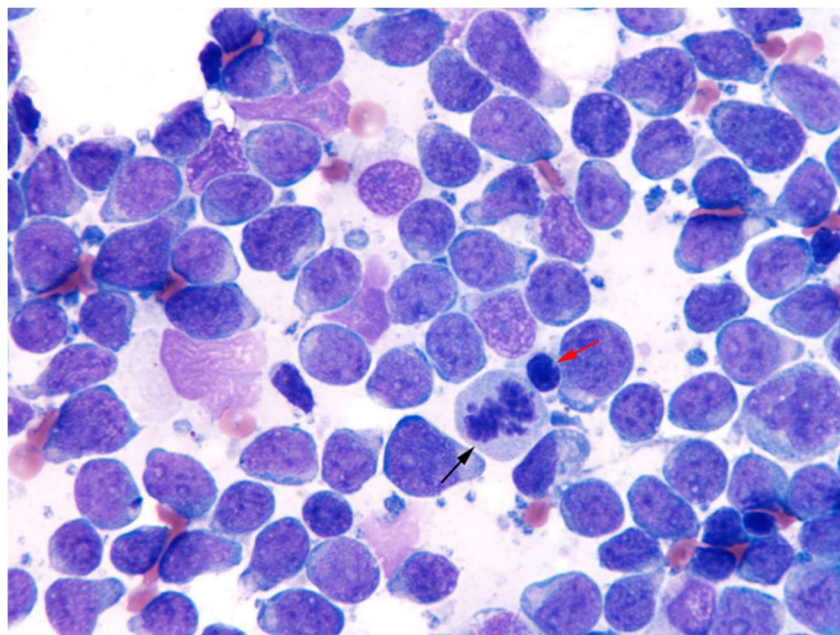
## 2.4. Limfom

#### 2.4.1. Osnovne značajke limfoma pasa i mačaka

Limfom, kao tumor čije tumorske stanice potječu iz stanica imunološkog sustava – limfocita (Slika 1), u pasa je jedan od najčešćih malignih neoplazija (ITO i sur., 2014.). Iz tog razloga provode se učestala epidemiološka istraživanja kako bi se ustanovili i pobliže opisali njegovi uzroci nastanka. Iako su još u postupku istraživanja, trenutno su opisana tri moguća rizična faktora koja utječu na njegovu pojavu u pasa (WEISS i WARDROP, 2010.). Jedan od njih čine okolišni čimbenici, poput toga da su psi bili pojačano izloženi određenoj vrsti herbicida, neki od njih bojama i otapalima iz domaćinstva ili da su živjeli u industrijski aktivnim područjima. Niti jedna od navedenih teorija nije potvrđena u potpunosti, pa se iz tog razloga okolišni

čimbenici još uvijek razmatraju kao rizik nastanka ovih neoplazija (WEISS i WARDROP, 2010.). Drugi rizični faktor, također nedovoljno istražen, koji se djelomično smatra odgovornim za pojavu ovih tumora jest genetički, odnosno on predstavlja nasljedni rizik. Zaključci koji su doveli do ovog faktora uglavnom su izvučeni iz činjenica da su psi vrsta koja ima jedan od najvarijabilnijih i najfleksibilnijih genoma. Također, pretpostavka je da i čovjek utječe na njihovu pojačanu prijemljivost za ovu bolest putem pasminskih selekcija, križanja i brojnih izravnih i neizravnih genskih manipulacija (WEISS i WARDROP, 2010.). Kao sporadične informacije i pretpostavke za pojavu limfoma kod pasa javlja se geografski rizični faktor, koji je najmanje istražen i nije toliko uvriježen.

Iako kod mačaka također postoji više rizičnih faktora, a to su okolišni, zarazne bolesti i genetski/nasljedni, od njih je potvrđen onaj vezan uz zarazne bolesti (WEISS i WARDROP, 2010.). Dokazano je da su mačji retrovirusi značajno povezani s razvojem i pojavom limfoidnih neoplazija. U provedenim istraživanjima podaci su doveli do zaključka da su mačke koje su bile inficirane FeLV virusom u 62,1 puta većoj šansi razvoja leukemija i limfoma, od onih koje nisu bile inficirane. One koje su istovremeno bile zaražene FeLV i FIV virusima, imale su čak 77,3 puta veću šansu razvoja navedenih neoplazija (WEISS i WARDROP, 2010.). Osim navedenog, pobliže bi se trebao istražiti okolišni čimbenik izloženosti duhanskom dimu u roku od 5 godina ili više, koji je u nekim od istraživanja pokazao 3,2 puta veću šansu razvijanja limfoma u mačaka (WEISS i WARDROP, 2010.).



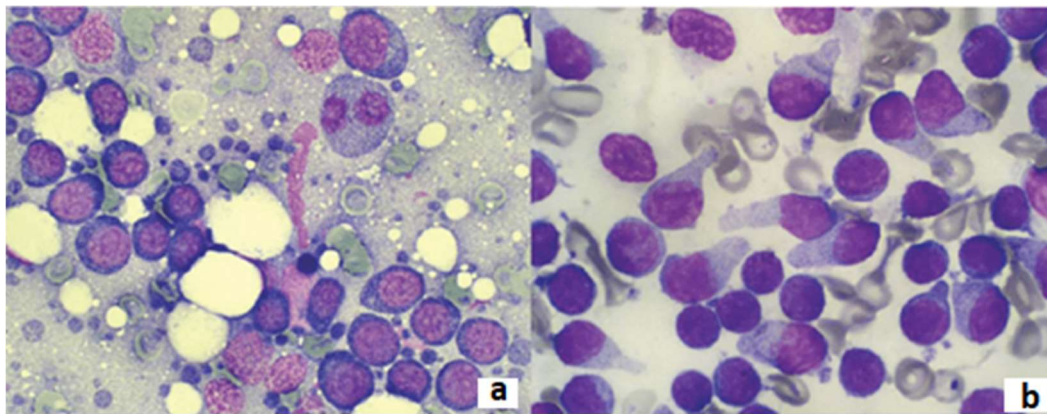
Slika 1. Mikroskopski prikaz preparata aspirata limfnog čvora psa koji boluje od limfoma, Wright Giemsa bojanje

Vidljive su izrazito velike limfocitne stanice s obojanom citoplazmom i periferno posloženim jezgicama. Razlika u veličini se može usporediti s normalnom veličinom zrele limfocitne stanice (označena crvenom strelicom). Crnom strelicom označen je vidljiv proces mitoze u stanici. Kod navedenog psa zabilježene su niske količine limfoblata u razmazu periferne krvi bez citopenije, uz manje od 5% limfoblata u aspiratu koštane srži. (Izvor: eClinPath.com, Cornell University, <https://eclinpath.com/hematology/leukemia/leukemia-types/lymphoma-in-a-dog/> 9.9.2021)

#### 2.4.1.1. Klasifikacija limfoma

Kroz povijest se koristilo mnogo različitih klasifikacija limfoma, koje se nisu podudarale diljem svijeta. Jedne su se koristile u Europi, a druge u Americi ili su one bile međusobno kombinirane. Velika većina njih obuhvaćala je prerade dotadašnjih klasifikacija na temelju novih zaključaka donesenih istraživanjima, dijagnostikom, ali i samom građom ovih neoplazija (WEISS i WARDROP, 2010.). Razlog poteškoćama prilikom svakog pokušaja klasificiranja ovih tumora javlja se upravo iz razloga njihove velike razlike. Razlike su vidljive u njihovoj staničnoj morfologiji i imunofenotipu, histološkoj građi, anatomskom području zahvaćanja i biološkom ponašanju. Kako bi se smanjila mogućnost pogrešaka i zabune u različitim vrstama klasifikacije istih tumora, WHO (*engl. World Health Organisation*) je preuzeo inicijativu u internacionalizaciji podjele limfoma prilikom kliničkog rada veterinaru diljem svijeta. Održavanjem sastanaka internacionalnih stručnjaka postignut je konsenzus u vezi s

klasifikacijom limfoidnih neoplazija što je objavljeno 1994. godine pod nazivom „R.E.A.L.“ (HARRIS i sur., 2000.). Puni naziv jest *Revised European–American Classification of Lymphoid Neoplasms*, čijim se nazivom opisuje da se radi o klasifikaciji koja je većinski proizašla iz europsko-američke klasifikacije koja je napravljena krajem 20. stoljeća (HARRIS i sur., 2000.; WEISS i WARDROP, 2010.). Trenutni sustav klasifikacije bazira se na podjeli limfoma koja obuhvaća različita svojstva ovih tumora. Pri tome se oni razvrstavaju s obzirom na histologiju i morfološku građu tumora, njihove genetska svojstva uz korelaciju prognoze bolesti i pripadajuće terapije (HARRIS i sur., 2000.; WEISS i WARDROP, 2010.). Osim toga, limfomi se, obzirom na razvoj i tijek kliničke slike te mikroskopski nalaz, mogu pobliže opisati kao limfomi niskog ili visokog stupnja (Slika 2).



Slika 2. Mikroskopski prikaz citološkog nalaza limfoma visokog i niskog stupnja

a. Limfom visokog stupnja, difuzni limfom B-stanica. b. Limfom niskog stupnja, limfoplazmocitni T-stanični limfom (IZVOR: ZANDVLIET, 2016.)

#### 2.4.1.2. Klinički oblici limfoma pasa i mačaka

U kliničkoj slici limfoma pasa i mačaka postoje određene razlike u smislu učestalosti različitih oblika koji se kod njih javljaju. Kod pasa se češće javlja multicentrični oblik, dok je u mačaka najčešći limfom gastrointestinalnog trakta, tj. alimentarni limfom (WEISS i WARDROP, 2010.).

Multicentrični limfom pasa se zbog svojih značajki često uspoređuje s humanim ne-Hodgkinovim limfomom, a u njegovoj pojavi bitnim se smatraju okolišni i genetski čimbenici (ZANDVLIET, 2016.). Iako postoji više vrsta kliničke manifestacije multicentričnog limfoma



pasa, on najčešće zahvaća sve periferne limfne čvorove, ali isto tako i limfoidna tkiva kao što su traheobronhalno, sublumbarno i mezenterijsko tkivo (WEISS i WARDROP, 2010.; ZANDVLIET, 2016.). Osim navedenog, u nekim slučajevima mogu biti zahvaćena i tkiva poput tonzila, jetre i slezene iako su te pojave rjeđe (WEISS i WARDROP, 2010.). Upravo iz tog razloga se multicentrični limfom, prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji, može svrstati u određen stadij (I–V), ovisno o njegovoj progresiji u organizmu (Tablica 1), a osim toga poznati su i njegovi podstadiji s obzirom na izražene sistemske znakove (Tablica 2) (OWEN, 1980.). Također, zbog svih prethodno spomenutih obilježja, ovaj oblik limfoma najčešće se pojavljuje u srednjem do uznapredovalom stadiju (ZANDVLIET, 2016.). Osim različite kliničke manifestacije, ova vrsta limfoma varira i svojom histološkom građom s obzirom na tip zahvaćenih stanica, ali u najvećem broju slučajeva radi se o B-staničnom limfomu (ZANDVLIET, 2016.).

Tablica 1. Stadiji multicentričnog limfoma. Napisano prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) (Izvor: OWEN, 1980.)

STADIJI LIMFOMA				
I	II	III	IV	V
Zahvaćen jedan limfni čvor ili limfoidno tkivo u jednom organu, ne uključujući koštanu srž.	Regionalno zahvaćanje više limfnih čvorova, najčešće samo na jednoj strani. Moguće zahvaćene tonzile.	Generalizirano zahvaćanje limfnih čvorova duž cijelog tijela.	Uz promjene koje se javljaju u stupnjevima I-III, zahvaćene su jetra i/ili slezena - bez obzira na to jesu li primarno mjesto tumora ili su zahvaćene metastazama.	Uz promjene I-IV stupnja, zahvaćeni su krv ili koštana srž.

Tablica 2. Podstadiji multicentričnog limfoma. Napisano prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) (Izvor: OWEN, 1980.)

Podstadiji	
a	b
Bez sistemskih znakova bolesti.	Uz sistemske znakove bolesti (vrućica, gubitak težine više od 10% tjelesne mase, hiperkalcemija).

Za razliku od multicentričnog, kod primarnog gastrointestinalnog limfoma u pasa maligni limfociti su najčešće smješteni u probavnom sustavu i u drugim abdominalnim organima, kao što su slezena, jetra i mezenterijski čvorovi (WEISS i WARDROP, 2010.). Bitno je naglasiti da kod ove varijante limfoma periferni limfni čvorovi nisu zahvaćeni. Ovaj limfom je izrazito agresivan i kod pasa je vrijeme preživljavanja jako kratko, čak i uz intenzivnu njegu i terapiju (WEISS i WARDROP, 2010.). Ostali oblici limfoma koji se pojavljuju kod pasa su medijastinalni ili ekstranodalni (npr. kutani, očni, plućni, limfom jetre i mnogi drugi) (WEISS i WARDROP, 2010.). Navedeni su od manjeg značaja iz razloga što se pojavljuju znatno rjeđe od multicentričnog oblika i njihova klinička slika je najčešće izražena u sustavu kojeg zahvaćaju.

Kod mačaka se pojavljuju alimentarni-gastrointestinalni, multicentrični, bubrežni, medijastinalni limfomi i limfom nosnih prohoda. U najvećem postotku pojave u mačaka navodi se alimentarni limfom čije su morfološke značajke različite, a samim time je uvjetovana prognoza bolesti i njen ishod (KRICK i SORENMO, 2016.). Upravo zbog različitog kliničkog pristupa potrebno je znati o kojem zahvaćenom staničnom podtipu se radi, točnije jesu li zahvaćene velike ili male stanice (WEISS i WARDROP, 2010.; KRICK i SORENMO, 2016.). S obzirom na to u kojoj se histološkoj i biološkoj varijanti javljaju oni mogu biti niskog, srednjeg ili visokog stupnja. Primijećeno je da većina onih koji su niskog stupnja odgovaraju limfomima malih stanica, a onih visokog stupnja, limfomima blastnih velikih stanica (KRICK i SORENMO, 2016.). Podosta toga još uvijek nije razjašnjeno, posebice vezano uz korelaciju podtipova, stadija i ishoda same bolesti, ali najbolji sustav podjele i klasifikacije je onaj koji je napravljen od strane Svjetske zdravstvene organizacije (WHO). Radi lakšeg razumijevanja, KRICK i SORENMO (2016.) su u svojem radu upravo preko prethodno navedene klasifikacije razvrstali sve mačje gastrointestinalne limfome u tri bazične kategorije. Prva kategorija je

obilježena T-staničnim limfomima koji su vezani uz enteropatije tipa II, gdje su T-limfociti male do srednje veličine i maligni limfociti u pravilu ne invadiraju submukozu. Drugu kategoriju čine T-stanični limfomi koji su vezani uz enteropatije tipa I, gdje transmuralni infiltrati malignih limfocita variraju veličinom, ali ih je više velikog nego malog staničnog tipa. U treću i zadnju kategoriju uvršteni su veliki difuzni B-stanični limfomi koji su također obilježeni transmuralnom zahvaćenošću (KRICK i SORENMO, 2016.).

Kao što je ranije spomenuto, kod mačaka se može javiti renalni odnosno bubrežni limfom, a mačke koje boluju od njega u pravilu pokazuju nespecifične simptome ili neke od osnovnih simptoma insuficijencije bubrega. Većina mačaka koje boluju od bubrežnog limfoma, njih gotovo 50%, pozitivno je na FeLV, uz što se vežu dodatne poteškoće što komplicira kliničku sliku ovih pacijenata (BRESHEARS i CONFER, 2017.). Također, imunofenotipizacijom bubrežnog limfoma može biti utvrđeno radi li se o T- ili B-limfocitima s obzirom na to da se pojavljuju u obje varijante stanične infiltracije (BRESHEARS i CONFER, 2017.).

Iako je danas sve rjeđa njegova pojava, još jedan od oblika limfoma u mačaka jest medijastinalni limfom, a navedeni limfom zahvaća organe limfnog sustava u području medijastinuma, kao što su timus i medijastinalni limfni čvorovi. Smatra se da je jednako kao i ostali oblici limfoma usko vezan uz FeLV infekcije pa tako, većina životinja koja boluje od ovog limfoma također je pozitivna na FeLV (FABRIZIO i sur., 2013.). Također, zahvaća pretežito mlađe mačke i smatra se kako su sijamske mačke djelomično predisponirane za razvijanje ovog oblika limfoma (FABRIZIO i sur., 2013.).

Posljednji, pa tako i najrjeđi limfom mačaka jest tip limfoma koji zahvaća nosne prohode i nazofaringealno tkivo (WEISS i WARDROP, 2010.). Iako se kod njega mogu javiti deformacije lica i glave, najčešće se javljaju klasični simptomi bolesti respiratornog sustava poput kihanja i seroznog do mukoznog iscjetka koji može biti sa ili bez primjesa krvi (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.4.1.2.1. Korelacija mačjeg limfoma i FeLV-a

FeLV (*engl. Feline Leukemia Virus*) je retrovirus koji inficira mačke i jedan je od važnijih uzročnika imunosupresije u tih životinja, a poznat je u tri genotipa (A, B i C). A varijanta je sveprisutna u okolišu i ubikvitarne je prirode, dok su B i C mutirane varijante virusa, koje nastaju pod utjecajem rekombinacije tipa A s endogenim retroviralnim sekvencama (WEISS i

WARDROP, 2010.). S obzirom na razlike u varijantama virusa zbog različite viralne rekombinacije, patogeneza, klinička slika, tip bolesti pa tako i njen ishod razlikuju se i variraju od generalne imunosupresije organizma pa sve do aplastične anemije, T-staničnog limfoma i mijeloične leukemije (WEISS i WARDROP, 2010.).

Iako se incidencija FeLV pozitivnih mačaka koje razvijaju limfom svakodnevno smanjuje zbog učestale primijene cjeviva, mačji limfom sa svojih 33% i dalje predstavlja jednu od najčešće dijagnosticiranih malignih bolesti s obzirom na ukupan broj malignih bolesti koje se pojavljuju u mačaka (NORTH i BANKS, 2009.). Kod FeLV pozitivnih mačaka koje razvijaju limfom u pravilu se radi o mlađim jedinkama i one najčešće razvijaju medijastinalni oblik, ali to ne isključuje mogućnost pojave i drugih tipova limfoma, uz što je većina njih B-staničnog podrijetla, s izuzetkom upravo medijastinalnog limfoma gdje prevladavaju T-stanice (NORTH i BANKS, 2009.).

#### 2.4.2. Osnovne značajke limfoma farmskih životinja

Jedan od razloga zašto tema limfoma kao bolesti farmskih životinja nije dovoljno istražena i opisana, leži u smanjenoj zainteresiranosti za liječenjem ovih životinja i to najčešće iz gospodarskih razloga – neisplativosti. Jedinu iznimku toga predstavlja enzootska leukoza goveda koja je uzrokovana virusom iz porodice *Retroviridae*, koja se u Hrvatskoj prema „Naredbi o mjerama zaštite zdravlja životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2021. godini“ nadzire, kontrolira i suzbija.

Kod pojave limfoma u konja poznato tek nekoliko osnovnih značajki, kao što je činjenica da se najčešće javlja u multicentričnom obliku. Osim toga, također je poznato da je zabilježeno više slučajeva T-staničnih multicentričnih limfoma kod ovih životinja nego onih s većinskom infiltracijom B-stanica (WEISS i WARDROP, 2010.).

##### 2.4.2.1. Enzootska leukoza goveda

Enzootska leukoza goveda je bolest koja je uzrokovana onkovirusom tipa C roda *Deltaretrovirus*, porodice *Retroviridae*, a pogađa govedo, ovce i koze (WEISS i WARDROP, 2010.). Mehanizam djelovanja ovog virusa zasniva se na integraciji u DNK stanice domaćina pomoću enzima reverzne transkriptaze. Na taj način stvara se provirus, a čitav proces replikacije ovisi o staničnoj proliferaciji i mitozu (WEISS i WARDROP, 2010.; UNDERWOOD i sur.,

2015.). Virus primarno inficira B-stanice i uzrokuje perzistentnu limfocitozu, a u nekih životinja izaziva neoplastično bujanje B-stanica (WEISS i WARDROP, 2010.).

Bolest zahvaća samo odrasle jedinke i većina ih u pravilu ne razvija kliničke znakove, kod nekih se javlja prethodno spomenuta perzistentna limfocitoza, a otprilike 5% zaraženih životinja razvije B-stanični limfom (UNDERWOOD i sur., 2015.). Tamo gdje su prisutni, klinički znakovi bolesti često su nespecifični pa se javlja lošija kondicija, pad mliječnosti, slabost, anoreksija, melena, ataksija, pareza itd. i oni su najčešće vezani uz lokalizaciju neoplastičnog procesa (UNDERWOOD i sur., 2015.). Ovaj tumor je, kao i ostali, povezan s limfoidnim tkivima i najčešće zahvaća limfne čvorove, sirište, kralježničnu moždinu i maternicu. Osim toga može zahvatiti i druga tkiva i lokacije poput srca, bubrega, crijeva i retrobulbarnog prostora od kojeg će se svaki oblik klinički vidljivo razviti u smjeru onog organa koji je zahvaćen (UNDERWOOD i sur., 2015.).

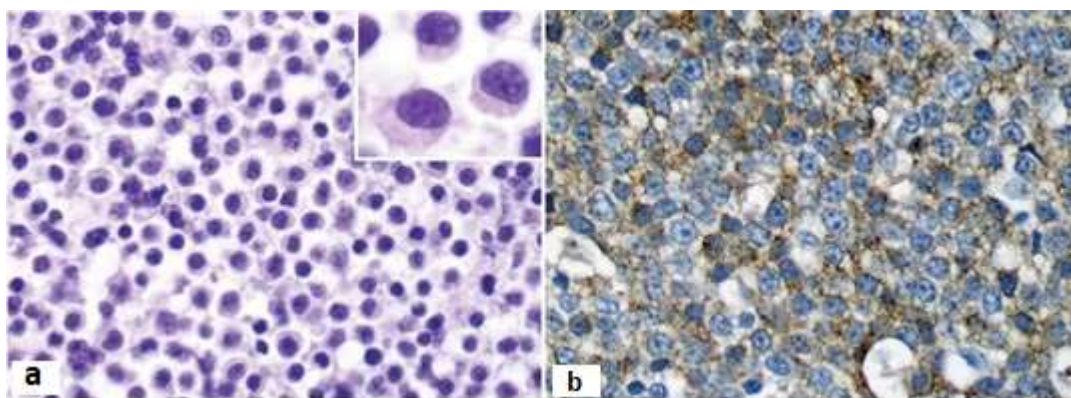
Osim enzootske leukoze goveda, limfosarkom i limfom goveda mogu se odnositi i na sporadičnu leukozu. To je bolest koja pretežito zahvaća mlađa goveda i javlja se u tri oblika: juvenilni, timusni i kožni te ne predstavlja veću kliničku važnost (UNDERWOOD i sur., 2015.).

### 2.4.3. Limfom prema tipu stanične infiltracije

#### 2.4.3.1. Neoplazije B-stanica

##### 2.4.3.1.1. Limfoplazmocitni limfom

Limfoplazmocitni limfom može se pojaviti kod svih domaćih životinja, međutim najčešći je u starijih mačaka i konja, a njegove stanice imaju povećanu citoplazmu (WEISS i WARDROP, 2010.). U konja se javlja uglavnom u intestinalnom obliku, a u mačaka u intestinalnom ili ponekad u medijastinalnom obliku. U velikoj većini slučajeva limfoplazmocitnog limfoma moguće je pronaći površinska i citoplazmatska IgM protutijela, pozitivan nalaz CD79a i CD20, a nalaz T-staničnih markera je negativan (WEISS i WARDROP, 2010.). Prilikom dijagnostike traže se specifični tipovi stanica u limfnim čvorovima, slezeni i koštanoj srži (Slika 3).



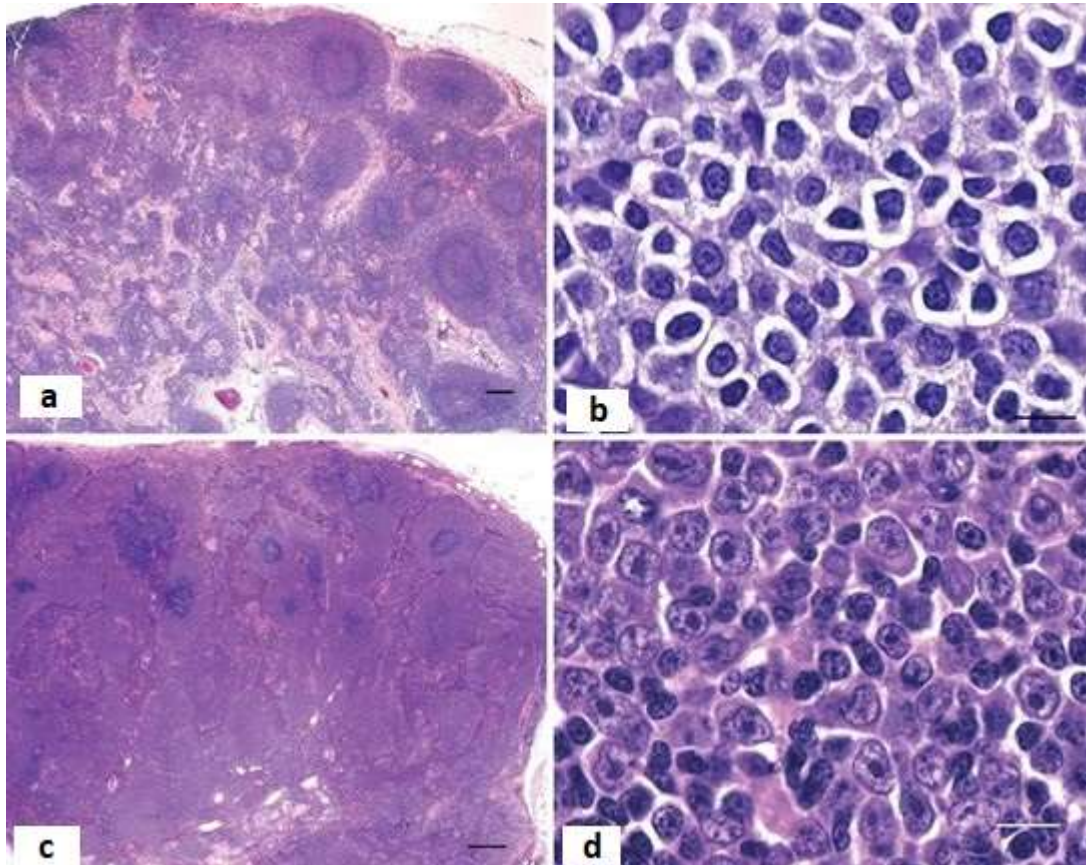
Slika 3. Mikroskopski preparati limfnog čvora psa

a. Limfoplazmocitni limfom psa koji je niskog stadija, obojen hematoksilin-eozinom. b. Difuzno slabo bojanje transferinskog receptora-1 koje je uočeno u više od 75% neoplastičnih stanica. Bojanje streptavidin-peroksidazom uz hematoksilin protubojanje. (Izvor: PRIEST i sur., 2010.)

#### 2.4.3.1.2. Limfom marginalne zone

Ovo je indolentni limfom koji se javlja u ljudi, a obilježje mu je da se njegove stanice akumuliraju u koncentričnom obliku naslaga proliferacijske zone marginalnih stanica (WEISS i WARDROP, 2010.). Pojam „indolentan“ označava limfom koji je sporo rastući i kontinuiran pa tako uz njega pacijent može živjeti dulje vremena i u pravilu ima bolji odgovor na terapiju. Pretpostavlja se da se javlja kod svih životinja, međutim najčešće je nađen kod zrelih pasa i nešto rjeđe u mačaka (WEISS i WARDROP, 2010.). Kod ovog limfoma izražena je vrsna razlika na temelju oblika u kojima se on javlja, pa je tako u ljudi on uvijek u difuznom obliku, dok je kod pasa gotovo uvijek u fokalnom multinodularnom obliku. Kod ovog limfoma literatura nije u potpunosti razjašnjena s obzirom na određene pojmove kliničke slike, širenja i anatomske lokacije tumora. Tako se u pasa javlja najčešće u zreloj dobi, zahvaća jedno mjesto te je u većini slučajeva zahvaćen submandibularni limfni čvor, a limfni čvorovi su u pravilu pomični. Opće stanje životinje u pravilu nije poremećeno, životinje se osjećaju dobro te su ponašanje, aktivnost i apetit normalno izraženi (WEISS i WARDROP, 2010.). S druge strane, tumor zahvaća slezenu i to uz širenje na hilarne limfne čvorove, a mišljenje nekih autora jest da ovaj limfom zapravo i potječe iz slezene odakle se onda polagano širi po tijelu (BOES i DURHAM, 2017.). Najčešće je izraženo širenje u limfne čvorove diljem tijela te oni poprimaju izgled mrljastih, bijelo-crvenih i glatkih tzv. spleničnih masa koje su sferičnog oblika (BOES i DURHAM, 2017.). Također, kod tih se životinja s vremenom može razviti limfadenopatija, međutim oni bez obzira na to nastavljaju biti dobrog općeg stanja. Slično prethodnom limfomu,

limfomi marginalne zone pozitivni su na B-stanične markere, uključujući CD20 i CD79a, a negativni su na T-stanične markere (WEISS i WARDROP, 2010.). Neoplastični limfociti marginalne zone srednje su veličine, imaju istaknutu središnju jezgricu, a mitoze su neizražene ili rijetke (Slika 4), s time da se povećavaju kako bolest napreduje (BOES i DURHAM, 2017.).



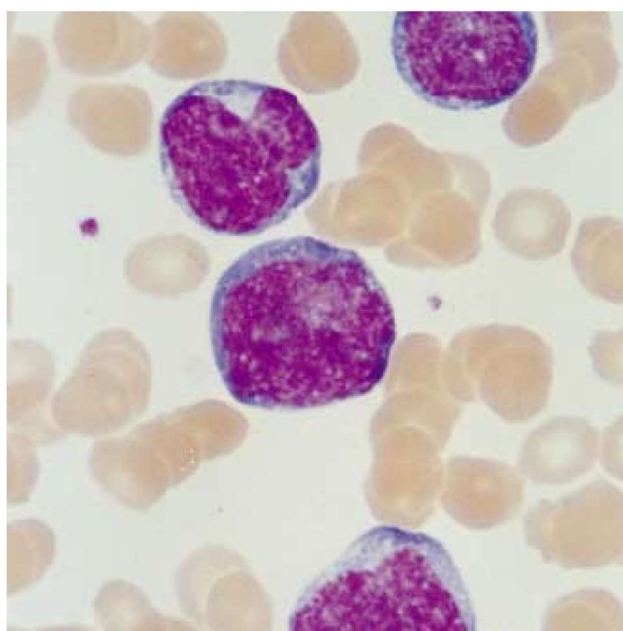
Slika 4. Prikaz limfnog čvora psa s marginalnim limfomom u ranom (a i b) i kasnom (c i d) stadiju, bojanje hematoksilin – eozinom

4a. Spajanje marginalne zone proliferacije s germinalnim centrom. 4b. Veliko povećanje slike 4a. gdje je vidljivo obilje citoplazme u kojima su centralno smještene ovalne jezgre srednje veličine s izraženim jezgricama u sredini, mitoze nisu vidljive. 5a. Folikularnu hiperplaziju zamjenjuje proliferacija marginalne zone i invadira se dio zone plašta limfnog čvora. Izražena multifokalna dilatacija sinusa koji su ispunjeni limfocitima marginalne zone, a kapsula je stanjena. 5b. Veliko povećanje slike 5a. koje pokazuje invaziju stanica zone plašta, obilje citoplazme koja je obojana. Stanice marginalne zone homogene su s okruglim jezgrama (Izvor: VALLI i sur., 2006.)



#### 2.4.3.1.3. Limfom zone plašta limfnog čvora

Ovaj limfom, koji također spada u grupu indolentnih limfoma, javlja se u životinja i u ljudi (Slika 5), a karakterizira ga strukturna građa gubitka germinalnih centara gdje su jezgre uniformno okruglog oblika. U većini jezgri nisu vidljive jezgrice, a mitotski karakter tumora je nizak. Kao i u ostalih prethodno navedenih tumora, limfom zone plašta najčešće zahvaća slezenu psa, iako se može javiti i u drugih vrsta životinja. Promjene koje se javljaju vezano uz taj organ manifestiraju se kao multinodularne i multifolikularne proliferacije stanica koje postupno srastaju, a osim toga može se pojaviti atipična plazmocitoza, fibrohistiocitni čvorići i u nekim slučajevima hemoragični infarkti (WEISS i WARDROP, 2010.). Osim slezene, tumor se može javiti u tkivima poput limfnog čvora, koštane srži ili jetre. U bilo kojoj od navedenih varijanti organske manifestacije, tumor je pozitivan na B-stanične markere, CD79a i CD20, ali je u potpunosti negativan na CD3 i sve ostale T-stanične markere. Ovaj tumor se kod životinja javlja u uznapredovalom stadiju 3-4, međutim o njemu dosta informacija još nedostaje. Isto tako nedostaje mnogo informacija o kliničkoj slici koja se javlja u životinja, dok je u ljudi poznato da se javljaju simptomi poput vrućice, noćnih prenojanja i gubitka tjelesne težine (WEISS i WARDROP, 2010.).



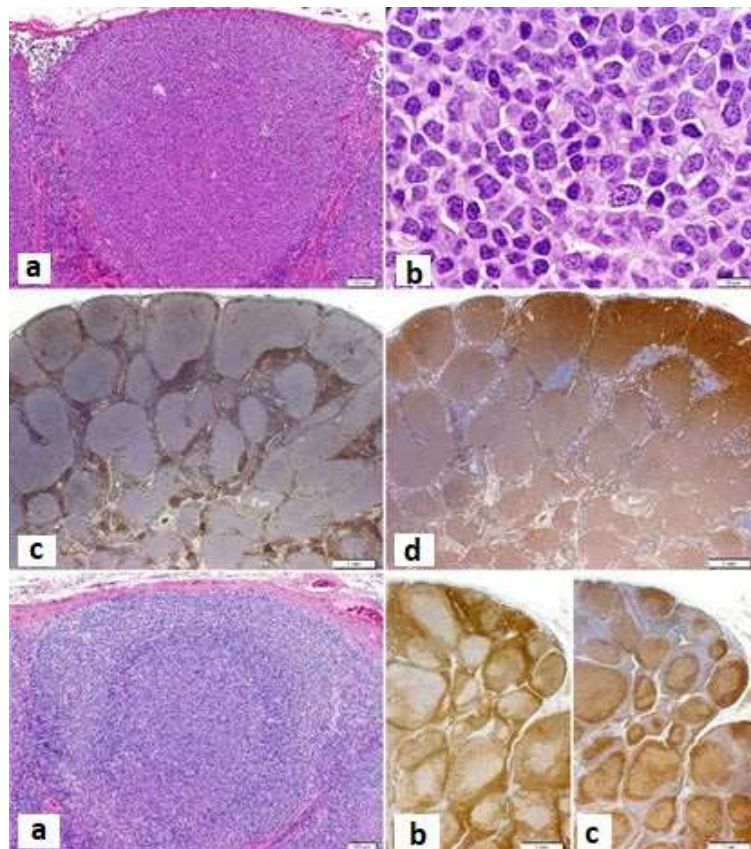
Slika 5. Prikaz preparata limfoma zone plašta limfnog čvora iz razmaza periferne krvi kod 62.-godišnjeg čovjeka, Wright Giemsa bojanje

Nalaz malih limfocita do srednje velikih blastnih stanica, jezgra uglavnom okrugla do ovalna – ponekad rascjepkana, s 1 do 2 jezgrice (Izvor: LEE i sur., 2002.)



#### 2.4.3.1.4. Folikularni limfom

Pravi folikularni limfom, u smislu pravilne folikularne strukture navedene neoplazije, nije česta pojava kod domaćih životinja. Također, treba imati na umu da ga je često teško razlikovati od folikularne hiperplazije u različitim fazama. U životinja se najčešće javlja kod pasa u starosti od 2 do 10 godina i zahvaća periferne limfne čvorove (Slika 6), ali i limfne čvorove pojedinih organa. Najčešća je pojava u limfnim čvorovima glave i vrata ili preskapularnim i poplitealnim područjima, a oni su uglavnom bezbolni i pomični te u početku nisu izrazito povećani. Životinje u pravilu zadržavaju normalan apetit i tjelesnu aktivnost te se iz tog razloga ova bolest vrlo često dijagnosticira u uznapredovalom stadiju kada su već izražena povećanja limfnih čvorova (WEISS i WARDROP, 2010.).



Slika 6. Prikaz preparata limfnog čvora psa s folikularnim limfomom.

- a. U hematoksilin-eozin obojanom preparatu vidljiva homogenost staničnog tipa, uz izraženo stanjenu kapsulu. Arteriole i venule smještene interfolikularno i okružene neoplastičnim folikulima. b. U folikulima centrociti s heterokromatskom jezgrom i centroblastima s izraženim većim jezgricama, bojanje hematoksilin-eozinom. c. Interfolikularno područje malih rezidualnih benignih stanica, CD3-pozitivnih T-stanica, manjak zone plašta. Hematoksilin-protubojanje, imunooznačavanje s protutjelima za CD3. d. Prikaz folikula. (Izvor: VALLI i sur., 2010.)

#### 2.4.3.1.5. Difuzni B-stanični limfom

Ovaj tumor razvija velike transformirane stanice limfocita koji imaju jezgru, a veličinom su minimalno dvostruko veći od dva limfocita normalne veličine. Javlja se u svih domaćih životinja, ljudi, pa čak i ptica i smatra se jednom od najčešćih i najvećih limfoidnih neoplazija. U mačaka i goveda uglavnom se povezuju uz retrovirusne infekcije iako se mogu javiti i mimo njih (WEISS i WARDROP, 2010.). Postoji pretpostavka da kronične benigne limfoidne hiperplazije mogu zajedno s različitim varijantama kroničnih bolesti dovesti do malignog transformiranja B-stanica. S obzirom na podatke dosadašnjih istraživanja, u ovoj bolesti su neoplastične stanice uvijek prisutne u krvi. Kod mačaka se u 15% zahvaćene populacije javlja leukemija s limfocitozom, iako tome za sada nije pridružen nikakav prognostički faktor. S druge strane, predviđanja ishoda bolesti s obzirom na terapiju jednako kako i određivanje faze bolesti daju se sukladno nalazima krvi i koštane srži. Neoplastične stanice u krvi velike su, imaju jezgru s istaknutom jezgrićom, ali morfološki nisu identične onima koje se nalaze u koštanoj srži i u ostalim tkivima. Ako ova bolest ima izraženu progresiju kroz neki period vremena, promjene se uvijek javljaju i u koštanoj srži, a ona može biti zahvaćena u difuznom, paratrabeularnom i multifokalnom intersticijskom obliku (WEISS i WARDROP, 2010.).

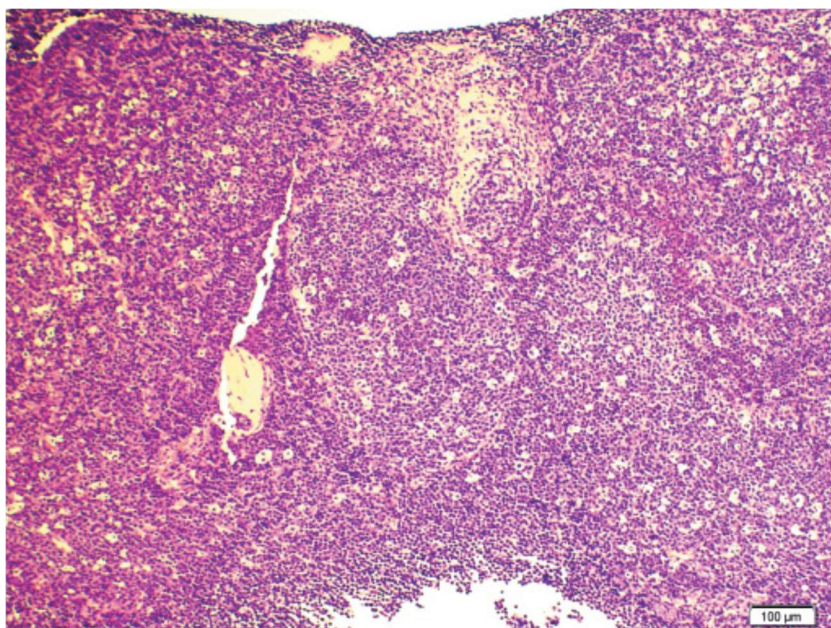
Zasad najčešće utvrđeni oblik ovog limfoma kod pasa je generalizirana limfadenopatija nakon čega slijede abdominalno-crijevni oblik, povećanje jednog limfnog čvora, multicentričan, kutani oblik itd. S druge strane, kod mačaka je najviše zabilježen gastrointestinalni/alimentarni oblik iza čega slijede multicentrični, medijastinalni, zahvaćanje isključivo tankog crijeva, bubrežni itd. Ovaj oblik limfoma dijagnostički je vrlo teško razlikovati od Burkittovog limfoma iz razloga što u jednog i u drugog postoji velika varijacija u veličini jezgri (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.4.3.1.6. Burkittov limfom

Limfom ovog tipa je visokog stupnja te je multicentričan, njegova je glavna karakteristika difuzna struktura i jaka infiltracija, odnosno izgled tzv. „zvjezdanog neba“ (*engl. „starry sky appearance“*) pri niskim povećanjima (Slika 7) (WEISS i WARDROP, 2010.; MEDEIROS i MIRANDA, 2020.). Postoje dva tipa Burkittovog limfoma – monotoni i varijabilni. Monotoni tip je klasičan i njega karakteriziraju uniformne stanice te je jako rijedak kod životinja. S druge strane, varijabilni tip je poprilično čest nalaz kod životinja, posebice u pasa. Kod ovog limfoma nije utvrđena spolna dispozicija njegove pojave, a što se tiče dobne ona uglavnom iznosi 5-7

godina, tj. u pravilu se javlja kod pasa mlađih od 10 godina. Životinje su u početku često dobrog općeg stanja i tjelesne kondicije dok ne dođe do iznenadnog neobjašnjivog pada apetita i povećanja perifernih limfnih čvorova (WEISS i WARDROP, 2010.).

Stanice ovog limfoma srednje su veličine, s jezgrama okruglog do ovalnog oblika i citoplazmom koja se boji bazofilno (WEISS i WARDROP, 2010.; MEDEIROS i MIRANDA, 2020.). Kod ljudi se u otprilike 20% ovih limfoma proširi na koštanu srž, a nedavno je slično dokazano i u pasa (WEISS i WARDROP, 2010.).



Slika 7. Limfni čvor kod Burkittovog limfoma, Wright Giemsa bojanje  
Izgled zvjezdanog neba (Izvor: WEISS i WARDROP, 2010.)

#### 2.4.3.1.7. Hodgkinov limfom

Hodgkinov limfom je bolest ljudi koju karakterizira zloćudno bujanje stanica limforetikuluma uz određene posebno izražene karakteristike (WEISS i WARDROP, 2010.). U ljudi su klasificirana 4 tipa Hodgkinovog limfoma, a to su prevladavanje limfocita, nodularna skleroza, miješane stanice i iscrpljenje limfocita (WEISS i WARDROP, 2010.; WILKINS, 2011.). Bez obzira na tip Hodgkinovog limfoma svaki od njih mora imati zadovoljenu prisutnost Reed-Sternbergovih stanica (*engl. Reed-Sternberg, RB*) koje su proizašle iz B-stanica putem reorganizirane varijabilne regije gena imunoglobulina. Za razliku od ljudskih RB

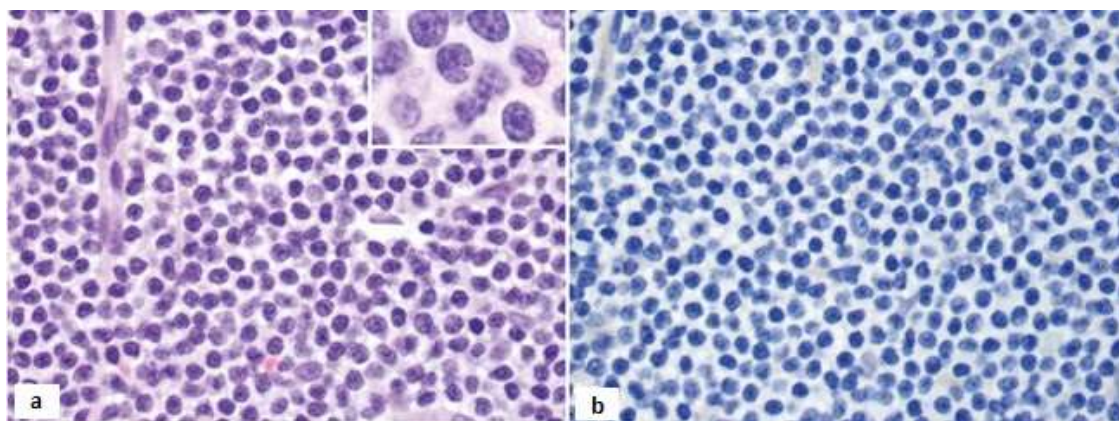
stanica, koje su sačinjene od perifernog kromatina s prekomjerno razvučenom centralnom jezgrićom kroz stanicu koja ima dvostruku jezgru, životinjske to nemaju (WEISS i WARDROP, 2010.). U ljudi još nije potpuno razjašnjena definicija ovog limfoma i isti u životinja klasifikacijski ne postoji, ali je nedavno otkriveno više tipova neoplazija u životinja, čije bi određene karakteristike najviše odgovarale upravo ovom tipu limfoma. Naime, B-stanični limfom koji je bogat T-stanicama u mačaka i konja, čije se stanice prvo pojavljuju u čvorovima cervikalne regije s desne strane i idu postepeno prema preskapularnim ili medijastinalnim čvorovima, bi odgovarao upravo ovoj bolesti u ljudi (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.4.3.2. T-stanične neoplazije

Mnogo informacija vezano uz neoplazije T-stanica kod domaćih životinja nedostaje, pa su iz tog razloga klasifikacija i opisi tih tumora poprilično ograničeni i otežani. Čini se da psi imaju određene nasljedne faktore koji ih predisponiraju za razvoj limfoproliferativnih bolesti, a posebno se ističe visoka prevalencija neoplazija T-stanica kod pasmina bokser, špic i određenih manjih azijskih pasmina pasa. Kod mačaka je moguća nasljedna komponenta u sijamskih pasmina za medijastinalni limfom T-stanica, a uz to se javlja i veza mačjeg virusa leukemije (FeLV) i ovih malignih oboljenja (WEISS i WARDROP, 2010.).

Svjetska zdravstvena organizacija je prilagodila klasifikaciju T-staničnih tumora na način da ih je podijelila na neoplazije prekursorskih T-stanica te na neoplazije zrelih T-stanica. U neoplazije prekursorskih stanica spadaju samo akutne limfoblastne leukemije i limfoblastični limfom, a u drugu skupinu uvrštene su sve ostale T-stanične neoplazije, od kojih su neke zabilježene u indolentnom obliku (Slika 8) (WEISS i WARDROP, 2010.).



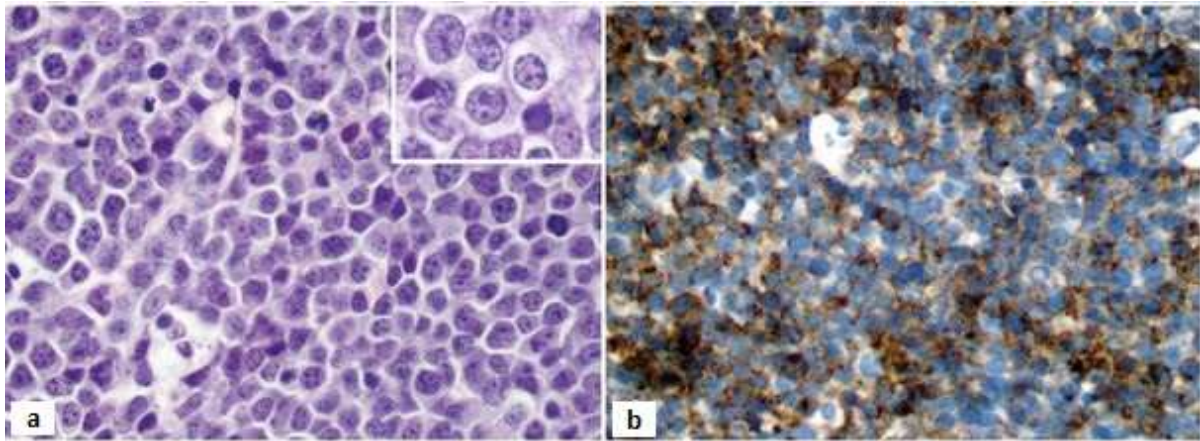


Slika 8. Mikroskopski preparati limfnog čvora psa

a. Indolentni limfom T-zone, niskog stupnja, bojeno HE. b. Malo ili nimalo bojanja transferinskog receptora-1 je uočeno u neoplastičnih stanica, bojanje streptavidin peroksidazom uz hematoksilin protubojanje. (Izvor: PRIEST i sur., 2010.)

#### 2.4.3.2.1. T-limfoblastični limfom

Limfoblastični limfom je visoko agresivan tumor koji nastaje od nezrelih T-stanica i upravo iz tog razloga češće se javlja u djece i mlađih osoba (ZAKOWSKI i PARWANI, 2007.; WEISS i WARDROP, 2010.). Kod domaćih životinja zabilježen je primarni medijastinalni limfom, odnosno timusni limfom koji se može svrstati u varijantu limfoblastičnog limfoma koji se pojavljuje u ljudi – kranijalni medijastinalni limfom (WEISS i WARDROP, 2010.). Pojavljuje se u gotovo svih vrsta životinja, a smatra se najčešćim uzrokom timusnih bolesti u mačaka i čak drugim najčešćim kod pasa (WEISS i WARDROP, 2010.). Zahvaćeni limfociti su srednje veličine, imaju blago bazofilnu citoplazmu, okruglu jezgru ponekad nejasnih granica te neistaknute jezgrice (Slika 9), a mitotska aktivnost stanica je visoka (ZAKOWSKI i PARWANI, 2007.; WEISS i WARDROP, 2010.)



Slika 9. Mikroskopski preparat limfnog čvora psa

a. Limfoblastični prekursor staničnog limfoma visokog stadija, bojanje HE. b. Difuzno slabo bojanje transferinskog receptora-1 koje je uočeno u više od 75% neoplastičnih stanica. Bojanje streptavidin-peroksidazom uz hematoksilin protubojanje (Izvor: PRIEST i sur., 2010.)

#### 2.4.3.2.2. Intestinalni limfom T-stanica

Ovaj limfom nije dovoljno istražen u životinja, a povezuje se s enteropatskim T-staničnim limfomom u ljudi. Javlja se u dva oblika, epiteliotropnom i ne-epiteliotropnom, a kod pasa i mačaka se najčešće javlja u epiteliotropnom obliku. Također, otkad je izražen pad incidencije limfoma povezanog s retrovirusnim infekcijama kod mačaka, uočen je znatan porast alimentarnih limfoma. Iako se donedavno smatralo da su alimentarni limfomi mačaka potjecali od B-stanica, novijim istraživanjima je ukazano kako su oni vjerojatnije porijekla T-stanica (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.4.3.2.3. Kožni (kutani) limfom

Kožni limfom je bolest koja se poprilično rijetko javlja u ljudi i životinja, a klinička slika različitih pacijenata zna biti izrazito varijabilna i širokog spektra (WEISS i WARDROP, 2010.). U veterinarskoj medicini je kutani limfom podijeljen, ovisno o prisustvu ili odsustvu invazije epitela epidermisa i adneksa, na epiteliotropan i neepiteliotropan (WEISS i WARDROP, 2010.). Tumor najčešće zahvaća životinje starije životne dobi odnosno kod pasa je to od 9 do 12 godina, a mačaka od 8 do 17 godina starosti. Za razliku od kućnih ljubimaca, kod farmskih životinja javlja se u konja između 3 i 19 godina, dok se u goveda pojavljuje znatno ranije nego u svih ostalih vrsta, obično između 2. i 3. godine starosti. Postoji par podtipova kutanog

limfoma koji su značajni za veterinarsku medicinu, a to su *mycosis fungoides* (MF), *pagetoidna retikuloza*, i *Sézaryjev sindrom* (SS) (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### *Fungoidna mikoza (mycosis fungoides)*

Ovo je najčešći oblik kožnog limfoma u ljudi i u životinja, a glavna mu je značajka invazija epitela epidermisa i adneksi neoplastičnim stanicama pa se tako radi o epiteliotropnom tipu kutanog limfoma (WEISS i WARDROP, 2010.). Javlja se kod kućnih ljubimaca i domaćih životinja, kao i kod tvorova, vjeverica i zamorčića, a najčešće se javlja kod pasa i krava (WEISS i WARDROP, 2010.). Etiologija ove bolesti još uvijek nije poznata ni kod ljudi niti kod životinja, a većina informacija vezano uz nju još se uvijek nagađa ili proučava. Jedina dodatna informacija koja se veže uz životinje jest ta da se u krava ova bolest većinski javlja kao manifestacija sporadične leukoze odnosno sporadičnog limfoma goveda, koji je bio već prethodno spomenut (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### *Pagetoidna retikuloza*

Ova bolest smatra se nižim stupnjem fungoidne mikoze čije je obilježje jednako izražen epiteliotropizam gdje su neoplastične stanice gotovo potpuno ograničene na epidermis (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### *Sézaryjev sindrom*

Ovaj oblik kožnog limfoma opisuje se kao leukemični i obilježje mu je da se neoplastične T-stanice (tzv. sézaryjeve stanice) nalaze u krvi i limfnim čvorovima bolesne životinje. Radi se o rijetkoj bolesti koja zahvaća pse, mačke i konje (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.4.3.2.4. Nazalni oblik ekstranodalnog limfoma NK i T-stanica

Nazalni oblik limfoma, koji se povezuje s transformacijom NK i T-stanica, je rijedak kod pasa, a čini jedan od najčešćih tumora nosne šupljine kod mačaka (WEISS i WARDROP, 2010.). Klinička slika bolesnih životinja uključuje kihanje, stridor gornjeg respiratornog

sustava, nosni iscjedak koji varira od seroznog i purulentnog do krvavog, a mogući su i deformiteti lica te izražena bolnost, međutim oni su rijetki (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.4.4. Prognoza

S obzirom na to da limfom predstavlja heterogenu bolest, prognoza i liječenje mogu biti potpuno različiti ako se radi o više životinja, koje iskazuju iste ili slične kliničke znakove u početku bolesti. Trenutno najpouzdaniji prognostički faktor ove bolesti kod pasa je imunofenotip, a osim toga bitan je i stupanj stanične diferencijacije. Psi koji imaju koštanu srž infiltriranu 50% ili više sa stanicama limfoma, koji su u napredovalim fazama limfoma, imaju negativnu prognozu, čak i uz provođenje kemoterapije (WEISS i WARDROP, 2010.). Uz to, za određivanje prognostičkih faktora može se koristiti određivanje kliničkog stadija bolesti, anatomski lokacija limfoma, aktivnost timidin-kinaze i drugi pokazatelji (LORIMIER i FAN, 2005.). Kao što je već ranije spomenuto, svaki limfom koji prati anemija također ima negativnu prognozu. Za razliku od pasa, u mačaka su informacije o prognostičkim faktorima ove bolesti poprilično oskudne (LORIMIER i FAN, 2005.). Kod ovih životinja imunofenotipizacija ne daje nikakve prediktivne vrijednosti ishoda bolesti te nije toliko značajna, ali je poznato da je anemija u mačaka koje boluju od nazalnog limfoma negativan faktor (WEISS i WARDROP, 2010.). Pravovremeno prepoznavanje karakteristika limfoma i tumorskih markera čini osnovu postavljanja dijagnoze, prognoze pa tako i pravilnog liječenja oboljelih životinja.

#### 2.4.5. Liječenje

U većini slučajeva ovih malignih neoplazija kemoterapija čini prvi i primarni izbor liječenja, s izuzetkom onih koji se nalaze lokalizirano u pojedinim područjima (npr. nazalni limfom) (WEISS i WARDROP, 2010.). Iako intenzitet i trajanje kemoterapije variraju ovisno o tipu malignog limfoma, on i dalje čini tumor koji najviše reagira na kemoterapiju u onkoloških pacijenata. Postoji više vrsta protokola koji se koriste u liječenju ovih onkoloških pacijenata, a većina njih sastoji se od kombinacija vinkristina, ciklofosfamida, doksorubicina i prednizona (WEISS i WARDROP, 2010.). Starije metode kemoterapijskih protokola, koje su također djelotvorne, uključivale su dvije faze liječenja – indukciju i održavanje (LORIMIER i FAN, 2005.). Prva je ona koja je u visokoj dozi i služi u svrhu citotoksične kemoterapije, koja se primjenjuje često i u kratkim vremenskim intervalima pa tako ubija većinu tumorskih stanica



(LORIMIER i FAN, 2005.). Kasnije se primjenjuje doza održavanja koja je znatno niža i služi kao prevencija ili odgađanje mikroskopskih promjena u smislu njegovog ponovnog razvijanja i rasta tih stanica. Iako ovaj princip terapije dobro funkcionira, vlasnicima često kemoterapija održavanja krene oduzimati previše vremena s obzirom da ona zahtjeva dugogodišnju i relativno učestalu primjenu. Osim toga, kod dugoročne i produljene primjene doze održavanja postoji mogućnost javljanja ireverzibilne toksičnosti koštane srži. Upravo se iz tog razloga, kod multicentričnih limfoma visokog stupnja najčešće preskače liječenje kemoterapijom kroz dulji period vremena putem doze održavanja (LORIMIER i FAN, 2005.).

#### 2.4.5.1. Remisija

Remisija u onkoloških pacijenata označava djelomičan ili potpun prestanak kliničkih znakova bolesti nakon terapije, odnosno kad su se oni smanjili ili uopće nisu vidljivi. Ona označava smanjenje veličine tumorske mase, odnosno broja tumorskih stanica koje ju sačinjavaju. Većina pasa koja boluje od multicentričnog limfoma visokog stupnja, njih 75 do 90%, uspije ući u fazu remisije koja je najčešće postignuta primjenom protokola terapije baziranom na kombinaciji više lijekova uz doksorubicin (LORIMIER i FAN, 2005.).

Procjena remisije nakon primjene određene vrste terapije u ovih pacijenata poprilično je otežana jer ne postoji standard veličine povećanog limfnog čvora, posebice kad se u obzir uzme razlika u veličini životinja iste vrste (osobito pasa) koja je jako varijabilna (WEISS i WARDROP, 2010.). Postoji nekoliko metoda koje se danas koriste u procjeni remisije, međutim sve imaju svoje nedostatke. Jedna od njih je palpacija koja je jako subjektivna metoda i ne preporuča se osim kao orijentacijska metoda (WEISS i WARDROP, 2010.). Osim toga postoji mjerenje pomičnom mjerkom, što je dobro prilikom grubih procjena veličine, ali otežava procjenu prilikom ponovljenih mjerenja što je posebno izraženo kada to radi više kliničara u različitom vremenu (WEISS i WARDROP, 2010.). Jedan od načina uspostave sljedivosti je taj da se prilikom evaluacije prate vodiči poput RECIST kriterija (*engl. Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*), koji je objavljen 2000. godine i baziran je na uputama Svjetske zdravstvene organizacije koje su objavljene prvi puta 1981. godine (WEISS i WARDROP, 2010.; SCHWARTZ i sur., 2016.). Navedeni kriteriji su ponovno pregledani i doručeni 2009. godine gdje su uključene veće promjene, kao što su smanjenje broja lezija potrebnih za određivanje stupnja remisije, novije metode mjerenja limfnih čvorova kao bi se razlikovali patološki od normalnih i pojašnjenja novijih metodologija kojima se procjenjuje progresija

bolesti (SCHWARTZ i sur., 2016.). Također, kao komplementarna metoda prilikom evaluacije uz druge navedene metode može se koristiti aspiracija tankom iglom (*engl. Fine Needle Aspiration, FNA*) koja se radi iz perifernih limfnih čvorova periodički kako bi se pratio citološki nalaz tumorskih stanica (WEISS i WARDROP, 2010.). Zadnja, ali svakako najrigoroznija metoda evaluacije, koja se koristi je molekularna metoda kvantitativni PCR u realnom vremenu (*engl. Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction, qPCR*) koja ima izrazito visoku sposobnost detekcije tumorskih stanica u tkivima (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.4.5.2. Povratak bolesti (relaps)

Bitna stavka koja otežava liječenje kod ovih pacijenata jest ta da iako se one možda nalaze u kliničkoj remisiji, još uvijek na određenim mjestima sadrže maligne stanice (WEISS i WARDROP 2010.). Upravo iz tog razloga kod većine pasa i mačaka je relaps, odnosno povratak bolesti, gotovo neizbježan i skoro svi oni u konačnici prije ili kasnije relapsiraju (LORIMIER i FAN, 2005.; WEISS i WARDROP 2010.). Još uvijek je djelomično nepoznato objašnjenje činjenice da kemoterapija može produljiti i poboljšati kvalitetu života ovih životinja na način da reducira tumorske stanice, međutim nedovoljno da bi ih u potpunosti izliječila (WEISS i WARDROP 2010.). Urođeni otpor, koji predviđa Goldie-Coldman hipoteza, zajedno sa stečenim otporom vezanim uz regulaciju staničnog transportera kao što je p-glikoprotein i jedinstveno otporne matične stanice tumora, mogu djelomično pomoći u objašnjenju neuspjeha kemoterapije u liječenju većine veterinarskih onkoloških pacijenata (WEISS i WARDROP 2010.). Bitno je napomenuti da je, životinje koje su u relapsu, moguće drugi, pa nekada i treći puta vratiti u remisiju bolesti uz dobro odabranu terapiju (LORIMIER i FAN, 2005.). Iako je tome tako i postoji više izbora liječenja pacijenata koji imaju relaps limfoma, većina ih se suočava s neuspjehom kontrole ove bolesti nakon nekoliko mjeseci (WEISS i WARDROP 2010.).

## 2.5. Leukemija

Leukemija predstavlja grupu neoplastičnih poremećaja, koju karakterizira klonalna proliferacija malignih hematopoetskih progenitornih stanica porijeklom iz koštane srži (WEISS i WARDROP 2010.). Ona se javlja u svih domaćih životinja i u ljudi, međutim u životinja njezini uzroci nisu sasvim jasni i dovoljno istraženi, iako se pretpostavlja da je kao i limfom

vezana uz određene genetske, okolišne i infekcijske čimbenike (npr. virusi) (WEISS i WARDROP 2010.). Kod domaćih životinja javlja se rjeđe od limfoma, ali isto tako postoji pretpostavka da u dijagnostici često biva propuštena.

Leukemije klasifikacijski uključuju mnogo tipova i podtipova, međutim za lakše razumijevanje i olakšavanje kliničkog rada postoji osnovna podjela prema kojoj se one kasnije dijele. Na taj način su one prema WHO klasifikaciji definirane kao akutne ili kronične – s obzirom na njihov razvoj, te mogu biti porijeklom stanica definirane kao limfatične (limfocitne/limfoblastne) ili mijeloične (Tablica 3.). Radi se o klasifikaciji koja je proizašla iz kombinacije FAB i R.E.A.L. sustava i time objedinjuje više njihovih obilježja. Akutne podrazumijevaju velike stanice s citološkim fenotipom pretežito nezrelih stanica, dok su kronične one s manjim i zrelijim stanicama (VAIL i sur., 2013.). Mijeloične neoplazije se dalje dijele na granulocitne (uključujući podtipove neutrofilne, eozinofilne i bazofilne), monocitne, eritroidne i megakariocitne (Tablica 4.) (DOBSON i sur., 2006.; WEISS i WARDROP 2010.). Uz to, u nekim slučajevima mijeloične leukemije mogu biti kombiniranog tipa stanica (WEISS i WARDROP 2010.). U osnovnoj klasifikaciji postoje četiri bazična tipa leukemije čiji nazivi proizlaze upravo iz kombinacija prethodno navedenih podjela – akutna limfoblastična leukemija (*engl. Acute Lymphoblastic Leukemia, ALL*), akutna mijeloblastična leukemija (*engl. Acute Myeloid Leukemia, AML*), kronična limfocitna leukemija (*engl. Chronic Lymphocytic Leukemia, CLL*) i kronična mijeloična leukemija (*engl. Chronic Myelogenous Leukemia, CML*).

Tablica 3: Klasifikacija leukemija

	<b>Akutna leukemija</b>	<b>Kronična leukemija</b>
<i>Mijeloidno porijeklo</i>	Akutna mijeloična leukemija (AML)	Kronična mijeloična leukemija (CML)
<i>Limfoidno porijeklo</i>	Akutna limfoblastna leukemija (ALL)	Kronična limfocitna leukemija (CLL)

Tablica 4: Tipovi mijeloičnih leukemija

<b>Mijeloična leukemija</b>			
Granulocitna	Monocitna	Eritroidna	Megakariocitna
<b>neutrofilna</b>			
<b>eozinofilna</b>			
<b>bazofilna</b>			

U fiziološkim uvjetima iz hematopoetskih matičnih stanica (*engl. Hematopoietic Stem Cells, HSC*), razvijaju se sve loze zrelih krvnih stanica. Svaka novonastala progenitorska stanica ima određenu hijerarhiju stanica i sve stanice imaju ograničen razvojni potencijal, pa ne proliferiraju beskonačno (WEISS i WARDROP 2010.). Za razliku od toga, leukemične matične stanice (*engl. Leukemic Stem Cells, LSC*), koje predstavljaju tumorske stanice koje su potrebne za razvoj leukemije, zadržavaju kapacitet beskonačne proliferacije preko brojnih mutacijskih i epigenetskih promjena. LSC potenciraju stvaranje svojih progenitorskih stanica koje nisu sposobne uzrokovati normalnu staničnu diferencijaciju i zbog toga se javljaju brojne klonalne tumorske stanice (WEISS i WARDROP 2010.).

### 2.5.1. Akutna leukemija

Akutna leukemija se pojavljuje u svih domaćih životinja pa i u egzotičnih vrsta, ali najznačajnija je u pasa i mačaka (WEISS i WARDROP 2010.). Do nedavno su literature navodile kako se akutnom leukemijom smatra ona kod koje se u koštanoj srži nalazi više od 30% blasta (DOBSON i sur., 2006.) te su se prema tome kliničari vodili u svom svakodnevnom radu. Od nedavno se, prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije, leukemija smatra akutnom kada se u krvi ili koštanoj srži nalazi 20 ili više posto blasta, a dalje se klasificira s obzirom na dominantnu, odnosno prevladavajuću staničnu liniju i time može biti limfatična ili mijeloična (WADLEIGH i sur., 2012.).

Kada je riječ o akutnoj leukemiji, danas su aktualne dvije klasifikacije koje se najčešće isprepliću, kako u radovima tako i u praksi. Jedna je FAB klasifikacija čiji je fokus usmjeren na razlike u staničnoj morfologiji i zrelosti stanica, a druga je nastala kao kombinacija morfoloških karakteristika stanica zajedno s kliničkim oblikom, terapijom te prognostičkim

faktorima i predložena je od strane Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) (ANGELESCU i sur., 2012.).

U akutnoj limfoblastičnoj (limfocitnoj) leukemiji (ALL) stanice pokazuju malu diferencijaciju, a stanične populacije koje dominiraju su blasti i prolimfociti (WEISS i WARDROP, 2010.). Akutna mijeloblastična leukemija (AML) je ona kod koje se javlja povećan broj leukocita u krvi te veći broj cirkulirajućih atipičnih blasta, a stanice su diferencirane u granulocitne, monocitne, eritrocitne i megakariocitne stanične linije (JUOPPERI i DE HEER, 2004.; WEISS i WARDROP, 2010.).

Prema podacima istraživanja provedenih na incidenciji ove bolesti u pasa i mačaka, u pasa je zabilježeno više AML, a u mačaka ALL. Što se tiče spolne dispozicije, čini se da kod pasa ona postoji i da su mušjaci ipak prijemljiviji za ovu bolest (DOBSON i sur., 2006.). Također, kod mačaka je u etiologiju umješšan FeLV pa je veliki postotak oboljelih mačaka od ove bolesti pozitivan na FeLV, njih i više od dvije trećine (DOBSON i sur., 2006.; WEISS i WARDROP, 2010.). U današnjoj dijagnostici i klasifikaciji ove bolesti najviše se koristi imunofenotipizacija, koja koristi protočnu citometriju kao metodu izbora, za razliku od starijih metoda dijagnostike koje su se pretežito oslanjale na citokemijsku analizu enzima (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.5.1.1. Akutna limfoblastična leukemija (ALL)

Akutna limfoblastična leukemija primarno zahvaća koštanu srž i svojom proliferacijom blastnih stanica zaustavlja normalnu hematopoezu te se iz tog razloga posljedično javljaju promjene poput anemije, trombocitopenije i neutropenije (DOBSON i sur., 2006.; WEISS i WARDROP, 2010.). Ova bolest pretežito se javlja u mlađih do srednje starih životinja, iako se može javiti i u starijih životinja, a progresija bolesti je agresivna i brza (DOBSON i sur., 2006.; WEISS i WARDROP, 2010.). Akutna limfoblastična leukemija osim koštane srži zahvaća krv i periferne organe, a posebice jetru i slezenu (DOBSON i sur., 2006.).

Akutne limfoblastične leukemije razlikuju se s obzirom na prekursorke stanice od kojih one nastaju, pa tako postoje ALL B- i T-stanica. Također, daljnja klasifikacija prema FAB sustavu (*engl. French-American-British*) temelji se na njihovim morfološkim razlikama, zbog čega su one označene kao L1 gdje su prisutne male jednolike stanice, L2 uz veće raznolike stanice ili L3 čije su stanice velike, raznolike i vakuolizirane. Iako navedena klasifikacija vrijedi za T i B-stanične limfome, u primjeni se češće koristi i navodi ona vezana uz limfome iz prekursorskih B-stanica (Tablica 5) jer je češće prisutna u veterinarskoj praksi (WEISS i

WARDROP 2010.). Osim navedene, postoji i WHO klasifikacija ALL koja čini kompleksniju varijantu klasifikacije gdje su imunofenotipski definirana tri podtipa ove bolesti, a uključuju prekursore B-stanica, T-stanične prekursore i zrele B-stanice. Uz to, unutar kategorije prekursora B-stanica postoji nekoliko podtipova koji mogu biti identificirani citogenetskim/molekularnim abnormalnostima (ANGELESCU i sur., 2012.).

Tablica 5. Klasifikacija akutne limfoblastične leukemije nastale iz prekursorskih B-stanica

<b>TIPOVI ALL PREMA FAB KLASIFIKACIJI</b>	<b>Morfološka obilježja stanica</b>	<b>Osnovne značajke i znakovi bolesti</b>
<b>ALL-L1</b>	Homogena populacija stanica s okruglom dobro obojanom jezgrom koja je nešto veća od prosječnog promjera eritrocita	Kod životinja dobre kondicije javlja se nagli gubitak apetita, prisutna je blaga organomegalija, a slezena je simetrično povećana
<b>ALL-L2</b>	Stanice su veće, a jezgre su 2 puta veće od prosječnog promjera eritrocita. Jezgre imaju plitka i oštra udubljenja	Najčešća ALL u životinja, prisutna blaga do umjerena limfocitoza, izražena organomegalija slezene, jetre i/ili limfnih čvorova
<b>ALL-L3</b>	Izražena periferna citoplazmatska vakuolizacija, a jezgre stanica su 2 do čak 3 puta veće od promjera eritrocita	Prisutna blaga organomegalija

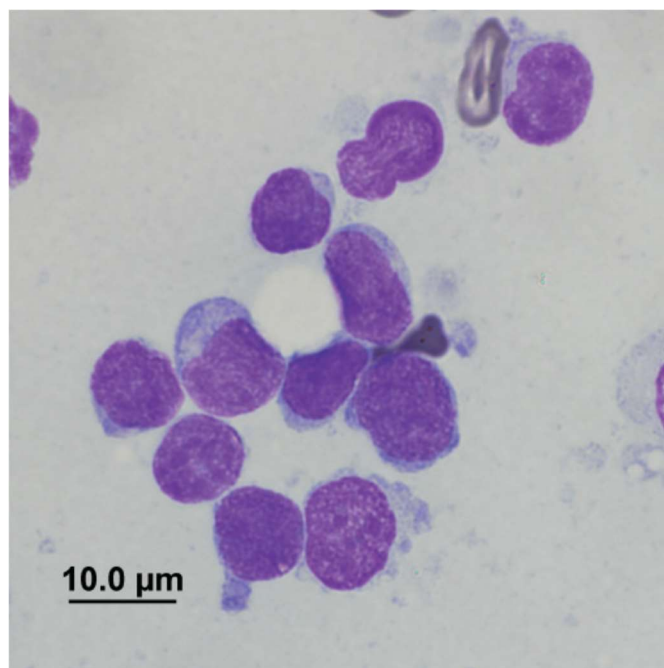
T-stanična akutna limfoblastična leukemija ne može biti dijagnosticirana isključivo na temelju stanične morfologije, već je potrebna imunofenotipizacija. Kod životinja nije dovoljno istražena i većina poznatih informacija vezana je uz pojavu kod ljudi. Kliničke značajke uvelike su definirane zahvaćanjem koštane srži čime dolazi do drugih poremećaja u organizmu (Tablica 6.). Radi toga prisutna je citopenija, što posljedično dovodi do povećanog rizika za razne

infekcije. Također, povećava se mogućnost krvarenja, a uz to zahvaćeni mogu biti i visceralni organi čime se poremeti njihova struktura i funkcija (WEISS i WARDROP, 2010.).

Tablica 6: Akutna limfoblastična leukemija nastala iz T-stanica

<b>TIP</b>	<b>OSNOVNA OBILJEŽJA BOLESTI</b>
<b>T-STANIČNA AKUTNA LIMFOBLASTIČNA LEUKEMIJA (T-ALL)</b>	Periferna citopenija Groznica Sklonost krvarenju Disfunkcije i zatajenja organa

U B-staničnoj akutnoj limfoblastičnoj leukemiji tipa L1 (ALL-L1) uvijek su prisutne blastne stanice u krvi, a ukupan broj leukocita u krvi može biti normalan ili smanjen (WEISS i WARDROP 2010.). Stanice su u razmazima homogene, s okruglim i dobro obojanim jezgrama koje su do 1,5 puta veće od prosječnog promjera eritrocita (Slika 10), a citoplazma je poprilično oskudna. U stanicama koje se nalaze u krvi su obično prisutne mitoze, a koštana srž je apsolutno uvijek zahvaćena te se ponekad javlja ftiza sa smanjenjem eritropoetskih stanica i megakariocita. Ukoliko su limfni čvorovi zahvaćeni, javljaju se promjene u vidu atrofije germinalnih centara s kolonizacijom unutarnjeg parakortikalnog područja i medularnog centra sa stanicama (WEISS i WARDROP, 2010.).



Slika 10. Aspirat koštane srži psa koji boluje od ALL-L1, bojanje Wright – Giemsa

Vidljivo propadanje normalnih stanica i zamjena manjim neoplastičnim stanicama. Kromatin je gusto obojan, a jezgrice nisu vidljive. Izražena razlika u veličini jezgara manjih stanica u usporedbi s eritrocitima (Izvor: WEISS i WARDROP, 2010.)

Akutna limfoblastična leukemija tipa L2 (ALL-L2) zahvaća koštanu srž, a pripadajuće promjene u nalazu mogu uključivati srednje jaku limfocitozu uz leukopeniju te se predstavlja bolest kako kućnih ljubimaca tako i domaćih životinja (WEISS i WARDROP, 2010.). Za razliku od ljudi, u kojih L1 i L2 nemaju neku pretjerano veliku biološku razliku, kod životinja je razlika značajna te se L2 tip u praksi javlja najčešće kod pacijenata koji obolijevaju od akutne limfoblastične leukemije (WEISS i WARDROP, 2010.). Glavno obilježje ovog tipa leukemije jest da su jezgre neoplastičnih stanica 2 puta veće od prosječnog promjera eritrocita (Slika 11), a uz to na određenim mjestima javljaju se oštra i plitka udubljenja jezgre (WEISS i WARDROP, 2010.).

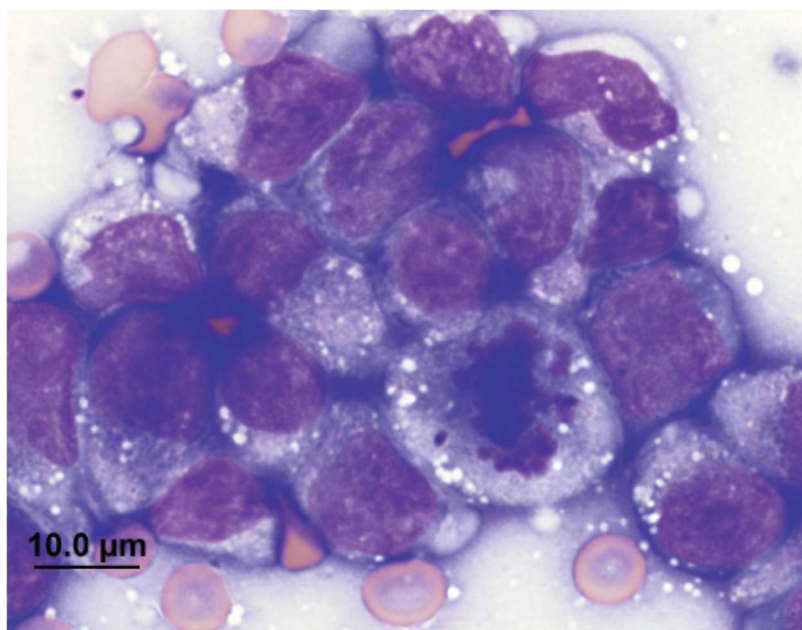




Slika 11. Krvni razmaz psa s ALL-L2, bojanje Wright – Giemsa

Kromatin se dobro boji, jezgre su 2 do 2,5 puta veće od promjera eritrocita, a citoplazma je volumno minimalna. Prisutna je srednje jaka citoplazmatska bazofilija, ali bez izražene vakuolizacije ili granulacije (Izvor: WEISS i WARDROP, 2010.).

Akutna limfoblastična leukemija tipa L3 (ALL-L3) je ona koja je, uz zahvaćanje koštane srži, najčešće obilježena organomegalijom, a javlja se u većini sisavaca, s time da je češća u pasa i mačaka te eventualno goveda, dok je rijetka u konja (WEISS i WARDROP, 2010.). Stanice kod ALL-L3 imaju izraženu perifernu citoplazmatsku vakuolizaciju koju je moguće pozitivno obojati mastima. Citoplazma je volumno slična L2 tipu akutne limfoblastične leukemije te se boji izrazito bazofilno (Slika 12), a jezgre stanica su 2 do čak 3 puta veće od promjera eritrocita (WEISS i WARDROP, 2010.).



Slika 12. Aspirat limfnog čvora psa s ALL-L3, preparat obojen prema Wright – Giemsi

Citoplazmatska vakuolizacija se najčešće javlja ispod citoplazmatske membrane, jezgre imaju izraženu blagu anizokariozu, a jezgričice su male i brojne (Izvor: WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.5.1.1.1. Korelacija ALL mačaka i FeLV-a

Kao što je već ranije spomenuto, više od dvije trećine mačaka koje boluju od akutne limfoblastične leukemije pozitivno je na FeLV (WEISS i WARDROP, 2010.). Zanimljivo je da su laboratorijski nalazi, klinički simptomi i odgovor na terapiju slični istoj toj bolesti u ljudi, pa su tako znakovi u jednih i drugih obično nespecifični i uključuju bljedilo, letargiju, slabost, anoreksiju i gubitak težine (COTTER i ESSEX, 1977.). Čest je nalaz anemije, a iako je leukocitoza moguća, češći je nalaz normalnog broja leukocita ili eventualno leukopenija, dok su trombocitopenija i sklonost krvarenju češći u ljudi nego životinja. Limfoblasti su obično prisutni u krvi kada je koštana srž infiltrirana leukemičnim stanicama, a u vrijeme postavljanja dijagnoze koštana srž je obično hipercelularna s najviše prolimfocita i blasta (COTTER i ESSEX, 1977.).

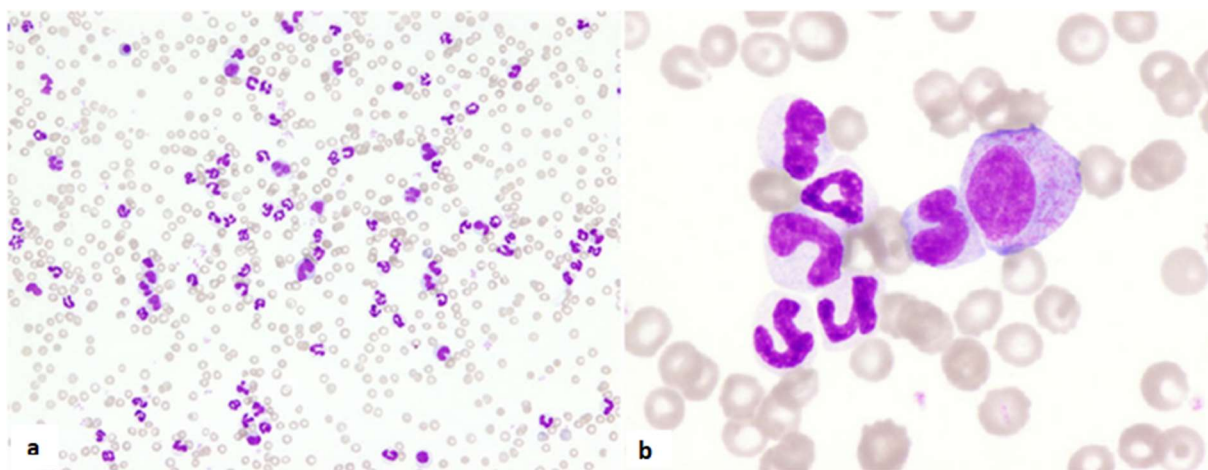
### 2.5.1.2. Akutna mijeloična leukemija (AML)

Kod mijeloičnih leukemija broj leukocita varira tako da je moguća pojava kako leukopenije tako i leukocitoze, a organi koji su često zahvaćeni su slezena, jetra i limfni čvorovi, te osim toga tonzile, bubrezi, srce i SŽS (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Hematološke promjene kod ove bolesti uključuju neregenerativnu anemiju, neutropeniju, trombocitopeniju uz češće infekcije i povećanu sklonost krvarenju, a u nekim slučajevima se neoplastične stanice nalaze isključivo u koštanoj srži (Slika 13), dok u perifernoj krvi ne, čime su takve leukemije stekle naziv leukemične leukemije (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Osim toga, u nekim slučajevima neoplastične stanice se u manjem broju mogu pronaći u cirkulaciji uz normalan ili smanjen broj leukocita, te se takva leukemija naziva subleukemična leukemija (VAIL i sur., 2013.).

Akutne mijeloične su, jednako kao što su i akutne limfoblastične leukemije, klasificirane, prema raznim klasifikacijama, u više podtipova. U ovom radu naglasak je na FAB klasifikaciji (Tablica 7) i dijagnostičkim pokazateljima koji su vezani uz nj, iako postoji šira i kompleksnija WHO klasifikacija koja se u praksi danas sve više koristi (WEISS i WARDROP, 2010.; ANGELESCU i sur., 2012.). U WHO klasifikaciji AML postoje četiri glavne kategorije koje uključuju AML s rekurentnim citogenetskim translokacijama, AML s višelinijском displazijom, terapijsku (sekundarnu) AML i AML koja nije drugačije kategorizirana (gdje su svrstani tipovi FAB klasifikacije) (ANGELESCU i sur., 2012.).

Kod pasa su zasad zabilježeni svi tipovi mijeloične leukemije osim promijelocitne leukemije M3, a najčešće se javljaju akutna mijeloblastna M1 i M2 te akutna mijelomonocitna leukemija M4 (VAIL i sur., 2013.).

Za razliku od akutne limfoblastične leukemije, maligne stanice kod akutne mijeloične leukemije su veće, imaju manji omjer jezgre prema citoplazmi, obilniju citoplazmu te mogu sadržavati citoplazmatske vakuole i azurofilna zrnca (WEISS i WARDROP, 2010.).



Slika 13. Citološki prikaz uzorka aspirata koštane srži psa koji boluje od akutne mijeloidne leukemije., bojanje Wright Giemsa

a. Uobičajena normalna hematopoeza djelomično je zamijenjena infiltracijom tumorskim stanicama. b. Vidljiva homogena populacija nezrelih mijeloidnih stanica u koštanoj srži, u preparatu prisutna jedna mitotska figura (Izvor: MOCHIZUKI i sur., 2014.)

Tablica 7. FAB klasifikacija akutne mijeloidne leukemije u veterinarskoj medicini (Izvor: WEISS i WARDROP, 2010.)

TIPOVI AML	Dijagnostički pokazatelji
<b>Akutna nediferencirana leukemija (engl. Acute Undifferentiated Leukemia, AUL)</b>	Blastnim stanicama nedostaju svi morfološki, ultrastrukturni, citokemijski i imunološki markeri
<b>Minimalno diferencirana AML (engl. Acute myeloblastic leukemia, minimally differentiated, AML-M0)</b>	Mijeloidna loza potvrđena ultrastrukturom MPO pozitivnih granula Negativno na limfoidne antigene
<b>AML bez sazrijevanja (engl. Acute myeloblastic leukemia without maturation, AML-M1)</b>	<10% ukupnog broja svih stanica s jezgrom (engl. <i>All nucleated cells, ANC</i> ) pokazuje granulocitnu diferencijaciju
<b>AML sa sazrijevanjem (engl. Acute myeloblastic leukemia with maturation, AML-M2)</b>	>10% ANC pokazuje granulocitnu diferencijaciju
<b>Akutna promijelocitna leukemija (engl. Acute promyelocytic leukemia, AML-M3)</b>	>20% ANC su mijeloblasti i abnormalni promijelociti

	Kod životinja tipično nađene hipogranularne varijante
<b>Akutna mijelomonocitna leukemija (engl. Acute myelomonocytic leukemia, AML-M4)</b>	>20% ANC su mijeloblasti, monoblasti i promonociti >20% ANC je zrele granulocitne linije >20% ANC je zrele monocitne linije
<b>Akutna monoblastična leukemija (engl. Acute monoblastic leukemia, AML-M5a)</b>	>80% ANC je monocitnog porijekla s najmanje 20% mijeloblasta, monoblasta i promonocita >50% monocitnih stanica čine monoblasti
<b>Akutna monocitna leukemija (engl. Acute monocytic leukemia, AML-M5b)</b>	>80% ANC je monocitnog porijekla s najmanje 20% mijeloblasta, monoblasta i promonocita >50% monocitnih stanica čine promonociti
<b>Akutna eritroleukemija (engl. Acute erythroleukemia, AML-M6a)</b>	>50% ANC je eritroidnog porijekla >20% ne-eritroidnih stanica ( <i>engl. non-erythroid cells, NEC</i> ) čine mijeloblasti
<b>Akutna eritroleukemija uz eritroidnu predominaciju (engl. Acute erythroleukemia with erythroid predominance, AML-M6b, čista eritroleukemija)</b>	>20% ANC čine mijeloblasti ili proeritroblasti >20% ANC čine mijeloblasti ili rubriblasti
<b>Akutna megakarioblastična leukemija (engl. Acute megakaryoblastic leukemia, AML-M7)</b>	>20% ANC su blasti >50% blastnih stanica čine megakarioblasti

Akutna nediferencirana leukemija (*engl. AUL, Acute Undifferentiated Leukemia*)

Smatra se onom gdje su dominantne stanice toliko nezrele da svojim porijeklom nisu prepoznatljive kao mijeloične ili limfatične, a jezgra im je ekscentrično položena, jezgrića izražena i citoplazma blago bazofilna (WEISS i WARDROP, 2010.).

### Akutna mijeloblastna leukemija (AML-M0, M1 i M2)

Akutna mijeloblastna leukemija se dijeli u tri podtipa, M0, M1 i M2, a zajedničko im je obilježje prisutnost neregnerativne anemije i trombocitopenije, dok je broj leukocita varijabilan pa tako može biti povišen, normalan ili snižen, ali zbog oslabljenog sazrijevanja neutropenija je uvijek prisutna (WEISS i WARDROP, 2010.).

### Akutna promijelocitna leukemija (AML-M3)

Bolest koja nije zabilježena u većine životinja, a prema trenutnim podacima javila se samo jednom u vepra/nerasta i transgenskog modela miša te je obilježena pojavom atipičnih promijelocita u koštanoj srži ili krvi (WEISS i WARDROP, 2010.).

### Akutna mijelomonocitna leukemija (AML-M4)

Stanice su miješane loze, a dijagnoza bolesti može biti postavljena tek nakon što su zadovoljeni određeni kriteriji, tj. više od 20% ANC moraju činiti blasti, više od 20% stanica mora pripadati monocitnoj lozi i više od 20% njih mora pripadati granulocitnoj lozi (WEISS i WARDROP, 2010.).

### Akutna monocitna leukemija (AML-M5)

Dijeli se na dva podtipa koji se razlikuju prema zrelosti stanica - većinski nezrele stanice određuju akutnu monoblastičnu leukemiju M5a, a zrelije akutnu monocitnu leukemiju M5b. Oba tipa stanično zadovoljavaju da je više od 80% ANC monocitnog podrijetla i da je više od 20% mijeloblasta, monoblasta i promonocita. Kod AML-M5a više od 50% monocita su monoblasti, dok su kod AML-M5b više od 50% monocita promonociti (WEISS i WARDROP, 2010.).

### Akutna eritroleukemija (AML-M6)

Kod ove leukemije razlikuju se dva podtipa ovisno o staničnoj dominaciji, gdje se akutna eritroleukemija AML-M6a pretežito javlja u ljudi, dok akutna eritroidna leukemija uz

eritroidnu predominaciju AML-M6b predstavlja oblik koji se najčešće javlja u veterinarskih pacijenata, a većinu njih čine FeLV-pozitivne mačke (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### Akutna megakarioblastična leukemija (AML-M7)

Osim što se kod ovog tipa leukemije nalazi više od 20% blasta u koštanoj srži, barem 50% njih mora biti megakarioblasta (WEISS i WARDROP, 2010.).

##### 2.5.1.3. Klinički znakovi bolesti

Klinička slika bolesti akutne leukemije je u pravilu nespecifična, te su za razliku od limfoma znakovi bolesti od početka prisutni i poprilično izraženi (WEISS i WARDROP, 2010.). Kod pasa se može javiti anoreksija, letargija, gubitak težine, vrućica, izmjenična šepavost na različitim udovima i neurološki znakovi, a osim toga učestali nalaz ove bolesti su također spleno- i hepatomegalija te petehije, ekhimoze i generalizirana limfadenopatija (WEISS i WARDROP, 2010.). Neki od navedenih kliničkih znakova poput anoreksije, gubitka težine i letargije posebice su izraženi u pasa koji boluju od akutne limfoblastične leukemije, a splenomegalija kod tih pacijenata predstavlja već tipičan nalaz (VAIL i sur., 2013.). Također, osim navedenog mogu se javiti umor, oralne lezije, pojave modrica po tijelu, povišena tjelesna temperatura i infekcija, a kod akutne mijeloične leukemije učestala je perirektalna infekcija (WADLEIGH i sur., 2012.). Anemija, neutropenija i trombocitopenija su jače izražene nego u pacijenata koji obolijevaju od kroničnih oblika ove bolesti, što nerijetko uzrokuje po život opasna stanja zbog brže progresije i jačeg intenziteta same bolesti (VAIL i sur., 2013.). Infiltracija koštane srži tumorskim stanicama često je opsežna, a osim toga neoplastične stanice je moguće pronaći u perifernoj krvi većine pasa, dok je broj bijelih krvnih stanica povišen i to posebice u onih koji boluju od akutne limfoblastične leukemije (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Razlikovanje akutne leukemije od limfoma visokog stadija predstavlja veliki izazov u kliničkom radu, međutim razvojem dijagnostike danas ih je moguće razlučiti, pa tako npr. u pasa koji imaju jako izražene znakove sistemske bolesti, pancitopeniju ili veći postotak blasta u koštanoj srži je vjerojatnije da boluju od akutne leukemije nego od limfoma (WEISS i WARDROP, 2010.). Osim toga, u razlikovanju se često koristi već prethodno spomenuta imunofenotipizacija u kojoj je kod akutne leukemije CD34 većinski eksprimiran i pozitivan, a kod limfoma je isti negativan u 70 i više posto vremena tijekom bolesti (WEISS i

WARDROP, 2010.). Kod mačaka se, izuzev prisustva u koštanoj srži, češće javlja infiltracija tumorskih stanica i u druge organe za razliku od iste bolesti u pasa, a simptomi bolesti su gotovo identični onima u pasa. Radi potencijalne sveze ove bolesti s infektivnim uzrocima, svim mačkama kod kojih se sumnja na leukemiju, preporuča se testiranje na FeLV i FIV (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.5.1.4. Prognoza i liječenje

Sve akutne leukemije u pasa i mačaka imaju lošu prognozu bolesti te se kod njih remisije rijetko postižu, a čak i u tom slučaju vrijeme preživljavanja nije duže od nekoliko mjeseci (WEISS i WARDROP, 2010.). Životinje najčešće imaju izraženu citopeniju, a upravo ta promjena krvne slike najdramatičnije je izražena u vidu neutropenije, trombocitopenije i anemije koje jako utječu na sam organizam (VAIL i sur., 2013.). Kod mačaka, a i kod pasa, liječenje se, osim kemoterapije, sastoji od potporne terapije uključujući transfuziju krvi, antibiotike i nutritivne podrške sustava (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Kod ovih pacijenata potreban je stalno praćenje kako bi se izbjegle pojave poput sepse, krvarenja i diseminirane intravaskularne koagulopatije, a usprkos tome čak i kod pasa koji su propisno liječeni, više od polovice njih u konačnici ugiba od sepse ili krvarenja (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Većina protokola liječenja ovih životinja nije nikada specifično prilagođena životinjama, već je izvedena iz kemoterapijskog protokola humanih onkoloških pacijenata koji boluju od sličnih bolesti, ali sve životinje koje boluju od akutne leukemije bilo koje vrste zahtijevaju intenzivnu njegu i liječenje (WEISS i WARDROP, 2010.). Akutna limfoblastična leukemija u pravilu se liječi kombinacijom istih ili sličnih protokola koji se koriste u liječenju limfoma, s tim da se preferiraju oni koji sadrže citostatik doksorubicin (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). U usporedbi s limfomom, liječenje je manje uspješno i poprilično razočaravajuće – remisije su rjeđe i kraće, a vrijeme preživljavanja iznosi u prosjeku 1 do 3 mjeseca (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Što se tiče akutne mijeloblastične leukemije, prognoza je još gora – većina životinja ugiba ili je eutanazirana nedugo nakon potvrde dijagnoze zbog izuzetno lošeg stanja (WEISS i WARDROP, 2010.). U onih životinja koje se liječe koristi se citozin-arabinozid i to samostalno ili u kombinaciji s ostalim već prethodno spomenutim kemoterapeutima, najčešće s doksorubicinom ili ciklofosfamidom, a osim toga za liječenje akutne mijeloične leukemije često se koriste vinkristin i prednizon. Remisije su također iznimno rijetke i kada se jave kratkog su vijeka, pa životinja ubrzo nakon toga ugiba (WEISS i WARDROP, 2010.).



### 2.5.2. Kronična leukemija

Osnovnu podjelu kronične leukemije čine kronična limfocitna i kronična mijeloična leukemija, koje imaju svoje podtipske varijante (WEISS i WARDROP, 2010.). O kroničnoj leukemiji nije poznato puno i ona se u pravilu javlja rjeđe nego akutna, a većina studija pokazuje da pogađa pse i mačke starije životne dobi iako uzroci bolesti i dalje nisu u potpunosti razjašnjeni (DOBSON i sur., 2006.; WEISS i WARDROP, 2010.). Osim toga, u pasa je češća pojava kronične limfocitne leukemije nego one mijeloičnog porijekla, dok u mačaka oba tipa imaju jednako iznimno rijetku pojavu u populaciji (DOBSON i sur., 2006.).

Kroničnu limfocitnu leukemiju karakterizira klonalna neoplastična proliferacija malih i naizgled morfološki zrelih limfocita koja se manifestira kao perzistentna periferna limfocitoza, a pod tim pojmom smatra se stanje kada naizgled zrele limfocitne stanice perzistiraju u organizmu dulje od tri mjeseca (WEISS i WARDROP, 2010.). Ta leukemija je u životinja, za razliku od ljudi, pretežito T-limfocitnog proliferacijskog porijekla stanica, a u pasa citotoksična T-stanična proliferacija dominira morfološkim oblicima granuliranih limfocita dok su u mačaka češće prisutne T-pomoćničke stanice (WORKMAN i VERNAU, 2003.).

Kronična mijeloična leukemija (*engl. Chronic myelogenous leukemia, CML*) smatra se izuzetno rijetkom u pasa i mačaka, a uključuje kroničnu mijelogenu ili granulocitnu, kroničnu monocitnu i kroničnu mijelomonocitnu leukemiju te su klinički znakovi bolesti gotovo identični onima koji se javljaju u kronične limfocitne leukemije (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.5.2.1. Kronična limfocitna leukemija (*engl. Chronic Lymphocytic Leukemia, CLL*)

Pacijenti koji obolijevaju od ove bolesti u koštanoj srži imaju više od 30% malih limfocita, a slične stanice mogu se pronaći i u perifernoj krvi te se bolest odvija proliferacijski sporo jer se dugo živuće stanice postupno akumuliraju u srži (DOBSON i sur., 2006.; WEISS i WARDROP, 2010.). Cirkulirajuća limfocitoza predstavlja gotovo patognomoničan nalaz za ovu bolest, a osim toga limfocitoza je prisutna i u koštanoj srži (DOBSON i sur., 2006.; WEISS i WARDROP, 2010.).

Kod kronične limfocitne leukemije kod koje su neoplastične stanice porijeklom iz B-stanica, razlikujemo dvije vrste stanica, pa su tako kod mačaka prisutne male stanice s okruglom jezgrom koje su 1 do 1,5 puta veće od promjera eritrocita te imaju suženu citoplazmu, a u pasa se osim navedenih javlja i drugi tip stanica koje imaju veću jezgru i obilniju citoplazmu, koja

se boji svijetlije i te su stanice sličnije onima koje se javljaju u ljudi, a predstavljaju progresiju bolesti (WEISS i WARDROP, 2010.).

Kao što je ranije spomenuto, T-stanična limfocitna leukemija je u domaćih životinja češća pojava, a njih čine stanice koje su male do srednje veličine s ovalnom jezgrom i glatkim kromatinom te blago bazofilno obojenom citoplazmom, koja može imati azurofilne granule (WEISS i WARDROP, 2010.). Uglavnom predstavlja indolentnu bolest koja se slučajno dijagnosticira, a infiltracija koštane srži nije dosljedna i periferna citopenija je rijetka (WEISS i WARDROP, 2010.).

#### 2.5.2.2. Kronična mijeloična leukemija (*engl. Chronic Myelogenous Leukemia, CML*)

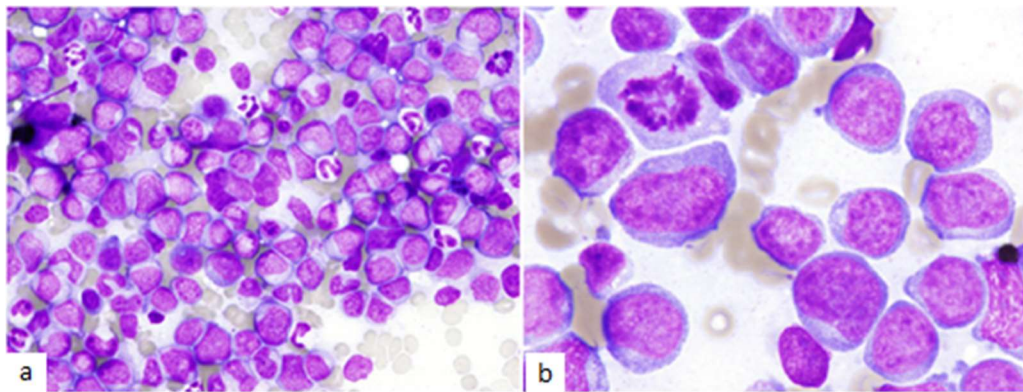
Ovu bolest ponekad je teško razlikovati od infekcijskih i upalnih procesa koji uzrokuju izrazito jaku neutrofiliju (leukemoidna reakcija) jer se upravo i kod kronične mijeloične leukemije javlja neutrofilija s izraženim skretanjem u lijevo, a neutrofili mogu iskazivati određene atipične i displastične promjene (DOBSON i sur., 2006.). Često se javljaju promjene kao što su hepatosplenomegalija zbog infiltracije granulocitima, koštana srž je hipercelularna uz dominaciju zrelih granulocita i s povišenim brojem nezrelih stanica, s time da mijeloblasti ne prelaze 20% (DOBSON i sur., 2006.), a ponekad se javljaju anemija, trombocitopenija ili trombocitoza (WEISS i WARDROP, 20120.).

#### 2.5.2.3. Znakovi bolesti

Znakovi bolesti kod kronične limfocitne leukemije najčešće nisu vidljivi i bolest se odvija asimptomatski, a u slučaju da su oni prisutni, nespecifični su i uključuju letargiju, spor progresivan gubitak na težini i eventualno smanjen apetit, a prilikom kliničkog pregleda može se primijetiti blago izražena generalizirana limfadenopatija te spleno- i hepatomegalija (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Ova bolest često se dijagnosticira nakon slučajnog nalaza limfocitoze prilikom rutinskog pregleda gerijatrijskih pacijenata, prije planiranog operativnog zahvata ili evaluacije stanja životinje radi neke druge bolesti pomoću navedenih pretraga (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.).

Laboratorijski nalaz kod ovih pacijenata uključuje leukocitozu i to najčešće uz apsolutnu limfocitozu, normocitnu normokromnu neregenerativnu anemiju (u više od 50% pasa) i trombocitopeniju (25–50% pasa). Kod mačaka se u većini slučajeva javljaju anemija (61%),

trombocitopenija (38%) i neutrofilija (50%), a neutropenija je prisutna samo u nekim slučajevima (16%) (WEISS i WARDROP, 2010.). Klinički znakovi isto kao i nalaz prilikom kliničkog pregleda životinja koje boluju od CML vrlo su slične onim pacijentima s CLL, a hematološki nalaz kod kronične mijeloične leukemije u pasa je oskudno obrađen, a dosad je poznato da se kod životinja javlja leukocitoza sa skretanjem u lijevo uz mijelocite i ponekad mijeloblaste (WEISS i WARDROP, 2010.). Što se tiče stanične infiltracije, ona je često vezana uz zrelije oblike stanica (Slika 14) te se mogu javiti znakovi displazije stanica u smislu hipersegmentacije, prstenastih jezgri i divovskih oblika.



Slika 14. Razmaz krvi psa koji boluje od kronične mijeloične leukemije, bojanje Wright Giemsa  
Vidljivo povećanje broja granulocita prisutnih u preparatu. b. U perifernom razmazu krvi psa koji boluje od kronične mijeloične leukemije uočeno povećanje broja zrelih i nezrelih granulocita. (Izvor: MOCHIZUKI i sur., 2014.)

#### 2.5.2.4. Prognoza i liječenje kronične leukemije

Kronična limfocitna leukemija je sporo progresivna bolest i neki psi uopće ne zahtijevaju liječenje kroz određeni period nakon postavljanja dijagnoze, a isto tako zabilježen je jedan slučaj psa koji je uz ovu bolest preživio čak dvije godine bez ikakve terapije (VAIL i sur., 2013.). Veliki značaj u prognozi i liječenju ima oblik bolesti koji može biti jednostavan (limfocitoza, bez citopenije) kad se bolest ponaša dosta tromo i ne napreduje brzo te ju je moguće držati pod kontrolom, ili kompliciran (limfocitoza uz citopeniju, anemija, paraneoplastični sindrom, jaka infiltracija pojedinih organa i slično) (WEISS i WARDROP, 2010.). Uz pravovremeno i ispravno liječenje psi mogu živjeti s tom bolešću i više od tri godine u slučaju jednostavnog oblika bolesti, dok je kod kompliciranog oblika bolesti prognoza drugačija, ali isto tako prema podacima liječenja takvih pacijenata vidljivo je da se u nekim

slučajevima njihov život može produžiti za 1 pa čak i do 3 godine (WEISS i WARDROP, 2010.).

S obzirom na velike razlike u težini kliničke slike u ovih pacijenata, liječenje životinja s istom bolesti ne mora biti provedeno na identičan način te se iz tog razloga na nekim pacijentima primjenjuje samo aktivno praćenje (najčešće kod asimptomatskih, uz slabu do srednje izraženu limfocitozu), koje se najčešće provodi jednom do dva puta mjesečno uz klinički pregled životinje i kompletnu krvnu sliku (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Bitno je da se kod tih pacijenata kroz određene vremenske periode prati porast broja limfocita iz periferne krvi i/ili prisutnost drugih sistemskih znakova bolesti, a kada je uočena progresija bolesti tada se prelazi na kemoterapiju (WEISS i WARDROP, 2010.). Do sada se najdjelotvornijim lijekom pokazao klorambucil koji se životinjama daje oralno, ali osim toga psi se često liječe kombinacijom klorambucila i kortikosteroida (najčešće prednizona), a učinak terapije je najčešće vidljiv tek kroz mjesec dana, što kod nekih može iznositi i do šest mjeseci (WEISS i WARDROP, 2010.; VAIL i sur., 2013.). Bitno je napomenuti da je liječenje kronične limfocitne leukemije primarno palijativno i da su kompletne remisije iznimno rijetke, a osim toga postoji šansa da se u ovih pacijenata bolest razvije u smjeru akutne faze i da psi razviju oblik limfoma koji je brzo-progresivan i loše odgovara na terapiju (VAIL i sur., 2013.).

Liječenje pacijenata koji boluju od kronične mijeloične leukemije izvedeno je iz protokola liječenja humanih pacijenata, a sudeći prema istraživanjima prognoza bolesti je lošija od one u pacijenata s CLL pa tako vrijeme preživljavanja ovih životinja, čak i uz pravodobnu terapiju, iznosi 4 do 15 mjeseci (WEISS i WARDROP, 2010.).

Prognoza kronične leukemije je svakako bolja od one u akutne leukemije, a glavni cilj liječenja jest taj da se krvna slika normalizira, odnosno da se broj krvnih stanica u perifernoj krvi ustabilu u referentnom intervalu fizioloških vrijednosti, te kad se postigne remisija prelazi se na terapiju održavanja, s ciljem zadržavanja stanica u približno jednakom broju (VAIL i sur., 2013.).

### 3. ZAKLJUČCI

1. Hematološke neoplazije rezultat su kontinuiranih brojnih mutacija koje mijenjaju DNK normalnih stanica. Zbog promjene u genetskom materijalu razvijaju se tumorske stanice koje su jedinstvene i imaju više obilježja koja im omogućuju zaobilaznje vanjskih i unutarnjih regulatornih mehanizama, kako u životinjskom, tako i u ljudskom organizmu.
2. Leukemije i limfomi su prema načinu nastanka i kliničkim znakovima poprilično slične, međutim njihovi uzroci, prognoza bolesti i liječenje mogu se znatno razlikovati, a bez obzira na odgovor organizma na kemoterapiju u bilo kojoj od navedenih učestala je pojava povratka bolesti (relaps).
3. Najznačajniji oblici i vrste limfoma u današnje vrijeme predstavljaju multicentrični limfom kod pasa, mačji limfom kao hematološka neoplazija vezana uz FeLV infekciju i enzootska leukoza goveda čiji je uzročnik BLV.
4. Četiri osnovna tipa leukemije su akutna limfoblastična leukemija, akutna mijeloblastična leukemija, kronična limfocitna leukemija i kronična mijeloična leukemija.
5. Osim što je prema FAB klasifikaciji akutna limfoblastična leukemija razvrstana s obzirom na podrijetlo prekursorskih stanica T i B, daljnje podjele uključuju razlike u staničnoj morfološkoj građi čime one mogu biti klasificirane kao L1, L2 ili L3.
6. ALL-L2 predstavlja najčešću akutnu limfoblastičnu leukemiju životinja, a incidencija ALL je najveća u mačaka. Više od dvije trećine mačaka koje boluju od leukemije pozitivno je na FeLV.
7. Akutna mijeloična leukemija je najčešća u pasa i to u obliku AML-M1, AML-M2 i AML-M4.
8. O kroničnoj leukemiji još uvijek dosta informacija nije poznato, ali prema trenutnim podacima ona se javlja rjeđe nego akutna i pogađa pse i mačke starije životne dobi.
9. Kemoterapijom i ostalim popratnim terapijama limfom i leukemiju moguće je više ili manje dovesti u stanje stagnacije, remisije ili trenutne neaktivnosti tumorskih stanica. Kvaliteta života oboljelih životinja za vrijeme terapije znatno je poboljšana, a životni vijek životinja u najboljim slučajevima produljuje se na vremenski period od maksimalno nekoliko godina.

#### 4. LITERATURA

ALBERTS, B., A. JOHNSON, J. LEWIS, M. RAFF, K. ROBERTS, P. WALTER (2002): An Overview of M Phase. In: *Molecular biology of the cell*. 4th ed. (Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter), Garland Science, New York.

ANGELESCU, S., N. M. BERBEC, A. COLITA, D. BARBU, A. R. LUPU (2012): Value of Multifaced Approach Diagnosis and Classification of Acute Leukemias. *Mædica. J. Clin. Med.* 7, 254 – 260.

BARNUM, K. J., M. J. O'CONNELL (2014): Cell Cycle Regulation by Checkpoints. In: *Cell Cycle Control: Mechanisms and Protocols*. 2nd ed. (Noguchi, E., M. C., Gadaleta), Humana Press, New York. pp. 29 – 40.

BENNETT, M. F., Y. E. CLUNE, F. SHANAHAN, G. O'SULLIVAN, J. K. COLLINS (2004): Synbiotics and colon cancer. In: *Functional Foods, Ageing and Degenerative Disease*. 1st ed. (Remacle, C., B. Reusens), Woodhead Publishing, Sawston, pp. 524 – 580.

BLEAM, W. F. (2012): *Soil and Environmental Chemistry*. 1st ed. Academic Press, Massachusetts, pp. 409 – 447.

BOES, K. M., A. C. DURHAM (2017): Bone Marrow, Blood Cells, and the Lymphoid/Lymphatic System. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6th ed. (Zachary, J. F.), Mosby, Missouri, pp. 724 – 804.

BRESHEARS, M. A., A. W. CONFER (2017): The Urinary System. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6th ed. (Zachary, J. F.), Mosby, Missouri, pp. 617 – 681.

CHOU DHURI, S., R. CHANDERBHAN, A. MATTIA (2018): Carcinogenesis: Mechanisms and Models. In: *Veterinary Toxicology*. 3rd ed. (Gupta, R., C.), Academic Press, Massachusetts, pp. 339 – 354.

COOPER, S. (1991): *Bacterial Growth and Division: Biochemistry and Regulation of Prokaryotic and Eukaryotic Division Cycles*. 1st ed. Massachusetts: Academic Press. p. 389 – 428.

COOPER, G. M. (2000): *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates.

COTTER, S. M., M. ESSEX (1977): Animal model: feline acute lymphoblastic leukemia and aplastic anemia. *Am. J. Pathol.* 87, 265 – 268.

DOBSON, J., E. VILLIERS, J. MORRIS (2006): Diagnosis and management of leukaemia in dogs and cats. *In Practice* 28, 22 – 31.

FABRIZIO, F., A. E. CALAM, J. M. DOBSON, S. A. MIDDLETON, S. MURPHY, S. S. TAYLOR, A. SCHWARTZ, A. J. STELL (2013): Feline mediastinal lymphoma: a retrospective study of signalment, retroviral status, response to chemotherapy and prognostic indicators. *J. Feline Med. Surg.* 16, 637 – 644.

- FISHER, M., C. V. DANG, J. A. DECAPRIO (2018): Control of Cell Division. In: Hematology. 7th ed. (Silberstein, L., E., J. Anastasi, R. Hoffman, E., J. Benz, H. Heslop, J. Weitz), Elsevier Inc., Amsterdam, pp. 176–185.
- GOEDECKE, W. (2007): Topoisomerases. In: xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. (Enna, S. J., D. B. Bylund), Elsevier Inc., Amsterdam, pp. 1–2.
- HANAHAN, D., R. A. WEINBERG (2011): Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 144, 646 – 674.
- HARRIS, N. L., E. S. JAFFE, J. DIEBOLD, G. FLANDRIN, H. K. MULLER – HERMELINK, J. VARDIMAN (2000): Lymphoma classification - from controversy to consensus: The R.E.A.L. and WHO Classification of lymphoid neoplasms. *Ann. Oncol.* 11, S1-S150.
- ITO, D., A. M. FRANTZ, J. F. MODIANO (2014): Canine lymphoma as a comparative model for human non-Hodgkin lymphoma: recent progress and applications. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 159, 192 – 201.
- JUOPPERI, T., H. L. DE HEER (2004): Acute Myeloid Leukemias. In: *Veterinary Clinical Pathology Secrets*. 1st ed. (Cowell, R. L.), Hanley and Belfus Inc., Pennsylvania, pp. 62 – 66.
- KING, T. C. (2007): Neoplasia. In: *Elsevier's Integrated Pathology*. 1st ed. (King, T. C.), Mosby, Missouri, pp. 111 – 143.
- KRICK, E. L., K. U. SORENMO (2016): A Review and Update on Gastrointestinal Lymphoma in Cats. In: *August's Consultations in Feline Internal Medicine*. Volume 7. (Little, S. E.), Saunders Ltd., Pennsylvania, pp. 561 – 571.
- KRUDE, T., M. JACKMAN, J. PINES, R. A. LASKEY (1997): Cyclin/Cdk-dependent initiation of DNA replication in a human cell-free system. *Cell* 88, 109 – 119.
- LADINES-CASTRO, W., G. BARRAGAN-IBANEZ, M. A. LUNA-PEREZ, A. SANTOYO-SANCHEZ, J. COLLAZO-JALOMA, E. MENDOZA-GARCIA, C. O. RAMOS-PENAFIEL (2016): Morphology of leukaemias. *Rev. Medica del Hosp. Gen. de Mex.* 79, 107 – 113.
- LEE, M. J., K. H. KEE, H. J. JEON (2002): Mantle Cell Lymphoma, Blastoid Variant, Diagnosed on the Basis of Cytomorphology and Flow Cytometric Immunophenotyping of the Lymph Node Aspirate and Peripheral Blood. *J. Korean Med. Sci.* 17, 173 – 178.
- LEW, D. (2001). Cell Cycle. In: *Encyclopedia of Genetics*. 1st ed. (Brenner, S., J. H. Miller), Academic Press, Massachusetts, pp. 286 – 296.
- LORIMIER, L. P., T. M. FAN (2005): Peer-reviewed - Treating lymphoma in dogs and cats. *Vet. Med.* 100, 285 - 292.
- MAGA, G. (2013): DNA Replication. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics*. 2nd ed. (Maloy, S., K. Hughes), Academic Press, Massachusetts, pp. 392 – 394.
- MAK, T. W., M. E. SAUNDERS (2006): Cells and Tissues of the Immune Response. In: *The Immune Response. Basic and Clinical Principles*. 1st ed. (Mak, T. W., M. E. Saunders), Academic Press, Massachusetts, pp. 35 – 67.
- MALARKEY, D. E., R. R. MARONPOT (2005): Carcinogenesis. In: *Encyclopedia of Toxicology*. 2nd ed. (Wexler, P.), Academic Press, Massachusetts, pp. 445 – 466.

- MALARKEY, D. E., M. HOENERHOFF, R. R. MARONPOT (2013): Carcinogenesis: Mechanisms and Manifestations. In: Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology. 3rd ed. (Haschek, W. M., C. G. Rousseaux, M. A. Wallig), Academic Press, Massachusetts, pp. 107 – 146.
- MEDEIROS, L. J., R. N. MIRANDA (2018): Burkitt Lymphoma. In: Diagnostic Pathology: Lymph Nodes and Extranodal Lymphomas. 2nd ed. (Medeiros, L. J., R. N. Miranda), Elsevier Inc., Amsterdam, pp. 408 – 415.
- MOCHIZUKI, H., Y. GOTO – KOSHINO, M. TAKAHASHI, Y. FUJINO, K. OHNO, H. TSUJIMOTO (2014): Demonstration of the Cell Clonality in Canine Hematopoietic Tumors by X-chromosome Inactivation Pattern Analysis. *Vet. Pathol.* 52, 61 – 69.
- NORTH, S. M., T. A. BANKS (2009): Tumours of the haemolymphatic system. In: Small Animal Oncology. An Introduction. 1st ed. (North, S. M., T. A. Banks), Saunders Ltd., Pennsylvania, pp. 225 – 236.
- PAVLETICH, N. P. (1999): Mechanisms of cyclin-dependent kinase regulation: structures of cdk, their cyclin activators, and cip and INK4 inhibitors. *J. Mol. Biol.* 287, 821 – 828.
- POON, R. Y. C. (2002): Cell Cycle Control. In: Encyclopedia of Cancer. 2nd ed. (Bertino, J. R.), Academic Press, Massachusetts, pp. 393 – 403.
- PRIEST, H., S. MCDONOUGH, H. ERB, J. DADDONA, T. STOKOL (2010.): Transferrin Receptor Expression in Canine Lymphoma. *Vet. Pathol.* 48, 466 – 474.
- REHA – KRANTZ, L. J., L. ZHANG (2013): Replication Fork. In: Brenner's Encyclopedia of Genetics. 2nd ed. (Maloy, S., K. Hughes), Academic Press, Massachusetts, pp. 159 – 163.
- SAHORA, A., C. KHANNA (2013): Cellular Growth/Neoplasia. In: Canine and Feline Gastroenterology. 1st ed. (Washabau, R. J., M. J. Day), Saunders Ltd., Pennsylvania, pp. 61 – 69.
- SAWAN, C., Z. HERCEG (2010): Histone Modifications and Cancer. In: Advances in Genetics. Epigenetics and Cancer, Part A. 1st ed. (Herceg, Z., T. Ushijima), Academic Press, Massachusetts, pp. 57 – 85.
- SCHAFFER, K. A. (1998): The Cell Cycle: A Review. *Vet. Pathol.* 35, 461 – 478.
- SCHWARTZ, L. H., S. LITIERE, E. DE VRIES, R. FORD, S. GWYTHYR, S. MANDREKAR, L. SHANKAR, J. BOGAERTS, A. CHEN, J. DANCEY, W. HAYES, F. S. HODI, O. S. HOEKSTRA, E. P. HUANG, N. LIN, Y. LIU, P. THERASSE, J. D. WOLCHOK, L. SEYMOUR (2016): RECIST 1.1-Update and clarification: From the RECIST committee. *Eur. J. Cancer* 62, 132 – 137.
- UNDERWOOD, W. J., R. BLAUWIEKEL, M. L. DELANO, R. GILLESBY, S. A. MISCHLER, A. SCHOELL (2015): Biology and Diseases of Ruminants (Sheep, Goats, and Cattle). In: Laboratory Animal Medicine. 3rd ed. (Fox, J. G., L. C. Anderson, G. M. Otto, K. R. Pritchett-Corning, M. T. Whary), Academic Press, Massachusetts, pp. 623 – 694.
- VAIL, D. M., M. E. PINKERTON, K. M. YOUNG (2013): Hematopoietic Tumors. In: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. 5th ed. (Withrow, S. J., D. M. Vail, R. L. Page), Saunders Ltd., Pennsylvania, pp. 608 – 678.



- VALLI, V. E., M. S. 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 (2010): Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. *Vet. Pathol.* 48, 198 – 211.
- VALLI, V. E., W. VERNAU, L.-P. DE LORIMIER, P. S. GRAHAM, P. F. MOORE (2006): Canine Indolent Nodular Lymphoma. *Vet. Pathol.* 43, 241 – 256.
- WADLEIGH, M., D. M. DORFMAN, A. T. SKARIN (2010): Acute and Chronic Leukemias. In: *Atlas of Diagnostic Oncology*. 4th ed. (Skarin, A. T.), Mosby, Missouri, pp. 529 – 570.
- WAYNE, R. (2019): Cell Division. In: *Plant Cell Biology*. 2nd ed. (Wayne, R.), Academic Press, Massachusetts, pp. 365 – 388.
- WEISS, D. J., K. J. WARDROP (2010): Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. John Wiley & Sons Inc., Ames, Iowa, pp. 421 – 539.
- WILKINS, B. (2011): Lymphoma. In: *Blood and Bone Marrow Pathology*. 2nd ed. (Porwit, A., J. Mc Cullough, W. N. Erber), Churchill Livingstone, United Kingdom, pp. 419 – 449.
- WORKMAN, H. C., W. VERNAU (2003): Chronic lymphocytic leukemia in dogs and cats: the veterinary perspective. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 33, 1379 – 1399.
- YANG, V. W. (2018): The Cell Cycle. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 6th ed. (Said, H. M.), Academic Press, Massachusetts, pp. 197 – 219.
- ZAKOWSKI, M. F., A. V. PARWANI (2007): Mediastinum. In: *Fine Needle Aspiration Cytology*. 1st ed. (Ali, S. Z., J. R. Goldblum, M. K. Sidawy), Churchill Livingstone, United Kingdom, pp. 201 – 218.
- ZANDVLIET, M. (2016): Canine lymphoma: a review. *Vet. Q.* 36, 76 – 104.

## 5. SAŽETAK

### Patofiziologija leukemija i limfoma

Cilj ovog rada bio je pobliže opisati patofiziologiju leukemija i limfoma više vrsta životinja, uz naglasak na pse i mačke.

Patofiziologija leukemija i limfoma u životinja nije dovoljno razjašnjena i treba dodatnu sistematizaciju i klasifikaciju, uz dodatne animalne modele i istraživanja kako bi se rasvijetlile mnoge nepoznanice od etiologije do mehanizma nastanka bolesti.

Pojava hematoloških neoplazija vezana je uz stanični ciklus i njegovu kontrolu te se javlja zbog grešaka u istom u kombinaciji sa specifičnim obilježjima tumorskih stanica što rezultira brojnim mutacijama i nekontroliranim diobama jednom zdravih i funkcionalnih stanica.

Limfom i leukemija različite su bolesti, čija je osnovna razlika da se leukemija primarno javlja u koštanoj srži i krvi te zahvaća, više ili manje, sve krvne loze. Limfom zahvaća isključivo limfocite te se javlja u pojedinim organima i to najčešće u onima koji čine osnovu imunskog odgovora, gdje je prisutna najveća koncentracija limfocita.

Limfom, koji potječe od stanica imunološkog sustava – limfocita, može biti T ili B staničnog podrijetla, a osim toga može se razlikovati prema svojoj anatomskoj lokaciji, imunofenotipu, histološkoj građi i biološkom ponašanju. Klinički oblici su brojni, a incidencija navedenih razlikuje se od vrste do vrste, gdje je u pasa najčešća varijanta multicentričnog oblika. Kod mačaka je to limfom gastrointestinalnog trakta uz što je sama pojava bolesti često u svezi s pozitivnim nalazom FeLV-a. U farmskih životinja jedini značaj pridodaje se enzooskoj leukozii goveda čiji je uzročnik retrovirus roda *Deltaretrovirus* i pogađa govedo, ovce i koze. Patogeneza enzooske leukoze goveda se odvija na način da se virusna DNK integrira u DNK stanice domaćina pomoću enzima reverzne transkriptaze, a primarno inficira B-stanice i uzrokuje perzistentnu limfocitozu. Bolest zahvaća samo odrasle jedinke i većina ih u pravilu ne razvija kliničke znakove, a suzbija se prema „Naredbi o mjerama zaštite zdravlja životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2021. godini“.

Leukemiju obilježava proliferacija malignih hematopoetskih stanica, koje su svojim porijeklom iz koštane srži i javlja se u svih domaćih životinja i to rjeđe od limfoma. Dijeli se na akutnu ili kroničnu i limfatičku (limfocitnu/limfoblastnu) ili mijeloičnu pa tako razlikujemo

akutnu limfoblastičnu leukemiju (ALL), akutnu mijeloblastičnu leukemiju (AML), kroničnu limfocitnu leukemiju (CLL) i kroničnu mijeloičnu leukemiju (CML).

Akutna limfoblastična leukemija pokazuje malu staničnu diferencijaciju, a dominantna stanična populacija su blasti i/ili prolimfociti, dok je akutna mijeloblastična leukemija ona kod kojih je prisutna leukocitoza, uz veći broj cirkulirajućih atipičnih blasta te su stanice diferencirane u granulocitne, monocitne, eritrocitne i megakariocitne stanične linije. Kod pasa je zabilježeno veća incidencija akutne mijeloblastične leukemije, a u mačaka akutne limfoblastične leukemija te je ona, kao i kod limfoma, često u korelaciji s infekcijom mačjim virusom leukemije.

Kronična leukemija može biti limfatična ili mijeloična, koje imaju svoje podtipske varijante. O njima nije poznato puno i javljaju se rjeđe nego akutne, a studije pokazuju da pogađaju pse i mačke starije životne dobi. U mačaka se oba tipa javljaju u populaciji izuzetno rijetko, dok je kod pasa ipak zabilježena nešto češća pojava kronične limfocitne leukemije nego one mijeloičnog porijekla. Kronična limfocitna leukemija se očituje kao perzistentna periferna limfocitoza, a limfociti su morfološki zreli i perzistiraju u organizmu dulje od tri mjeseca. Kronična mijeloična leukemija (CML) uključuje nekoliko podtipova - kroničnu mijeloičnu ili granulocitnu, kroničnu monocitnu i kroničnu mijelomonocitnu leukemiju, a klinički se očituje gotovo identično kao i kronična limfocitna leukemija.

Ključne riječi: limfom, leukemija, akutna, kronična, limfociti, leukociti

## 6. SUMMARY

### Pathophysiology of leukemia and lymphoma

The aim of this paper was to describe the details of the pathophysiology of leukemias and lymphomas of several animal species, with emphasis on dogs and cats.

The pathophysiology of leukemias and lymphomas in animals is not sufficiently elucidated and needs additional systematization and classification, with additional animal models and research in order to resolve many of today's unknowns, from etiology to the mechanisms of the two diseases.

The occurrence of hematological neoplasms is related to the cell cycle and its control and occurs due to errors in it. Precisely this, in combination with specific characteristics of tumorous cells, results in numerous mutations and uncontrolled divisions of once before healthy and functional cells.

The main difference between leukemia and lymphoma is that leukemia occurs primarily in the bone marrow and blood affecting almost all cell lineage. Lymphoma affects only lymphocytes, and it occurs in certain organs. It is most often seen in organs which have the highest concentration of lymphocytes - those that form the basis of the immune response.

Lymphoma, which originates from cells of the immune system - lymphocytes, can by its cellular origin be of T or B type, and in addition may differ according to its anatomical location, immunophenotype, histological structure and biological behavior. Clinical forms are numerous, and the incidence of these varies from species to species, where in dogs the most common variant is the multicentric form. In cats, it is a lymphoma of the gastrointestinal tract, and the onset of the disease is often associated with a positive FeLV test. The most important disease variant in farm animals is the enzootic bovine leukosis, which is caused by a retrovirus of the genus *Deltaretrovirus* and it affects cattle, sheep, and goats. The pathogenesis of enzootic bovine leukosis starts when viral DNA integrates into the DNA of the host cell by reverse transcriptase enzyme, and it primarily infects B cells and causes persistent lymphocytosis. The disease affects only adult bovine and most of them do not usually show clinical signs. This disease is controlled by the law according to the "Order on measures to protect animal health from infectious and parasitic diseases and their financing in 2021."

Leukemia is characterized by the proliferation of malignant hematopoietic cells, which originate from the bone marrow. It occurs in all domestic animals, and it is less frequent than lymphoma. It is classified into acute or chronic, and lymphoid (lymphocytic/lymphoblastic) or myeloid, by which we differentiate main types: acute lymphoblastic leukemia (ALL), acute myeloblastic leukemia (AML), chronic lymphocytic leukemia (CLL) and chronic myeloid leukemia (CML).

Acute lymphoblastic leukemia shows a little of cell differentiation, and the dominant cell population are blasts and/or prolymphocytes. On the other hand, acute myeloblastic leukemia is the one where leukocytosis is present, with a number of circulating atypical blasts and cells are differentiated into granulocyte, monocyte, erythrocyte, and megakaryocyte cell lineage. In dogs, it has been reported a higher incidence of acute myeloblastic leukemia, whereas in cats acute lymphoblastic leukemia is more common, and it is often correlated with feline leukemia virus infection.

Chronic leukemia can also be lymphoid or myeloid, and those have their own subtypes. There is not much known about it, and it occurs less frequently than the acute one, but studies show that it affects older dogs and cats. In cats, both types are extremely rare in the population, whereas in dogs, chronic lymphoid leukemia is somewhat more common than the one of myeloid origin. Chronic lymphoid leukemia manifests as persistent peripheral lymphocytosis where lymphocytes are morphologically mature and persist in the body for more than three months. Chronic myeloid leukemia (CML) includes several subtypes - chronic myeloid or granulocytic, chronic monocytic and chronic myelomonocytic leukemia, and it is clinically almost identical to chronic lymphocytic leukemia.

Key words: lymphoma, leukemia, acute, chronic, lymphocytes, leukocytes

## **7. ŽIVOTOPIS**

Rođena sam 15. ožujka 1997. godine u Varaždinu i tamo sam završila svoje osnovnoškolsko obrazovanje. Nakon toga upisala sam dvojezičan smjer u Prvoj gimnaziji u Varaždinu gdje sam provela još naredne tri godine obrazovanja. 2014. godine preselila sam se u Zagreb i upisala XVI. gimnaziju, gdje sam u konačnici maturirala 2015. godine. Veterinarski fakultet u Zagrebu upisala sam iste te godine i to iz ljubavi prema životinjama, a osim toga zbog velikog interesa u biologiju i ostale znanosti vezane uz životinjski i ljudski organizam. Na šestoj godini studija odrađivala sam stručnu praksu u veterinarskoj ambulanti za male životinje „Specijalističke veterinarske ambulante Marković“.