

# Dijagnostika i liječenje mastocitoma u pasa

---

**Pek, Filip**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*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:178:410413>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-25**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

Filip Pek

DIJAGNOSTIKA I LIJEČENJE MASTOCITOMA U PASA

Diplomski rad

Zagreb, 2020.

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Nade Kučer.

Predstojnik Zavoda:

Izv. prof. dr. sc. Ivana Kiš

Članovi povjerenstva:

1. član: izv. prof. dr. sc. Mirna Brkljačić
2. član: prof. dr. sc. Ivica Harapin
3. član: prof. dr. sc. Nada Kučer
4. član: prof. dr. sc. Vesna Matijatko, zamjena

## *Zahvale*

*Zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Nadi Kučer, koja mi je svojim osobnim i stručnim zalaganjem uvelike olakšala izradu ovog diplomskog rada. Zahvaljujem prijateljima, koji su me vjerno bodrili u zahtjevnim trenucima studiranja. Hvala roditeljima, koji nažalost moju obranu diplomskog rada nisu doživjeli i bratu koji me ohrabrivao u teškim trenucima.. Zahvaljujem Marku koji je pokazao strpljenje i razumijevanje.*

## **KRATICE:**

ALP - alkalna fosfataza

ALT - alanin aminotransferaza

AST - aspartat aminotransferaza

ATP - adenzin trifospat

BSA - površina tijela (eng. *body surface area*)

CR - potpuni odgovor (eng. *complete response*)

DLT - toksičnost koja limitira dozu (eng. *dose-limiting toxicity*)

DNK - deoksiribonukleinska kiselina

FNA - punkcija tankom iglom (eng. *fine-needle aspiration cytology*)

H1 - histaminski receptor 1

H2 - histaminski receptor 2

HPF - eng. *high-power field*

IgE - imunoglobulin E

IV - intravenski

MI - indeks mitoze (eng. *mitotic index*)

MST - srednje vrijeme preživljavanja (eng. *median survival time*)

MST - srednje vrijeme preživljavanja (eng. *median survival time*)

MTD - maksimalna tolerirajuća doza (eng. *maximum tolerated dose*)

ORR - ukupna stopa preživljavanja (eng. *overall response rate*)

OS - ukupno preživljavanje (eng. *overall survival*)

OST - ukupno vrijeme preživljavanja (eng. *overall survival time*)

PCR - lančana reakcija polimeraze (eng. *polymerase chain reaction*)

PD - progresivna bolest (eng. *progressive disease*)

PFS - vrijeme bez progresije bolesti (eng. *progression-free survival*)

PO - peroralno,

PR - djelomičan odgovor (eng. *partial response*)

RTK - receptor tirozin kinaze

RTK - receptor tirozin kinaze

SCF - faktor matičnih stanica (eng. *stem cell factor*)

SD - stabilna bolest (eng. *stable disease*)

TKI - inhibitori tirozin kinaze (eng. *tyrosine kinase inhibitors*)

TTP - vrijeme do progresije tumora (eng. *time to tumor progression*)

VMP - veterinarsko-medicinski proizvod

WHO - World Health Organization

### **POPIS TABLICA:**

TABLICA 1.: receptori tirozin kinaze i njihova povezanost s tumorima (LONDON, 2004.)

TABLICA 2: TNM klasifikacija mastocitoma, World Health Organization (WHO) (LONDON i THAMM, 2013.)

TABLICA 3: učestalo korišteni kemoterapijski protokoli (BLACKWOOD i sur., 2012.)

TABLICA 4: korelacija između tjelesne težine i površine tijela (BSA) kod pasa (GUSTAFSON i PAGE, 2013.)

TABLICA 5: HHHHHMM ljestvica (eng. *Hurt, Hunger, Hydration, Hygiene, Happiness, Mobility, More good days than bad*) (VILLALOBOS, 2007.)

## SADRŽAJ:

1. Uvod.....	1
1.1. Mastocitomi.....	1
1.2. Protein kinaze, receptori tirozin kinaze i c-kit mutacije.....	2
1.3. Klinička slika.....	6
1.4. Paraneoplastični sindrom.....	7
2. Dijagnostika.....	8
2.1. Citološka pretraga (eng. <i>fine-needle aspiration cytology</i> - FNA).....	8
2.2. Biopsija i patohistološka pretraga.....	9
2.3. Stadij proširenosti (TNM klasifikacija).....	10
3. Liječenje.....	12
3.1. Kirurško liječenje.....	12
3.2. Kemoterapijsko liječenje.....	15
3.2.1. Kemoterapijski protokoli.....	17
3.3. Inhibitori tirozin kinaze.....	22
3.3.1. Toceranib fosfat (Palladia®).....	23
3.3.2. Masitinib (Masivet®).....	25
3.4. Kombinirani protokoli citostatika i inhibitora tirozin kinaze.....	26
3.5. Tigilanol tiglat (Stelfonta®).....	28
3.6. Radioterapija.....	30
3.7. Potporna terapija.....	30
4. Prognostički faktori.....	31
5. Procjena kvalitete života.....	33
6. Zaključak.....	35
7. Literatura.....	36
8. Sažetak.....	42
9. <i>Summary</i> .....	43
10. Životopis.....	44

## 1. Uvod

Cilj ovog diplomskog rada je prikazati liječenje i dijagnostiku mastocitoma pasa te pretražiti i objediniti literaturu i dostupna klinička istraživanja o ovoj čestoј neoplaziji u pasa.

### 1.1. Mastocitomi

Mastocitomi ili tumori mastocitnih stanica su neoplastične proliferacije mastocita te su jedni od najčešćih tumora kože i potkožja pasa (LONDON i THAMM, 2013.). Mastocitomi se mogu javiti u bilo kojem tkivu, ali se najčešće javljaju na koži (MCCAW, 2010.). Mastocitomi čine 16% do 21% ukupnih kožnih i potkožnih tumora pasa. Češće se javljaju kod srednjovječnih i starijih pasa, a spolna predispozicija nije zabilježena. Mastocitomi se često javljaju kod brahiocefaličnih pasmina (bokser, boston terijer, engleski buldog, mops) i labrador retrievera, zlatnih retrievera, koker španijela, šnaucera, stafordskih terijera, biglova, rodezijskih goniča, weimarskih ptičara i shar-peia. Biološko ponašanje mastocitoma varira od relativno benignih tvorbi do vrlo malignih i agresivnih tumora (LONDON i THAMM, 2013.). Većina pacijenata s mastocitnim tumorima uspješno se liječi kirurškim odstranjivanjem tumora, dok liječenje drugog dijela pacijenata biva zahtjevnije zbog pođmakle faze rasta tumora, tumorskih metastaza i paraneoplastičnih simptoma (BLACKWOOD, 2013.). Mastocitomi su jedan od najvažnijih razloga zašto svaka masa u dermisu i subkutisu treba biti citološki ocijenjena iz razloga što mastocitomi mogu oponašati lipome i druge ne-neoplastične lezije. Mastocitomi su najčešće mekane, izdignute od površine, pojedinačne i bezdlačne tvorbe koje se mogu pojavljivati bilo gdje na tijelu (ROGERS, 2010.). Etiologija nastanka mastocitoma kod pasa nije razjašnjena. Dugo kroz povijest kancerogeneza mastocitoma bila je povezana s kroničnim upalama kože (LONDON i THAMM, 2013.). Sastavni dio mastocitoma su mastociti. Mastociti se dijele na dvije skupine, mastociti vezivnog tkiva i mastociti sluznice. Mastociti vezivnog tkiva nalaze se u koži i trbušnoj šupljini, a mastociti sluznice nalaze se u sluznici crijeva i plućima (JUNQUEIRA i CARNEIRO, 2003.). Mastociti su podrijetla prekursora iz koštane srži. Po izlasku iz koštane srži putuju tijelom do raznih tkiva gdje se uglavnom zadržavaju u perivaskularnom prostoru, najviše u koži i sluznicama. Na svom putu ulaze u proces diferencijacije i zrenja pri čemu nastaju brojna zrnca (granule) unutar citoplazme. Granule sadrže brojne biološki aktivne tvari kao što su heparin, histamin, citokini, faktori rasta i metaboliti arahidonske kiseline. U slučaju stimulacije, mastociti se brzo degranuliraju otpuštajući proteaze, citokine (*tumor necrosis factor- $\alpha$*  [TNF- $\alpha$ ], interleukin-6 [IL-6]),



kemokine, faktore rasta (eng. *vascular endothelial growth factor*, *basic fibroblast growth factor*) i metabolite arahidonske kiseline (prostaglandine D<sub>2</sub>, leukotriene C<sub>4</sub>) (LONDON i THAMM, 2013.). Poticaj za degranulaciju može biti fizikalne (trauma, toplina, hladnoća) i kemijske prirode (morfij, aspirin, zmijski otrovi, otrovi kukaca). Degranulacija također može biti posredovana imunoglobulinima E (IgE) i anafilatoksinima (fragmenti komplemента C3a i C5a) te stimulacijom  $\alpha$ -adrenergičnih i  $\beta$ -adrenergičnih receptora na površini mastocita.  $\alpha$ -adrenergične receptore stimulira hormon noradrenalin, a  $\beta$ -adrenergične receptore stimulira hormon adrenalin (GRABAREVIĆ, 1993.). Mastociti sudjeluju u cijeljenju rana, brzom imunom odgovoru, parazitskim invazijama i reakcijama na ugrize i ubode insekata (LONDON i THAMM, 2013.).

## 1.2. Protein kinaze, receptori tirozin kinaze i c-kit mutacija

Protein kinaze su enzimi koji imaju važnu ulogu u prijenosu staničnog signala te reguliraju signalne puteve za rast, diferencijaciju, preživljavanje i smrt stanica. Kinaze kataliziraju prijenos fosfatne skupine na sebe (u procesu autofosforilacije), ali i na druge molekule te na taj način prenose signal unutar stanice kao odgovor na vanjski signal (LONDON, 2004.). Taj proces se uobičajeno javlja kao odgovor na vanjske signale koje stvaraju faktori rasta ili se javljaju kao posljedica drugih podražaja koji započinju kaskadnu reakciju. (LONDON, 2013.)

Protein kinaze dijele se na tirozin kinaze ako fosforiliraju tirozinski nastavak proteina i na serin/treonin protein kinaze ako fosforiliraju serin/treonin nastavak proteina. Tirozin kinaze koje se nalaze na površini stanice i koje vežu na sebe faktore rasta nazivaju se receptori tirozin kinaze (RTK), a tirozin kinaze koje se nalaze u citoplazmi nazivaju se citoplazmatske ili ne-receptorske tirozin kinaze. Citoplazmatske tirozin kinaze su posrednici brojnih signala koje stvaraju receptori tirozin kinaze što u konačnici rezultira prevođenjem signala do jezgre. Receptori tirozin kinaze su podijeljeni u skupine na temelju njihove strukture i važni su u normalnoj funkciji stanica, ali i u procesu tumorske angiogeneze. Tumori ne mogu rasti više od nekoliko milimetara bez vlastitog krvotoka, a uočeno je da četiri receptora tirozin kinaze igraju važnu ulogu u procesu angiogeneze; VEGFR (eng. *vascular endothelial growth factor receptor*), PDGFR (eng. *platelet-derived growth factor receptor*), FGFR (eng. *fibroblast growth factor receptor*), Tie1 i Tie2 (receptor za angioprotein). VEGFR igra važnu ulogu u

indukciji endotelne migracije i proliferacije, PDGFR se nalazi u stromi i pericitima te imaju ulogu u proliferaciji i migraciji endotelnih stanica, FGFR ima sinergistički učinak s VEGFR, a prisutnost Tie1 i Tie2 je dokazana u nekih tumorima kod ljudi (LONDON, 2004.).

Poremećaj funkcije protein kinaza odnosno tirozin kinaza dokazani je proces u tumorima ljudi, a nedavni podatci ukazuju na postojanje disfunkcije i kod tumora pasa i mačaka. Mehanizmi poremećaja funkcije su različiti, a uključuju mutacije, pretjeranu ekspresiju, fuziju proteina ili autokrinu signalizaciju. Poznato je da poremećena funkcija RTK-a koja rezultira aktivacijom kaskadne reakcije ili nekontrolirano signaliziranje pridonosi razvoju više tumora u pasa, mačaka i ljudi. Aktivacija RTK je od presudne važnosti za regulaciju angiogeneze, procesa od iznimne važnosti za rast tumorskih stanica. Različite skupine RTK odnosno njihova mutacija, pretjerana ekspresija, fuzija ili autokrini signalizacija povezane su s različitim tumorima u ljudi. Tako, na primjer, pretjerana ekspresija receptora epidermalnog faktora rasta 2 (HER2, ErbB2) koji pripada EGFR (eng. *epidermal growth factor receptor*) skupini je povezan s karcinomima mliječne žlijezde i jajnika, ali i sa njihovim agresivnijim biološkim ponašanjem, a pretjerana ekspresija EGFR je prisutna i u karcinomima pluća, mokraćnog mjehura, grlića maternice, jajnika, bubrega i gušterače ljudi (LONDON, 2013.).

Brojni su primjeri (TABLICA 1.) povezanosti RTK s tumorima, a samo jedan od niza primjera mutacije protein kinaza je i KIT mutacija (LONDON, 2004.).

KIT je transmembranski protein, odnosno receptor tirozin kinaze kojeg kodira c-kit proto-onkogen. C-kit je normalno izražen u brojnim stanicama uključujući i mastocitome (KIUPEL i sur., 2004.). KIT je važan receptor na hematopoetskim matičnim stanicama, melanocitima, u centralnom živčanom sustavu i na mastocitima (LONDON i THAMM, 2013.). Faktor matičnih stanica (eng. *stem cell factor*, SCF) predstavlja ligand za KIT receptor koji aktivira intracelularnu kaskadnu reakciju dovodeći proliferacije, diferencijacije i sazrijevanja mastocita (LONDON, 2013.). Mutacije u jukstamembranskom kodirajućem području c-kit proto-onkogeni dokazane su u mastocitomima pasa. Mutacije u obliku tandem duplikacija u tom području pokazale su se kao mutacije koje dovode do aktivacije KIT receptora unatoč odsutnosti faktora matičnih stanica (SCF) te se smatra da dovode do neoplastične transformacije mastocita u pasa (KIUPEL i sur., 2004.). C-kit mutacije opisane su u 25% do 30% pasa s mastocitomima visokog stupnja malignosti, a povezane su i s lokalnim

recidivima, metastaziranjem i lošom prognozom (LONDON, 2013.). ZEMKE i suradnici 2002. godine navode kako su se u njihovom istraživanju c-kit mutacije pojavile u mastocitomima drugog i trećeg stupnja malignosti, ali ne i u mastocitomima prvog stupnja malignosti. LONDON i suradnici 2009. godine provode dvostruko, slijepo, nasumično, placebo kontrolirano istraživanje o učinkovitosti lijeka inhibitora tirozin kinaze. U istraživanju je c-kit mutacija određivana u 150 pasa; od toga je 12 od 38 (31,6%) pasa s mastocitomom trećeg stupnja malignosti, 18 od 110 (16,4%) pasa s drugim stupnjem malignosti i 0 od 2 (0%) pasa s prvim stupnjem malignosti imalo c-kit mutaciju. KIUPEL i suradnici 2004. godine određivali su KIT receptor imunohistokemijskim metodama bojenja. ZEMKE i suradnici 2002. te WEISHAAR i suradnici 2018. godine u svojim istraživanjima koriste lančanu reakciju polimeraze (PCR) kako bi odredili c-kit mutaciju.

RECEPTOR TIROZIN

TUMOR

KINAZE

<i>EGFR skupina</i>	Tumor mliječne žlijezde, pluća, želuca, debelog crijeva, glioblastomi
<i>Skupina inzulinskih receptora</i>	Sarkomi, tumori grlića maternice, bubrega
<i>PDGFR skupina</i>	Glioblastom, tumori jajnika, kronična mijelomonocitna leukemija
<i>Kit</i>	Akutna mijelocitna leukemija, gastrointestinalni stromalni tumori, mastocitomi, tumori pluća
<i>Flt3</i>	Akutna mijelocitna leukemija
<i>VEGFR skupina</i>	Kaposijev (multipli idiopatski hemoragični) sarkom, hemangiosarkom, melanom
<i>FGFR skupina</i>	Akutna mijelocitna leukemija, limfom, tumor mliječne žlijezde, prostate, multipli mijelomi
<i>NGFR skupina</i>	Papilarni tumor štitne žlijezde, neuroblastom, fibrosarkom, akutna mijelocitna leukemija
<i>Met/Ron</i>	Papilarni tumor štitne žlijezde, osteosarkom, rabdomiosarkom, tumori jetre, bubrega, debelog crijeva
<i>EPHR skupina</i>	Melanom, tumori želuca, debelog crijeva, mliječne žlijezde, jednjaka
<i>AXL</i>	Akutna mijelocitna leukemija
<i>TIE skupina</i>	Hemangioblastom, tumori želuca
<i>RET skupina</i>	Tumori štitne žlijezde, brojni tumori endokrinih žlijezda
<i>ALK</i>	Ne-Hodgkinov limfom

TABLICA 1.: receptori tirozin kinaze i njihova povezanost s tumorima (LONDON, 2004.)

### 1.3. Klinička slika

Otpriblike 50% kutanih mastocitoma pojavljuje se u području nosa i perineuma, 40% na ekstremitetima, te 10% na glavi i vratu. Također su zabilježene pojave mastocitoma na konjunktivi, u slinskoj žlijezdi, nazofaringsu, grkljanu, usnoj šupljini te metastatske promjene na limfnim čvorovima, slezeni i jetri. Tumori mastocitnih stanica su tumori koji se nalaze u dermisu i subkutisu te su uglavnom pojedinačne lezije, a u 11% do 14% pasa se pojavljuje više lezija. Postoje zabilježeni slučajevi gdje je primarni tumor bio u probavnom sustavu, ti psi su povraćali, imali proljev i melenu (LONDON i THAMM, 2013.). Ovi tumori imaju širok oblik pojavnosti. Mogu biti meke ili tvrde, male ili velike tvorbe koje mogu fluktuirati. Mogu biti prekrivene dlakom ili bezdlačne te se mogu pojavljivati kao pojedinačne ili multiple tvorbe koje mogu biti difuzno na koži ili u potkožju. Kod pasa uglavnom nalazimo pojedinačne tvorbe koje pri palpaciji nisu bolne. Simptomatski se mastocitomi mogu očitovati kao lokalno oteknuće (edem) koji se pojavljuje i nestaje, svrbež, crvenilo, ulceracije i podljevi. Također se mogu pojaviti i sistemski znakovi kao što su simptomi želučano-crijevnog ulkusa, povraćanje, melena, hipotenzija i poremećaji u zgrušavanju krvi (ROGERS, 2010.). Klinička slika mastocitoma se može komplicirati ukoliko dođe do degranulacije mastocita odnosno otpuštanja histamina, heparina i drugih vazoaktivnih amina. Stoga je važno da se pri kliničkom pregledu tumora s njime ne manipulira grubo jer degranulacija može dovesti do lokalnog edema i crvenila okolnog tkiva. Ovaj fenomen se naziva „Darierovi znakovi“. U nekim slučajevima može doći do razvoja po život ugrožavajućih stanja kao što su hipotenzija i poremećaji u sustavu zgrušavanja (LONDON i THAMM, 2013.). Agresivni mastocitomi očituju se kliničkim znakovima brzog rasta, lokalne iritacije tkiva i upale, lokalnom infiltracijom i slabom demarkacijom od okolnog tkiva, ulkusima, satelitskim čvorićima i paraneoplastičnim sindromom. U rijetkim slučajevima, pri nagloj i obilnoj degranulaciji mastocita iz mastocitoma može doći do razvoja anafilaktične reakcije i kolapsa (BLACKWOOD i sur., 2012.).

#### 1.4. Paraneoplastični sindrom

Paraneoplastični sindrom je raznolika skupina simptoma koja nije povezana s direktnim invazivnim rastom tumora i često je prvi znak tumora. Paraneoplastični sindrom razvija se kao posljedica produkcije molekula (npr. hormona, citokina, peptida) koje cirkulacijom dolaze do udaljenih mjesta u organizmu gdje ispoljavaju svoje učinke ili uzrokuju reakciju imunskog sustava. Paraneoplastični sindrom podijeljen je na osnovu simptomatologije u nekoliko skupina: gastrointestinalni, endokrini, hematološki, kutani, renalni, neurološki simptomi, te simptomi vrućice i hipertrofične osteopatije. (BERGMAN, 2013.)

Paraneoplastični sindrom u pasa s mastocitomom najčešće je uzrokovan degranulacijom mastocita pri čemu dolazi do oslobađanja histamina, heparina i proteaza. Lokalno, oni uzrokuju edem, ulceracije, otečenja i poremećaje zgrušavanja u okolini tumora. Najčešći sistemski paraneoplastični simptom kod pasa s mastocitomom vezan je uz probavni sustav zbog otpuštanja histamina koji stimulira histaminske receptore (H<sub>2</sub> receptore) u želucu. Posljedica aktivacije H<sub>2</sub> receptora je pojačana sekrecija želučane kiseline i hipermotilitet želuca. Uz ulkuse želuca i povraćanje, dolazi i do krvarenja u probavnom sustavu, anoreksije i abdominalne boli. Ulkusi mogu perforirati stijenku želuca pri čemu može doći do razvoja peritonitisa i mikrocitne anemije uzrokovane deficitom željeza. U rijetkim slučajevima, pri nagloj i obilnoj degranulaciji mastocita iz mastocitoma može doći do razvoja anafilaktične reakcije i kolapsa (BLACKWOOD i sur., 2012.).

## 2. Dijagnostika

### 2.1. Citološka pretraga

Inicijalna metoda dijagnostike tumora mastocitnih stanica je punkcija tankom iglom (eng. *fine-needle aspiration cytology*, FNA) (LONDON i THAMM, 2013.). FNA je jednostavna metoda pri kojoj se uzimaju uzorci tkiva ili stanica iz tumorske mase iglom te se nakon toga oboje izabranom metodom bojenja, odnosno izrađuje se citološki preparat. Pri izvođenju ove metode primjena lokalnih anestetika rijetko je potrebna, iako sama metoda može izazvati nelagodu kod pacijenata. Sama metoda se izvodi tako što se mjesto na kojem se uzima uzorak antiseptički obradi, masa čvrsto fiksira i zatim se iglom ubada direktno u masu. Nakon uvođenja igle u masu lagano ubadajući i mijenjajući smjer uboda dobiva se uzorak. Dobiven uzorak stavlja se na predmetnicu, suši, boji i zatim mikroskopira. (LEVER i sur., 1985.). Najčešće se koristi Romanowsky bojenje ili jedno od brzih bojenja za izradu hematoloških preparata. Mastociti su ovalne ili okrugle stanice, promjera 20 do 30  $\mu\text{m}$ . Njihova citoplazma je ispunjena brojnim bazofilnim zrcima (granulama). Jezgra je malena i okrugla, smještena centralno ili periferno te je često prekrivena citoplazmatskim zrcima. Citoplazmatska zrnca su promjera od 0,3 do 2,0  $\mu\text{m}$ , nejednolikog izgleda te imaju svojstvo metakromazije. Metakromazija je svojstvo tvari da se oboji različito od svoje osnovne boje (JUNQUEIRA i CARNEIRO, 2003.). Mali dio mastocitoma sadrži stanice koje ne pokazuju svojstvo vezanja boje. To su obično epitelne stanice i makrofagi, pa je u tim slučajevima potrebno napraviti novo bojenje kako bi se utvrdilo postojanje granula. Uobičajeni izbor u takvim slučajevima je bojenje po Wright-Giemsu i toluidinsko modrilo. Konačnu dijagnozu u slučaju kada su stanice negranulirane i u visokom stupnju anaplazije je teško postaviti promatranjem pod svjetlosnim mikroskopom. U tim slučajevima potrebno je izvršiti imunohistokemijske metode bojenja kako bi se razlučile stanice u visokom stupnju anaplazije (LONDON i THAMM, 2013.). FNA metoda u 92% do 96% slučajeva daje dijagnozu mastocitoma, ali ne i uvid u stupanj malignosti (lat. *gradus*, eng. *grade*). Za određivanje stupnja malignosti potrebno je izvršiti biopsiju i izraditi patohistološki preparat.

## 2.2. Biopsija i patohistološka pretraga

Koriste se dvije metode biopsije, incizijska i ekscizijska biopsija. Incizijska biopsija je metoda kojom se uzima uzorak tkiva bez da se cijela masa tumora ukloni. Ova metoda omogućuje potvrdu dijagnoze i određivanje stupnja malignosti te daljnje planiranje operacijskog zahvata, ukoliko je masa na teško dostupnom mjestu. Pri izvođenju ove metode treba izbjegavati upaljena i nekrotična područja kako bi preparat bio što reprezentativniji. Ekscizijska biopsija je metoda koja se izvodi kada je tumorska masa na dostupnom mjestu te ju je moguće ukloniti bez većih poteškoća. Važno je da se pri izradi ove metode dobro planira unaprijed te da se odrede dovoljno široke margine jer je prvi operativni zahvat najbolja šansa izlječenja. Nakon ekscizije potrebno je uzorak poslati na patohistološku obradu pri čemu je također važno odrediti stupanj malignosti tumora (BLACKWOOD i sur., 2012.).

Patohistološka pretraga daje pouzdanije rezultate od citološke pretrage stoga ju je potrebno izvesti ukoliko je citološka pretraga dvojbeni ili kada citološki nalaz potvrdi da se radi o tumorskom procesu (KUČER, 2014.). Uvriježen sustav pri određivanju stupnja malignosti kožnih tumora je „Patnaik sustav“ prema kojem su mastocitomi svrstani u tri stupnja malignosti (lat. *gradus*):

- *Gradus I* – dobro diferencirani tumori
- *Gradus II* – umjereno diferencirani tumori
- *Gradus III* – slabo diferencirani tumori

Dobro diferencirani tumori (*gradus I*) sadrže monomorfne okrugle stanice s jasno vidljivom citoplazmom, dobro izraženim citoplazmatskim granulama srednje veličine i bez vidljivih mitotskih diobi. Neoplastične stanice se nalaze u grupama ili redovima u dermisu. Kod umjereno diferenciranih tumora (*gradus II*) vidljive su pleomorfne stanice okruglog ili ovalnog oblika, neke stanice imaju slabije izraženu citoplazmu s velikim i hiperkromatskim citoplazmatskim granulama, dok neke imaju jasno vidljivu citoplazmu s dobro izraženim granulama. Prisutna su područja edema i nekroza. Vidljivo je od 0 do 2 mitotske diobe po jednom HPF-u (eng. *high-power field*). To su tumori koji infiltriraju dublji sloj dermisa ili subkutis. Kod slabo diferenciranih tumora (*gradus III*) vidljivi su gusti slojevi pleomorfne stanice s nejasno vidljivom citoplazmom i nejasno vidljivim granicama između citoplazmatskih granula. Prisutna su područja edema, nekroze, krvarenja i ulceracija. Vidljivo je od 3 do 6 mitotskih diobi u jednom HPF-u. To su također tumori koji infiltriraju dublji sloj dermisa ili subkutis (BLACKWOOD, 2013.).



Većina tumora prvog stupnja malignosti (*gradus I*) su benigni, razvijaju se sporo i mogu biti prisutni godinama bez primjetnog povećanja, a manje od 10% mastocitoma svrstanih u ovaj stupanj malignosti metastazira. Mastocitomi svrstani u drugi stupanj malignosti (*gradus II*) uglavnom bivaju lokalno odstranjeni, a 5% do 22% mastocitoma tog stupnja malignosti metastazira. Mastocitomi svrstani u treći stupanj malignosti (*gradus III*) pokazuju znakove agresivnog rasta i imaju tendenciju recidiviranja nakon njihovog odstranjivanja. Mastocitomi trećeg stupnja malignosti metastaziraju i u 80% slučajeva imaju smrtni ishod. Trenutno je široko prihvaćen patohistološki sustav određivanja stupnja malignosti mastocitoma metodom prema Patnaiku iako je vjerojatno da će s vremenom većina patohistologa određivati stupanj malignosti metodom prema Kiupelu jer se smatra da je ta metoda objektivnija od metode prema Patnaiku (BLACKWOOD i sur., 2012.). Metoda prema Kiupelu je metoda prema kojoj se mastocitomi svrstavaju u dva stupnja, mastocitome niskog i visokog stupnja malignosti. To je metoda koja se zasniva na pregledu tkiva mikroskopom gdje se u deset polja pregledanih pod najvećim povećanjem mikroskopa (HPF) promatraju promjene na stanicama. Da bi se postavila dijagnoza mastocitoma visokog stupnja malignosti potrebno je pronaći barem jedno od slijedećeg:

- sedam mitotskih diobi u deset HPF-ova
- tri multinuklearne stanice (stanice s tri ili više jezgre) u deset HPF-ova
- tri stanice s bizarnom promjenom na jezgri u deset HPF-ova
- kariomegaliju

Ukoliko nije pronađen barem jedan parametar od gore navedenih smatra se da je mastocitom niskog stupnja malignosti (KIUPEL i sur., 2010.).

### 2.3. Stadij proširenosti (TNM klasifikacija)

Nakon postavljanja dijagnoze mastocitoma važno je odrediti stadij odnosno proširenost pomoću TNM (T - veličina i proširenost tumora, N - zahvaćenost limfnog čvora, M - prisutnost udaljenih metastaza) klasifikacije (TABLICA 2.). Određivanje stadija potrebno je napraviti kod svakog pacijenta kod kojeg je u planu daljnje liječenje (radioterapijom i/ili kemoterapijom) i kod svakog pacijenta čiji je tumor, nakon patohistološkog određivanja stupnja malignosti, pokazao slabu diferencijaciju (*gradus II, III*, odnosno visok stupanj malignosti). Pri određivanju stadija potrebno je izvršiti FNA pretragu limfnih čvorova koji

vrše limfnu drenažu iz područja zahvaćenog tumorom, ultrazvučnu pretragu abdomena te dostupne hematološke i biokemijske laboratorijske pretrage. Kod pacijenata kod kojih su utvrđene metastatske promjene na jednom ili više limfnih čvorova preporučeno je uz ultrazvučnu pretragu abdomena učiniti i punkciju koštane srži te rentgensku pretragu pluća. Također je preporučeno napraviti i FNA punkciju i citološku pretragu punktata slezene i jetre bez obzira na njihova ultrazvučna svojstva (BLACKWOOD i sur., 2012.).

STADIJ	OPIS STADIJA
0	Jedan tumor, nepotpuno odstranjen iz dermisa, nisu zahvaćeni regionalni limfni čvorovi 1. Bez sistemskih znakova 2. Sa sistemskim znakovima
I	Jedan tumor ograničen u dermisu, nisu zahvaćeni regionalni limfni čvorovi 1. Bez sistemskih znakova 2. Sa sistemskim znakovima
II	Jedan tumor ograničen u dermisu, zahvaćeni regionalni limfni čvorovi 1. Bez sistemskih znakova 2. Sa sistemskim znakovima
III	Više tumora u dermisu; veliki, infiltrativni tumori sa ili bez zahvaćenih regionalnih limfnih čvorova 1. Bez sistemskih znakova 2. Sa sistemskim znakovima
IV	Svaki tumor s distalnim metastazama ili ponovno pojavljivanje tumora i metastaza

TABLICA 2: TNM klasifikacija mastocitoma, World Health Organization (WHO)

(LONDON i THAMM, 2013.)

### 3. Liječenje

#### 3.1. Kirurško liječenje

Kirurgija, kao grana, ima veliku važnost u postavljanju kvalitetne dijagnoze kao i u liječenju pacijenata koji boluju od kutanih tumora. Uzimanje reprezentativnog uzorka za patohistološku obradu važan je korak u dijagnostici svih tumora pa tako i mastocitoma. Ispravno postavljena dijagnoza citologa nakon uzimanja uzorka FNA metodom, važan je korak u planiranju operativnog zahvata jer je najveća šansa za izlječenje u vrijeme prvog operacijskog zahvata. Dopunske metode kliničkog pregleda kao što su magnetna rezonanca (MR), kompjuterska tomografija (CT), ultrazvučna pretraga, rentgenska pretraga te rutinske laboratorijske pretrage krvi dodatno pomažu u planiranju i izvođenju kirurškog zahvata (MATIČIĆ, 2009.). Kirurško odstranjivanje tumorske mase najbolji je izbor terapije u slučaju da je mastocitom lokaliziran i da nije metastazirao. Važno je da se tokom kirurškog zahvata ne manipulira grubo tumorskom masom jer može doći do degranulacije mastocita koji mogu uzrokovati burnu lokalnu i/ili sistemska reakciju. Iz tog razloga preporuča se perioperativna upotreba lijekova koji blokiraju H1 i H2 receptore. Novije studije su pokazale da je, ukoliko se radi o mastocitomu prvog (*gradus I*) ili drugog (*gradus II*) stupnja malignosti (metoda prema Patnaiku), potrebno napraviti eksciziju s pripadajućim lateralnim marginama tumora od 2 cm te jedan sloj fascije u dubinu. Takva ekscizija se ne preporuča kod tumora čiji je promjer veći od 4 cm i tumora višeg stupnja malignosti (*gradus III*) jer se smatra da su lokalno invazivni. Kod mastocitoma trećeg stupnja malignosti (*gradus III*) preporuča se ekscizija s lateralnom marginom od minimalno 3 cm i jedan sloj fascije u dubinu. Smatra se da mastocitomi trećeg stupnja malignosti imaju veći rizik od pojave lokalnog recidiva i metastaza te se preporuča upotreba multimodalne terapije (radioterapija i/ili kemoterapija). Kod tumora koji su smješteni na teško dostupnim mjestima, gdje nije moguće izvesti adekvatnu eksciziju preporuča se predoperacijska (neoadjuvantna) primjena kemoterapije ili prednizolona kako bi se tumorska masa učinila lakše dostupnom pri kirurškom zahvatu. Kada nije moguće učiniti potpunu eksciziju preporuča se marginalna ili citoreduktivna resekcija uz postoperacijsku radioterapiju. Mastocitomi visokog stupnja malignosti povezani su s kraćim vremenom metastaziranja te su prognostički nepovoljniji, kao i u slučaju kada je zahvaćen barem jedan od limfnih čvorova. Kod pasa s multiplim mastocitomima potrebno je napraviti eksciziju svih dostupnih tumorskih masa, a prognoza u takvim slučajevima nije znatno lošija od slučajeva gdje su tumori bili pojedinačni (BLACKWOOD i sur., 2012.).

Veliku važnost u planiranju daljnjih kliničkih postupaka ima postoperativno patohistološko određivanje kirurških margina tumora. Određivanje margina tumora se može podijeliti u nekoliko stupnjeva:

- potpuna resekcija gdje tumorske stanice nisu prisutne unutar 1 mm kirurške margine
- potpuna rubna resekcija gdje su tumorske stanice prisutne unutar 1 mm kirurške margine
- nepotpuna resekcija gdje su tumorske stanice na kirurškoj margini

Nakupine mastocita na rubu mjesta ekscizije znak su višeg stupnja malignosti mastocitoma te takve patohistološke margine treba proglasiti nepotpunom resekcijom iako to može biti znak fiziološkog kretanja mastocita uslijed procesa kemotaksije. U mnogo slučajeva, mastocitomi drugog stupnja malignosti (*gradus* II) s nepotpunim resekcijskim kirurškim marginama se ne pojavljuju ponovno, što ukazuje na pojavu ne-neoplastičnih mastocita na margini i time se potvrđuje fiziološko kretanje mastocita uslijed procesa kemotaksije te se preporuča monitoring tih pacijenata. U 5% do 23% slučajeva, gdje je patohistološka pretraga potvrdila potpunu resekciju dolazi do ponovne pojave mastocitoma. U mastocitoma prvog (*gradus* I) i drugog (*gradus* II) stupnja malignosti s potpunom resekcijskom marginom nije potrebno uvođenje postoperativne radioterapije i/ili kemoterapije, dok kod istih stupnjeva malignosti s utvrđenim paraneoplastičnim sindromom preporuča se uvođenje radioterapije i/ili kemoterapije. U slučaju nepotpune resekcijske margine u mastocitoma prvog (*gradus* I) i drugog (*gradus* II) stupnja malignosti, gdje dolazi do nepotpunog zaraštanja kirurške rane preporuča se ekscizija ožiljka s marginama od 2 cm i uvođenje radioterapijskog protokola. U tim slučajevima 2/3 mastocitoma drugog stupnja malignosti lokalno recidivira (BLACKWOOD i sur., 2012.). Lokalni recidiv neće se javiti u svim slučajevima nepotpune resekcije. Studije su pokazale da 20% do 30% mastocitoma s nepotpunim resekcijskim marginama lokalno recidivira (LONDON i THAMM, 2013.).

U jednom istraživanju 29% (15/51) mastocitoma niskog stupnja malignosti imalo je margine od 3 mm ili manje, a 4% se ponovno javilo kao lokalni recidiv. Isti autori ističu kako je u 36% slučajeva došlo do lokalnog recidiva bez obzira na učinjenu potpunu resekciju i histološki „čiste“ margine (DONNELLY i sur., 2013.).

Kod pasa kod kojih je došlo do metastaziranja u jedan od limfnih čvorova preporuča se multimodalni pristup, te uz kirurški zahvat uvođenje i u radioterapijske i kemoterapijske protokole. Radioterapija se može koristiti u liječenju lokalnih metastaza regionalnih limfnih čvorova, ali ju nije preporučeno koristiti kao jedinstvenu vrstu terapije jer može uzrokovati degranulaciju mastocita. Često se koristi kao postoperativna vrsta terapije gdje je učinjena nepotpuna resekcija tumora. Veliki tumori često sadrže tumorske stanice i područja koja su otporna na zračenje zbog mikro uvjeta u središtu tumorske mase kao što je hipoksija. Hipoksija nastaje uslijed brzog, progresivnog rasta tumora i nemogućnosti dovoljno brze angiogeneze, a posljedica toga su rasijane i/ili centralne nekroze u tumoru. Važno je planirati unaprijed radioterapiju kako bi kirurški onkolog adekvatno označio i dokumentirao margine tumora i točno mjesto ozračivanja. Za to se preporuča korištenje fotografija, skica i mjerenje dimenzija kako bi se što točnije dokumentiralo mjesto tumora i širina margina. Preporuča se korištenje kirurških metalnih kopči (eng. *metal surgical clips*) na kirurškim marginama kako bi radiograf što bolje zabilježio lokaciju ozračivanja. Njihova upotreba je od velike koristi pri ozračivanju lokacija na nosu, trbušnoj stijenci i proksimalnim dijelovima udova. Sve učestalije metode korištenja kirurških flapova i graftova u kirurškoj onkologiji mogu odgoditi početak radioterapije zbog sporijeg cijeljenja rane. Prognoza kod pasa liječenih kirurškim odstranjivanjem mase u kombinaciji s radioterapijom je dobra. Postoperativna radioterapija u pasa sa srednjim (drugi stupanj malignosti po Patnaiku) stupnjem mastocitoma pokazala je remisiju bolesti u trajanju od jedne do dvije godine u 81% do 95% slučajeva. U pasa s mastocitomom prvog i drugog stupnja malignosti sa zahvaćenim regionalnim limfnim čvorom, kirurška terapija i radioterapija pokazala je razdoblje remisije od 40 mjeseci. Smatra se da je potrebno pacijentu dati prednizolonsku terapiju prije, za vrijeme i nekoliko tjedana nakon izvođenja radioterapije kako bi se smanjio utjecaj degranuliranih mastocita. Isto tako potrebno je uvesti i H1 blokatore (klorfenamin) i H2 blokatore (cimetidin, ranitidin, famotidin) kako bi se smanjio sistemski utjecaj degranuliranih mastocita (BLACKWOOD i sur., 2012.).

### 3.2. Kemoterapijsko liječenje

Kemoterapija u pasa s mastocitomima se može koristiti na tri načina:

1. kad je potrebno liječiti, odgoditi ili prevenirati širenje metastaza u tumora visokog stupnja malignosti - palijativna kemoterapija
2. kao predoperativnu terapiju da bi se smanjila tumorska masa kako bi se postigla mogućnost cjelovite ekscizije tumorske mase - neoadjuvantna kemoterapija
3. kao postoperativna terapija kada je patohistološka pretraga pokazala da je učinjena nepotpuna resekcija (tumorske stanice na kirurškoj margini) - adjuvantna kemoterapija

MILLER i suradnici (2014.) u svojoj retrospektivnoj studiji na uzorku od 94 pacijenta navode kako je u pacijenata koji su imali prisutnu metastatsku bolest, kirurška resekcija primarnog tumora s adjuvantnom kemoterapijom značajno produžila srednje vrijeme preživljavanja (eng. *median survival time*, MST: 278 dana) u usporedbi s pacijentima kod kojih nije učinjena resekcija primarnog tumora (MST: 91 dan).

Kemoterapija se najčešće koristi kod pacijenata kod kojih su utvrđeni mastocitomi visokog stupnja malignosti odnosno kod mastocitoma koji imaju visok rizik od metastaziranja. Kemoterapija se često koristi u slučajevima kada je potrebno odgoditi ili zaustaviti metastatsko širenje te usporiti progresivno širenje metastaza u slučajevima kada su one već prisutne. U studiji na uzorku od 61 psa je dokazano preživljavanje pacijenata, s mastocitomima drugog i trećeg stupnja malignosti, duže od tri godine nakon operativnog zahvata gdje je uklonjena tumorska masa. Svi pacijenti su bili uključeni u kemoterapijske protokole (prednizolon i vinblastin).

Najčešći lijekovi korišteni u kemoterapijskim protokolima su:

- prednizolon
- vinblastin
- lomustin

Prednizolon je sintetski glukokortikoid srednje dugog djelovanja (12 do 36 sati). Glukokortikoidi svoj efekt postižu vežući se za receptore na staničnoj membrani i preko receptora u citoplazmi. Stimuliraju stvaranje lipokortina (protein) koji je odgovoran za inhibiciju aktivnosti enzima fosfolipaze A2 u staničnoj membrani. Time dolazi do prekida oslobađanja metabolita arahidonske kiseline koji nastaju procesom ciklooksigenaze i

lipooksigeneze. Oni također inhibiraju aktivnost i drugih fosfolipaza. Glukokortikoidi očituju mnogobrojne učinke u organizmu. Oni djeluju protuupalno, antialergijsko i imunosupresivno, djeluju na energetske metabolizam, balans vode i elektrolita, hematopoetski i kardiovaskularni sustav te imaju endokrini i dermatološki učinak. U terapiji tumora koriste se jer imaju citotoksični učinak na limfoidne stanice i suprimiraju mitozu (ĆUPIĆ i sur., 2007.).

Vinblastin je alkaloid podrijetlom od biljke lat. *Vinca rosea*. Vinblastin se veže za tubularni protein koji je važna komponenta staničnih mikrotubula, odnosno diobenog vretena i na taj način dovodi do sprječavanja diobe tumorskih stanica (ĆUPIĆ i sur., 2007.). Vinblastin se primjenjuje intravenski. Paravenska aplikacija može dovesti do obilnih oštećenja okolnog tkiva. Nuzučinci vinblastina uključuju: konstipaciju, leukopeniju ili neutropeniju, anemiju, trombocitopeniju, mučninu i/ili povraćanje, umor, smanjen apetit, ulcerozne stomatitise, alopeciju i neurotoksičnost. Neurotoksični učinak vinblastina se očituje kao depresija, utrnulost ekstremiteta, vrtoglavica, glavobolja i epileptoidni napadaji. Može toksično djelovati na kranijalne živce (ANONYMUS<sup>a</sup>, 2013.). Mijelosupresija se uglavnom javlja kod pacijenata koji primaju tjedne doze vinblastina, poglavito na početku liječenja. U slučaju pojave znakova mijelosupresije uputno je odgoditi primjenu slijedeće doze i povećati vremenski interval doza. Prije primjene svake doze važno je izvršiti hematološke laboratorijske pretrage. Ukoliko hematološki nalazi pokazuju neutropeniju ili trombocitopeniju uputno je odgoditi primjenu vinblastina. Toksični učinak vinblastina na probavni sustav je blag (BLACKWOOD i sur., 2012.).

Lomustin ispoljava svoje djelovanje procesom alkilacije. Proces alkilacije dovodi do oštećenja DNK stanice čime dolazi do nemogućnosti diobe, te uzrokuju smrt stanice. Lomustin se primjenjuje peroralno u obliku kapsula. Nuzučinci lomustina uključuju: leukopeniju ili neutropeniju, anemiju, trombocitopeniju, mučninu i/ili povraćanje, smanjeni apetit, ulcerozne stomatitise, plućnu fibrozu i zatajenje bubrega (ANONYMUS<sup>b</sup>, 2011.). Lomustin može biti mijelosupresivan. Prije primjene svake doze potrebno je izvršiti hematološke laboratorijske pretrage i terapiju je potrebno odgoditi ukoliko nalazi pokažu postojanje citopenija. Lomustin je također i hepatotoksičan stoga je važno redovito kontrolirati razinu aktivnosti alanin aminotransferaze (ALT) (BLACKWOOD i sur., 2012.). Prevalencija povišenja aktivnosti alanin aminotransferaze je visoka u pasa liječenih s lomustinom (29%, 32 od 109 pacijenata), a mlađi psi (<5 godina) pokazuju veći rizik od razvoja znatnog povišenja aktivnosti alanin aminotransferaze (HOSOYA i sur., 2009.).

### 3.2.1. Kemoterapijski protokoli

Najčešće korišteni kemoterapijski protokoli su kombinacija vinblastina i prednizolona ili samostana uporaba lomustina. Zastupljeni su i protokoli koji kombiniraju vinblastin, lomustin i prednizolon. Najčešći kemoterapijski protokoli prikazani su u tablici 3. (TABLICA 3). Doze određenih kemoterapijskih lijekova određuju se po površini tijela (eng. *body surface area*, BSA), odnosno u  $\text{mg}/\text{m}^2$  (TABLICA 4.). Razlog toga je što postoje brojne kontroverze vezane uz toksičnost pri doziranju kemoterapijskih lijekova u  $\text{mg}/\text{kg}$ , a u pokušaju da se određivanje doza individualizira razvijena je ljestvica površine tijela u korelaciji s težinom. Iznimka upotrebe ovog koncepta je kod pasa lakših od 15 kg tjelesne težine jer su empirijski dokazi pokazali manju toksičnost pri uporabi sustava doziranja  $\text{mg}/\text{kg}$  tjelesne težine u tih pacijenata (GUSTAFSON i PAGE, 2013.).

Kombinacija vinblastina, ciklofosfamida i prednizolona je također pokazala dobar odgovor pacijenata na kemoterapiju, ali iz razloga što je odgovor na terapiju gotovo jednak protokolima koji uključuju vinblastin, prednizolon i lomustin, ciklofosfamid je isključen iz upotrebe jer je pokazao visoku toksičnost. Prednizolon kao samostalan kemoterapijski lijek u liječenju mastocitoma pokazao se lošim jer je davao slab odgovor pacijenata na kemoterapiju i kraće razdoblje preživljavanja. Studija je rađena na uzorku od 25 pasa, od kojih je 5 reagiralo (djelomično i potpuno) na terapiju prednizolonom. Kod pasa koji su imali djelomičan odgovor (eng. *partial response*, PR) na terapiju, a uginuli su uslijed progresije bolesti, vrijeme preživljavanja je bilo 3, 5 i 6 mjeseci, te 22 mjeseca kod psa koji je u potpunosti reagirao (eng. *complete response*, CR) na terapiju (BLACKWOOD i sur., 2012.).

Djelomičan odgovor (PR) predstavlja smanjenje volumena tumora za više ili jednako od 50%, ili smanjenje tumora u promjeru za više od 30%, dok potpuni odgovor (CR) predstavlja potpuno povlačenje tumora i simptoma bolesti (GUSTAFSON i RODNEY, 2013.).

U istraživanju koje su proveli RASSNICK i suradnici (2008.) o učinkovitosti vinblastina sudjelovao je 51 pas. 25 pasa bilo je liječeno s dozom od  $2,0 \text{ mg}/\text{m}^2$  (skupina VBL 2,0), a 26 pasa s dozom od  $3,5 \text{ mg}/\text{m}^2$  (skupina VBL 3,5). U skupini VBL 2,0 kod tri pacijenta postignut je djelomičan odgovor (PR) pri srednjoj vrijednosti od 77 dana (raspon od 48 do 229 dana). Ukupni odgovor u skupini VBL 3,5 bio je 27%. Jedan pas (4%) imao je potpuni odgovor (CR) nakon 63 dana, a šest pasa (23%) imalo je djelomičan odgovor u trajanju srednje vrijednosti od 28 dana (raspon od 28 do 78 dana). U navedenom istraživanju toksični učinak u skupini VBL 2,0 bio je blag (blagi gastrointestinalni znakovi), dok je blagu



neutropeniju razvilo 22% pasa. U skupini VBL 3,5 neutropeniju je razvilo 84% pasa, dok je njih 12 (46%) razvilo značajnu neutropeniju 7 dana nakon primljene terapije, ali su samo 2 psa zahtijevala hospitalizaciju. Autori zaključuju kako vinblastin, kada se koristi kao samostalni kemoterapijski lijek, ima nižu stopu odgovora od kemoterapijskih protokola koji kombiniraju vinblastin s drugim kemoterapijskim lijekovima.

U studiji na uzorku od 41 psa u razdoblju od 1992. do 1997. godine, THAMM i suradnici (1999.) provode terapiju oralnom primjenom prednizona i intravenskom primjenom vinblastina. Protokol se sastojao od početne doze od 2 mg/kg prednizona dnevno koja se smanjivala u idućih 12 do 26 tjedana. Vinblastin je apliciran intravenskim bolusom u dozi od 2 mg/m<sup>2</sup> svakih 1 do 2 tjedana. 23 psa primila su terapiju ovim protokolom kao adjuvantnu terapiju, dok je 18 pasa imalo neoperabilni tumor. Nuzučinci terapije zabilježeni su u 20% pacijenata (8/41) obično nakon prve doze. U 6 pasa nuzučinci su bili blagi i u 2 (5%) slučaja teški te su zahtijevali obustavu liječenja. Ukupna stopa odgovora u pasa s neoperabilnim tumorom bila je 47% (7/15) od kojih je 5 pasa postiglo potpuni odgovor (CR) dok su 2 postigla djelomični odgovor (PR). Srednja vrijednost trajanja odgovora bila je 154 dana (raspon od 24 do više od 645 dana). Adjuvantnom terapijom kod nepotpunih resekcija, učinak je postignut u 57% slučajeva kao jedna do dvije godine bez prisustva bolesti.

THAMM i suradnici (2006.), u retrospektivnoj studiji o učincima adjuvantnog kemoterapijskog protokola sastavljenog od prednizona i vinblastina u terapiji mastocitoma visokog rizika od metastaziranja, navode kako je srednja vrijednost ukupnog vremena preživljavanja (eng. *overall survival*, OS) kod mastocitoma trećeg stupnja malignosti 1374 dana.

U istraživanju SERRA VARELA i suradnika (2016.) o toleranciji na vinblastin po protokolu vinblastin i prednizon sudjelovalo je 34 pasa. Od ukupno 220 doza apliciranih u tom istraživanju, autori su 4% doza povezali s toksičnim učinkom. Ukupno 70% pasa je toleriralo dozu od 3,0 mg/m<sup>2</sup> svakih 7 dana, iako je 29% pasa razvilo toksičnost koja ograničava dozu (eng. *dose-limiting toxicity*, DLT), a klinički status 8% pasa je zahtijevao prestanak liječenja.

RASSNICK i suradnici 1999. godine objavljuju rad o terapiji lomustinom. Istraživanje je napravljeno na 23 psa. Psi su primili dozu od 90 mg/m<sup>2</sup> lomustina svaka 3 tjedna, a odgovor se mogao ocijeniti u 19 pasa. Mjerljiv odgovor na terapiju imalo je 8 pasa (42%), potpuni odgovor na terapiju (CR) imao je 1 (5%) pas (u trajanju od 440 dana). Djelomičan odgovor (PR) imalo je 7 (37%) pasa sa srednjom vrijednosti trajanja od 77 dana (raspon od 21 do 254

dana), odnosno prosječnim trajanjem od 109 dana. Terapija lomustinom rezultirala je stabilnom bolešću bez progresije tumorskog rasta i metastaza u 6 pasa (32%) u srednjoj vrijednosti trajanja od 78 dana (raspon od 42 do 347 dana) odnosno prosječno 122 dana. Akutna toksičnost koja ograničava dozu (DLT) očitovala se kao neutropenija u 17 pasa.

COOPER i suradnici (2009.) provode studiju na 57 pasa o učinku kemoterapijskog protokola sastavljenog od lomustina i vinblastina. Stopa odgovora bila je 57%, viša nego kada se lomustin koristio kao samostalni kemoterapijski lijek (42%, RASSNICK i sur. 1999.). Potpuni odgovor (CR) imalo je 9 (25%) pasa. Djelomičan odgovor imalo je 37% pasa pri čemu je srednja vrijednost trajanja remisije bila 77 dana odnosno prosječno 122 dana. Nuzučinci su se javili u 44% pasa, a polovica ih je bila blagog karaktera.

KRISTAL i suradnici (2004.) objavljuju podatke od terapiji lomustinom u razdoblju od 1995. do 2001. godine. Terapiju u dozi od 50 do 110 mg/m<sup>2</sup> primilo je 179 pasa. Trajanje terapijskog intervala se razlikovalo, ali nije bilo kraće od 3 tjedna. Nakon terapije 11 pasa (6,1%) je razvilo oštećenje jetre, a u tih pasa srednja vrijednost kumulativne terapijske doze bila je 350 mg/m<sup>2</sup> odnosno 4 doze. Psi koji nisu razvili oštećenje jetre primili su srednju kumulativnu dozu od 230 mg/m<sup>2</sup> odnosno 3 doze. Oštećenje jetre razvilo se 11 tjedana (srednja vrijednost, raspon od 2 do 49 tjedana) nakon zadnje primljene doze lomustina. Najčešća zabilježena promjena u biokemijskim parametrima bila je povišena aktivnost enzima jetre u serumu i hipoalbuminemija. Šest pasa razvilo je ascites, a u tri psa se istovremeno razvio i pleuralni izljev. Iz njihovog istraživanja zaključuje se da lomustin uzrokuje odgođeno, o dozi ovisno, oštećenje jetre koje je ireverzibilne prirode i može biti smrtnog ishoda.

HOSOYA i suradnici (2009.) u svojem istraživanju zabilježili su, da je u pasa koji su razvili znatno povećanje serumske aktivnosti alanin aminotransferaze, srednja kumulativna doza lomustina bila 190 mg/m<sup>2</sup>.

HAY i LARSON u članku iz 2019. godine navode rezultate svojih zapažanja o terapijskom protokolu koji je sastavljen od lomustina i prednizona. U toj retrospektivnoj studiji promatrani su podaci od 15 pasa u razdoblju od 2008. do 2017. godine. Doza lomustina bila je 70 mg/m<sup>2</sup> svaka 4 tjedna i 0,5 do 1 mg/kg dnevno prednizona primijenjena peroralno. Pacijenti su imali mastocitom visokog stupnja malignosti po Kiupelu odnosno drugog ili trećeg stupnja malignosti po Patnaiku. Osam pasa doživjelo je neuspjeh u liječenju; dva zbog razvoja metastaza, dva zbog lokalnog recidiva i četiri zbog razvoja novog mastocitoma.

Ukupno srednje vrijeme preživljavanja iznosilo je 904 dana. 13 od 15 (86,6%) pasa razvilo je toksične nuzučinke, 67% neutropeniju i 60% povišenje aktivnosti alanin aminotransferaze, pri čemu niti jedan pacijent nije zahtijevao hospitalizaciju.

RASSNICK i suradnici 2010. godine objavljuju studiju o provedenom kemoterapijskom liječenju protokolom sastavljenim od lomustina, vinblastina i prednizona. U studiji su sudjelovali psi koji su imali neoperabilne mastocitome i psi koji su primili ovaj kemoterapijski protokol kao adjuvantnu terapiju. Odgovor na terapiju javio se u 65% pasa sa neoperabilnim tumorom, 5 pasa je postiglo potpuni odgovor (CR), a 6 pasa je postiglo djelomičan odgovor (PR). Kod pasa koji su lomustin, vinblastin, prednizon protokol primali kao adjuvantnu terapiju srednje vrijeme preživljavanja bez progresije bolesti (eng. *progression-free survival*, PFS) iznosilo je 489 dana (raspon od 146 do 832 dana). Tešku neutropeniju razvilo je 33% pasa, a u 28% pasa sumnjalo se na lomustin povezanu hepatotoksičnost zbog povišenja aktivnosti alanin aminotransferaze u serumu.

Zbog agresivnog biološkog ponašanja mastocitoma visokog stupnja malignosti i uznapređovalog kliničkog stadija, lokalni kirurški zahvati mogu biti nedovoljni za postavljanje adekvatne lokalne kontrole tumora. Konsenzus o najboljem izboru lijeka za kemoterapijsko liječenje mastocitoma visokog stupnja malignosti, metastatske bolesti ili neoperabilnog tumora još uvijek nije postignut.

<b>Lijekovi</b>	<b>Protokol</b>	<b>Komentar</b>
<b>Vinblastin i prednizolon</b>	<b>Vinblastin</b> 2mg/m <sup>2</sup> IV jednom tjedno u trajanju od 4 tjedna, zatim svaki drugi tjedan u trajanju od 8 tjedana <b>Prednizolon</b> 2 mg/kg PO svaki dan u trajanju od 1 tjedan, zatim 1 mg/kg dnevno u trajanju od 2 tjedna i zatim 1 mg/kg svaki drugi dan	Toksičnost 6% do 20% u obliku mijelosupresije i gastrointestinalne toksičnosti Maksimalno trajanje terapije vinblastinom 6 mjeseci
<b>Lomustin</b>	70 mg/m <sup>2</sup> PO svakih 21 dan u 4 ciklusa	Zabilježena mijelosupresija, gastrointestinalna toksičnost i hepatotoksičnost
<b>Vinblastin i lomustin</b>	<b>Vinblastin</b> 2 mg/m <sup>2</sup> IV 1. tjedan protokola i zatim svakih 4 tjedna <b>Lomustin</b> 60 mg/kg PO 3. tjedan i zatim svakih 4 tjedna	1 lijek svaka 2 tjedna, planirano trajanje protokola 4 do 6 ciklusa, mijelosupresija, toksičnost u 54% slučajeva
<b>Vinblastin, lomustin, prednizolon</b>	<b>Vinblastin</b> 2 mg/m <sup>2</sup> IV 1. tjedan protokola, zatim svakih 4 tjedna <b>Lomustin</b> 70 mg/m <sup>2</sup> PO, 3. tjedan protokola i zatim svakih 4 tjedna <b>Prednizolon</b> 0,5 mg/kg PO svaki dan	Trajanje protokola 6 mjeseci
<b>Vinblastin, lomustin, prednizolon</b>	<b>Lomustin</b> 70 mg/m <sup>2</sup> PO 1. tjedan protokola i zatim svakih 4 tjedna <b>Vinblastin</b> 3,5 mg/m <sup>2</sup> IV 3. tjedan protokola i zatim svakih 4 tjedna <b>Prednizolon</b> 2 mg/kg PO dnevno u trajanju od 2 tjedna, zatim 1 mg/kg dnevno do 24. tjedna protokola, zatim snižavanje doze tijekom 4 tjedna	Trajanje potokola 24 tjedna, zabilježena teška neutropenija u 33% slučajeva i hepatotoksičnost u 28% slučajeva

PO – peroralno, IV – intravenski

TABLICA 3: učestalo korišteni kemoterapijski protokoli (BLACKWOOD i sur., 2012.)

kg	m <sup>2</sup>	kg	m <sup>2</sup>	kg	m <sup>2</sup>	kg	m <sup>2</sup>
3,0	0,210	16,0	0,641	32,0	1,018	58,0	1,519
4,0	0,255	17,0	0,668	34,0	1,060	60,0	1,554
5,0	0,295	18,0	0,694	36,0	1,101	62,0	1,588
6,0	0,333	19,0	0,719	38,0	1,142	64,0	1,622
7,0	0,370	20,0	0,744	40,0	1,181	66,0	1,656
8,0	0,404	21,0	0,769	42,0	1,220	68,0	1,689
9,0	0,437	22,0	0,785	44,0	1,259	70,0	1,722
10,0	0,469	23,0	0,817	46,0	1,297	72,0	1,755
11,0	0,500	24,0	0,840	48,0	1,334	74,0	1,787
12,0	0,529	25,0	0,864	50,0	1,371	76,0	1,819
13,0	0,553	26,0	0,886	52,0	1,412	78,0	1,851
14,0	0,581	28,0	0,931	54,0	1,448	80,0	1,882
15,0	0,608	30,0	0,975	56,0	1,484		

TABLICA 4: korelacija između tjelesne težine i površine tijela (BSA) kod pasa (GUSTAFSON i PAGE, 2013.)

Površina tijela (BSA) može se izračunati i uz pomoć formule:  $m^2 = \frac{10,1 \times \text{tjelesna težina u g}}{10000}$

### 3.3. Inhibitori tirozin kinaze

Razvojem onkologije, u vidu boljeg poznavanja patogeneze odnosno rasta i razvoja tumora, na tržištu se pojavila nova skupina lijekova. Ti lijekovi djeluju na receptor tirozin kinazu (RTK). To su receptori koji se nalaze na površini stanice, a njihovom aktivacijom dolazi do proliferacije i diferencijacije stanica. Dokazana je njihova disfunkcija u mnogih tumorima, a oni su zaduženi za angiogenezu i metastaziranje tumora. Tumori ne mogu rasti više od nekoliko milimetara bez opskrbe krvlju. Stimulacijom receptora tirozin kinaze na površini stanica, dolazi do aktivacije endotelnih prekursora koji su zaduženi za angiogenezu. Ti receptori spajaju faktore rasta, a aktiviraju se uz pomoć ekstracelularnih liganda. Kao rezultat aktivacije receptora, aktivira se i signalizirajući put unutar stanice. To dovodi do ekspresije gena koji su odgovorni za proliferaciju, preživljavanje i diferencijaciju stanice, što dovodi do rasta tumora i njegove angiogeneze. Aktivacija signalizirajućeg puta stanice ovisi o energiji (fosforilaciji) odnosno ATP-u, a ATP je „meta“ inhibitornih lijekova. RTK su disregulirani kod mnogih tumora, a njihova disregulacija je posljedica prekomjerne ekspresije, mutacije, kromosomskih translokacija ili autokrine signalizacije. U tim slučajevima faktori rasta nisu potrebni i moguća je neograničena proliferacija. Jedan od receptora tirozin kinaze naziva se KIT. On je povezan s genskim kodom c-kit, a njegova mutacija je dokazana u 30% pasa s mastocitomom visokog stupnja malignosti. Inhibicijom RTK dolazi do blokade energetskog puta što ima za posljedicu smanjenje proliferacije, migracije, apoptoze i angiogeneze tumora.

Razvijene su specifične male molekule (inhibitori tirozin kinaze, TKI) koje su kompetitivni inhibitori RTK, a njihova meta je KIT receptor.

- Toceranib fosfat (Palladia®, Pfizer Animal Health)
- Masitinib (Masivet®, AB Science)

Toceranib fosfat je odobren za rekurentne mastocitome koji nisu kirurški obradivi, a visokog su stupnja malignosti. Masitinib je odobren za mastocitome visokog stupnja malignosti koji nisu kirurški obradivi, a kod kojih je dokazana mutacija c-kit gena što je potrebno prethodno potvrditi. Ovi lijekovi se primjenjuju peroralno, a pacijente koji ih primaju potrebno je motriti kao i pri uporabi drugih citostatika. Najčešće zabilježeni nuzučinci toceraniba su probavni poremećaji (proljevanje, povraćanje, anoreksija, letargija i gubitak težine), a masitiniba proljev, povraćanje, edem, neutropenija, poremećaji rada bubrega praćeni gubitkom proteina i hemolitička anemija (BLACKWOOD i sur., 2012.).

### 3.3.1. Toceranib fosfat (Palladia ®)

Toceranib je molekula koja djeluje kao inhibitor više kinaza. Ima antitumorski i antiangiogenetski učinak. Toceranib inhibira aktivnost VEGFR2 (eng. *vascular endothelial growth factor 2*), PDGFR (eng. *platelet-derived growth factor receptors*) i KIT receptor. Toceranib djeluje antiproliferativno na endotel i potiče apoptozu tumora.

Palladia® je indicirana za neoperabilne mastocitome drugog i trećeg stupnja malignosti (po Patnaiku), lokalne recidive i kutane mastocitome u pasa, a primjenjuje se peroralno. Na tržištu se nalazi u obliku tableta. Početna preporučena doza je 3,25 mg/kg svaki drugi dan, a u slučaju nuzučnika doza se može reducirati na 2,75 mg/kg odnosno 2,25 mg/kg (ANONYMUS<sup>c</sup>, 2015.)

LONDON i suradnici 2009. godine provode dvostruko, slijepo, nasumično, placebo kontrolirano istraživanje o učinkovitosti toceraniba. U istraživanju navode kako je ukupna stopa odgovora (eng. *overall response rate*, ORR) na toceranib 42,8% odnosno, 21 pacijent s potpunim odgovorom (CR) i 41 pacijent s djelomičnim odgovorom (PR). Srednja vrijednost trajanja objektivnog odgovora bila je 12 tjedana, a srednje vrijeme do progresije tumora (eng.

*time to tumor progression*, TTP) bilo je 18,1 tjedana. Također navode kako je veća vjerojatnost objektivnog odgovora na terapiju u pasa koji imaju c-kit pozitivne tumore.

WEISHAAR i suradnici 2018. godine objavljuju studiju u kojoj je sudjelovalo 60 pasa liječenih toceranibom (od veljače 2011. do svibnja 2015.). Četrdeset i sedam pasa imalo je mastocitom drugog stupnja malignosti, deset trećeg stupnja malignosti, a kod tri psa stupanj malignosti nije bio poznat. Petnaest pasa je prethodno bilo operirano, a sedam pasa je prethodno primalo steroidne lijekove. Svi psi primili su dozu od 2,75 mg/kg toceraniba svaki drugi dan, 1 mg/kg prednizona peroralno svaki drugi dan, difenhidramina 2 – 4 mg/kg peroralno, 2 puta dnevno i omeprazola 0,7 mg/kg, peroralno svaka 24 sata. Protokol se provodio do progresije bolesti odnosno do razvoja neprihvatljivih nuzučnika. Srednja vrijednost primijenjene doze toceraniba u ovom istraživanju bila je 2,61 mg/kg (raspon od 1,61 mg/kg do 3,02 mg/kg). Ukupna stopa odgovora iznosila je 46%. Potpuni odgovor (CR) bio je prisutan u 10 pasa, djelomični (PR) u 28 pasa. Stabilnu bolest (eng. *stable disease*, SD) imalo je 20 pasa, a kod 2 psa došlo je do progresije bolesti (eng. *progressive disease*, PD). Nuzučinci zabilježeni su u 56 od 60 (93%) pacijenata. 10,4% ukupnih nuzučnika činili su nuzučinci vezani za krvnu sliku (anemija, neutropenija), 38,3% bili su nuzučinci vezani uz probavni sustav (proljevi, povraćanje, anoreksija), 19% nuzučnika bilo je vezano uz biokemijski profil (ALP, ALT, AST). Srednje vrijeme preživljavanja bilo je 159 dana (raspon od 20 do 990 dana).

Stabilna bolest (SD) definira se kao tumor koji se nije niti smanjio niti povećao u volumenu ili promjeru, te izostanak drugih simptoma bolesti. Progresivna bolest (PD) definira se kao povećanje volumena tumora za više od 25% ili povećanje u maksimalnom promjeru tumora za više od 20% ili pojava novih lezija.

### 3.3.2. Masitinib (Masivet®)

Meta masitiniba su receptori tirozin kinaze (RTK), *platelet-derived growth factor receptors* (PDGFR  $\alpha$  i  $\beta$ ) i citoplazmatske kinaze Lyn, Fyn i Lck. Masitinib inhibira fosforilaciju mutiranih KIT receptora i KIT posredovanu proliferaciju tumorskih mastocita. Ima antiproliferativno i proapoptotičko djelovanje na tumorske stanice putem inhibicije KIT signalizacije. Masitinib također inhibira fosforilaciju PDGFR (eng. *platelet-derived growth factor receptors*) i o njemu ovisnu proliferaciju stanica. Ima antimetastatski potencijal, inhibira degranulaciju mastocitoma, modulira upalni i imuni odgovor.

Masivet® je indiciran za terapiju neoperabilnih mastocitoma koji sadrže c-kit mutaciju, lijek se primjenjuje peroralno, a na tržištu se nalazi u obliku tableta. Preporučena doza je 12,5 mg po kg tjelesne težine jednom dnevno (ANONYMUS<sup>d</sup>, 2009.).

HAHN i suradnici (2008.) provode studiju o učinkovitosti masitiniba na uzorku od 202 psa. Svim psima postavljena je dijagnoza mastocitoma drugog ili trećeg stupnja malignosti koji su bili neoperabilni ili je došlo do lokalnog recidiva bez prisutnih metastaza u limfnim čvorovima ili visceralnim organima. U studiji su sudjelovale dvije skupine pasa, 161 pas nasumično je izabran za terapiju Masivetom®, a 41 pas smješten je u kontrolnu skupinu (placebo). Tih 161 pacijenata primilo je terapiju od 12,5 mg/kg/dan peroralno tijekom 6 mjeseci ili do progresije bolesti. Masitinib je produžio srednje vrijeme do progresije bolesti (eng. *time to tumor progression*, TTP) na 118 dana, u usporedbi na placebo skupinu u kojoj je srednje vrijeme do progresije bolesti (TTP) iznosilo 75 dana. Učinak masitiniba se u ovom istraživanju pokazao bolji ukoliko je masitinib bio prva linija liječenja (*first line therapy*), a srednje vrijeme do progresije bolesti (TTP) je u tom slučaju iznosilo 253 dana. U istraživanju je zabilježena neutropenija, te proljev i povraćanje kao najčešći nuzučini.

HAHN i suradnici 2010. godine procjenjuju učinkovitost terapije masitinibom u neoperabilnih mastocitoma drugog i trećeg stupnja malignosti. U istraživanju navode da je 59 od 95 (62,1%) pasa bilo živo 12 mjeseci nakon početka terapije, odnosno 33 od 83 (39,8%) 24 mjeseca nakon početka terapije. Srednja ukupna vrijednost preživljavanja iznosila je 617 dana.



SMRKOVSKI i suradnici (2013.) u svojoj studiji navode kako je stopa odgovora na terapiju u pasa koji su primali masitinib kao prvi izbor terapije (*first line therapy*) bila 57%, dok je kod pasa koji su masitinib primili nakon neuspješnog prvog kemoterapijskog protokola odnosno kao „*rescue*“ protokol, stopa odgovora bila 25%. Također navode kako je u njihovoj studiji odgovor na masitinib bio značajno povezan s produženim ukupnim vremenom preživljavanja.

MILLER i suradnici (2014.) u retrospektivnoj studiji navode kako je srednje vrijeme preživljavanja (eng. *median survival time*, MST) kod pacijenata liječenih masitinibom s kirurški odstranjenim mastocitomom drugog stupnja malignosti po Patnaiku i visokim Ki-67 bez prisustva metastatske bolesti 369 dana. U istom istraživanju usporedili su pacijente s kirurški odstranjenim mastocitomom drugog stupnja malignosti po Patnaiku i visokim Ki-67 bez prisustva metastatske bolesti koji su bili liječeni vinblastinom i prednizolonom, a kod njih je srednje vrijeme preživljavanja bilo 1946 dana.

GRANT, NORTH i LANORE 2016. godine objavljuju retrospektivnu studiju o 39 pasa koji su imali makroskopsku bolest. Trideset i dva psa imala su odgovor na terapiju (82,1%) pri čemu je potpuni odgovor (CR) postignut kod 15 (38,5%) pasa i djelomičan odgovor (PR) kod 17 (43,6%) pasa. Srednje vrijeme do progresije bolesti (TTP) bilo je 79 dana (raspon od 14 do 667 dana). Nuzučinci zabilježeni su u 25 pasa (64,1%), pri čemu je najčešće zabilježeno povišenje aktivnosti serumske alanin aminotrasferaze (9 pasa, 23,1%) i povraćanje (6 pasa, 15,4%). Srednje vrijeme preživljavanja (MST) od početka terapije masitinibom bilo je 159 dana (raspon 14 do 1339 dana).

### 3.4. Kombinirani protokoli citostatika i inhibitora tirozin kinaze

Terapijske opcije koje se spominju u literaturi različite su i variraju od kirurške resekcije, radijacijske terapije, različitih kemoterapijskih protokola. Zbog različitih opcija kemoterapijskog liječenja spomenutih u literaturi postoje brojne kontroverze u primjeni određenih lijekova kao zlatnog standarda u liječenju mastocitoma (OLSEN i sur., 2018.).

BURTON i suradnici (2015.) provode liječenje mastocitoma kombiniranim kemoterapijskim protokolom toceraniba i lomustina. U studiji je sudjelovao 41 pacijent. Protokol se sastojao

od 2,75 mg/kg peroralno apliciranog toceraniba 1., 3. i 5. dan tjedna u ciklusu od 21 dan, te 50 mg/m<sup>2</sup> lomustina peroralno 3. dan ciklusa od 21 dan. Pacijenti su tri dana prije početka terapije toceranibom i lomustinom počeli primati difenhidramin u dozi 2 do 4 mg/kg peroralno svakih 12 sati, omeprazol 0,7 mg/kg peroralno svakih 24 sata i 1 mg/kg prednizona peroralno svakih 48 sati. Liječenje difenhidraminom, omeprazolom i prednizonom je nastavljeno do kraja terapijskog protokola toceranibom i lomustinom. Ukupni odgovor na terapiju (ORR) bio je 46% (19/41), od čega 4 pacijenta s potpunim odgovorom (CR) i 15 s djelomičnim odgovorom (PR). U 59% (24) pacijenata javilo se povišenje aktivnosti alanin aminotransferaze u serumu. Maksimalna tolerirajuća doza (eng. *maximum tolerated dose*, MTD) lomustina u ovom istraživanju bila je 50 mg/m<sup>2</sup> što je od 28% do 44% niže od doza zabilježenih u drugim istraživanjima. Autori smatraju kako bi to sniženje doze lomustina moglo pridonijeti smanjenju hepatotoksičnog nuzučinka.

HORTA i suradnici (2017.) smatraju kako usporedna upotreba glukokortikoida i inhibitora tirozin kinaze može oslabiti odgovor inhibitora tirozin kinaze i preuranjeno dovesti do razvoja rezistencije na inhibitore tirozin kinaze te na taj način utjecati na vrijeme preživljavanja pacijenata.

OLSEN i suradnici (2018.) u svojem istraživanju provode terapiju mastocitoma drugog i trećeg stupnja malignosti po protokolu sastavljenom od vinblastina, prednizona i toceraniba. U istraživanju je sudjelovalo 40 pasa; šesnaest je primilo terapiju kao neoadjuvantnu (skupina 1), jedanaest kao adjuvantnu (skupina 2) i trinaest kao palijativnu terapiju (skupina 3). U tom su istraživanju korištene manje doze u odnosu na primjenu kemoterapijskog protokola sastavljenog od jednog kemoterapijskog lijeka, pa je tako doza toceraniba bila 2,5 mg/kg i doza vinblastina 1,6 mg/m<sup>2</sup>. Manja doza toceraniba u kombinaciji s manjim dozama vinblastina pokazale su se kao terapijski učinkovite dok je stopa pojavnosti nuzučinka bila niža. Nuzučinke je razvilo 68% (27/40) pacijenata koji su liječeni ovim protokolom, a najčešći su bili probavni poremećaji. U usporedbi s tim kod pacijenata na terapiji protokolom vinblastin i prednizon u istraživanju SERRA VARELA (2016.) 29% razvilo je nuzučinke, a WEISHAAR (2018.) navodi nuzučinke u 93% pacijenata liječenih toceranibom. U skupini 3 odgovor se javio u 92% pacijenata (12/13), pri čemu je potpuni odgovor (CR) postignut u 23% (3) pasa i djelomični odgovor (PR) u 69% (9) pasa. Srednje vrijeme preživljavanja bilo

je 218 dana (raspon od 90 do 399 dana). U skupini 2 kod devet od jedanaest pasa učinjena je potpuna resekcija, a margine nisu sadržavale tumorske stanice. Kod dva pacijenta margine su sadržavale tumorske stanice. Srednja vrijednost trajanja kemoterapijskog protokola u ovoj skupini bila je 16 tjedana (raspon 8 do 26 tjedana). Srednje ukupno vrijeme preživljavanja (eng. *overall survival time*, OST) u ovoj skupini kod pacijenata s „čistim“ marginama iznosila je 893 dana (raspon 70 do 893 dana) i kod pacijenata s tumorskom infiltracijom u marginama 181 dan (raspon 70 do 597 dana). U skupini 1 kod dvanaest od šesnaest pacijenata učinjena je kirurška obrada nakon završetka kemoterapijskog protokola. Srednje vrijeme trajanja kemoterapijskog protokola u toj skupini pasa bila je šest tjedana (raspon od 4 do 16 tjedana). OLSEN i suradnici (2018.) zaključuju kako rezultati njihovog istraživanja pokazuju zadovoljavajuće rezultate, ali da je potrebno provesti studiju s većim brojem pacijenata.

### 3.5. Tigilanol tiglata (Stelfonta®)

Tigilanol tiglata je ester kratkog lanca koji potječe od sjemenki lat. *Fontainea picrosperma* (eng. *Australian blushwood tree*). Tigilanol tiglata potiče oksidativno oštećenje ljudskih polimorfonuklearnih leukocita, a ubrizgan direktno u tumor povećava propustljivost endotela krvnih žila, izaziva oticanje membrane mitohondrija i membrane stanice tumora, inhibira rast i inducira smrt tumorskih stanica. Ima imunomodulatorsko djelovanje te igra ulogu u regresiji tumora. Tigilanol tiglata aktivira signalnu kaskadu protein kinaze C te tako modificira replikaciju stanica (PANIZZA i sur., 2019.). Intratumorska aplikacija uzrokuje brzu i lokaliziranu upalu, oštećuje vaskularnu mrežu tumora i inducira smrt tumorskih stanica. Ovi procesi dovode do hemoragične nekroze i propadanja tumorske mase unutar 2 do 7 dana. Cijeljenje rane i povratak funkcije javlja se između 28 i 84 dana (DE RIDDER i sur., 2020.).

Na hrvatskom tržištu registriran je veterinarsko-medicinski proizvod (VMP) Stelfonta® (QBiotics). Indikacije za primjenu navode da se VMP upotrebljava za liječenje neoperabilnih, nemetastatskih mastocitoma potkožja smještenih na ili distalno od koljena ili skočnog zgloba, te neoperabilnih i nemetastatskih mastocitoma kože pri čemu tumori moraju biti veličine

8cm<sup>3</sup> ili manji. Preparat se koristi u injekcijskom obliku koji se aplicira intratumorski. Stvaranje rana je predviđena reakcija na liječenje pri čemu je u većine pacijenata maksimalna površina rane bila sedam dana nakon liječenja, a ponovna epitelizacija je u većine rana bila završena unutar 28 do 42 dana. Najčešće zamijećene lokalne pojave su bol, nastanak modrice, eritema, edema na mjestu injekcije, hromost na liječenom udu i nastanak rana. Aplikacija je jednokratna, a doza se izračunava na temelju veličine tumora (ANONYMUS<sup>e</sup>, 2020.)

Izračun veličine tumora:

Volumen tumora (cm<sup>3</sup>) = 1/2 (duljina (cm) x širina (cm) x visina (cm))

Izračun doze:

Volumen doze VMP-a Stelfonta® (ml) koji se ubrizgava = volumen tumora (cm<sup>3</sup>) x 0,5

Od studenog 2016. do ožujka 2018. godine provedena je klinička studija (DE RIDDER i sur., 2020.) u kojoj su sudjelovala ukupno 123 psa s citološkom dijagnozom mastocitoma. Cilj studije bio je postići potpuni odgovor (CR) odnosno cjelovito povlačenje tumora i procijeniti sigurnost tigilanol tiglata kao terapije mastocitoma u pasa. Istraživanje je provedeno u dvije faze. Od 123 psa, nasumično je odabran 81 pas za terapijski protokol i 42 psa kao kontrolna skupina. 5 pasa isključeno je iz studije iz različitih razloga, 4 iz kontrolne skupine i 1 iz skupine za terapijski protokol. Prva faza sastojala se od jednokratne intratumorske aplikacije tigilanol tiglata u adekvatnoj dozi kod 80 pacijenata, dok je kontrolna skupina (38 pasa) nastavila primati prateću terapiju kortikosteroidima i antagonistima H1 i H2 receptora. Nakon 28 dana (kraj faze 1) potpuni odgovor (CR) postignut je kod 60 (75%) pasa na terapijskom protokolu i kod 2 (5%) psa iz kontrolne skupine. 59 pasa koji su postigli potpuni odgovor do 28. dana, praćeni su do 84. dana nakon terapije, te je kod 55 (95%) pasa utvrđeno da nema lokalnog recidiva. U drugoj fazi 18 pasa koji nisu postigli potpun odgovor (CR) u prvoj fazi ponovno su primili tigilanol tiglata. 8 pasa (44%) postiglo potpuni odgovor (CR) do 28. dana, a 7 pasa (88%) je bilo bez lokalnog recidiva 84. dan.

### 3.6. Radioterapija

Radioterapiju indicirano je koristiti u slučajevima kada kirurškim zahvatom nije moguće lokalno odstraniti cijeli tumor ili kada je učinjena nepotpuna resekcija. Radioterapiju kao samostalnu terapiju treba izbjegavati zbog mogućeg rizika degranulacije mastocita i neželjenih sistemskih učinaka, a najčešće se koristi kao postoperativna terapija kad je učinjena nepotpuna resekcija. Najbolji rezultati se postižu pri planiranju radioterapije prije samog kirurškog zahvata, a ne kad je kirurški zahvat neadekvatno proveden. Moguće je koristiti radioterapiju i za lokalne odnosno regionalne metastaze u limfne čvorove. Adjuvantna radioterapija u mastocitoma drugog stupnja malignosti rezultira remisijom bolesti u trajanju od 1 do 2 godine u 81% do 95% slučajeva, a remisija u trajanju od 40 mjeseci zabilježena je u pasa s mastocitomima prvog odnosno drugog stupnja malignosti s metastazama u regionalnim limfnim čvorovima koji su liječeni kirurški i radioterapijom (BLACKWOOD i sur., 2012.).

### 3.7. Potporna terapija

Potporna terapija uključuje korištenje lijekova koji djeluju na histaminske receptore (H1 i H2 receptori). Važna je kod pacijenata koji imaju probavne poremećaje. U tu svrhu koriste se H2 antagonisti (cimetidin, ranitidin, famotidin) ili inhibitori protonske pumpe kao što je omeprazol. H1 antagonisti smanjuju učinak histamina koji je oslobođen iz mastocita u perivaskularni prostor (difenhidramin). Također se preporučuje korištenje i gastroprotektivnih lijekova, kao što je sukralfat, kod pasa koji imaju probavne poremećaje (BLACKWOOD i sur., 2012.).

SKORUPOVSKI i suradnici (2011.) u svojem istraživanju na dvije skupine pasa koji su oboljeli od tumorskih bolesti, jednoj skupini pasa uz terapiju lomustinom propisuju i hepatoprotektivnu terapiju (S-adenozilmetionin i silybid, Denamarin®). U skupini pasa koji nisu primali hepatoprotektivnu terapiju, kod 84% pasa došlo je do povišene aktivnosti jetrenih enzima, dok je u skupini koja je primala hepatoprotektivnu terapiju povišenje aktivnosti zabilježeno u 68% pasa. Iz tog istraživanja može se zaključiti da je uputno koristiti hepatoprotektivnu terapiju kod pasa koji se liječe kemoterapijom.

#### 4. Prognostički faktori

Histološko određivanje stupnja malignosti pokazalo se kao pouzdani prognostički faktor. Predložena su dva sustava određivanja u kojima su mastocitomi razvrstani u tri (prema Patnaiku) odnosno u dva stupnja malignosti (prema Kiupelu). Niti jedan od ta dva sustava određivanja stupnja malignosti nije se nametnuo kao bolji u procjeni ishoda bolesti niti je bio u mogućnosti identificirati mali broj mastocitoma niskog stupnja malignosti po Kiupelu odnosno drugog stupnja malignosti po Patnaiku koji pokazuju agresivnije biološko ponašanje (MOIRANO i sur., 2017.). BERGMAN (2010.) navodi da je 83% pasa s mastocitomom prvog stupnja malignosti, 44% pasa s mastocitomom drugog stupnja malignosti odnosno 6% pasa s trećeg stupnjem malignosti po Patnaik sustavu bilo živo četiri godine nakon operacije uklanjanja tumora.

U slabo diferenciranih mastocitoma stopa metastaziranja iznosi od 55% do 96% i većina pasa sa slabo diferenciranim tumorima i metastazama ugiba unutar jedne godine. Bolju prognozu pokazuju pacijenti koji imaju 0. i I. stadij proširenosti (TNM klasifikacija), dok je najčešće zabilježeno metastaziranje mastocitoma u lokalne i regionalne limfne čvorove, a zatim u slezenu i jetru (LONDON i THAMM, 2013.). Potvrđena metastaza u limfni čvor ukazuje na lošiju prognozu (BLACKWOOD i sur., 2012.). HUME i suradnici (2011.) ističu kako je metastaza u limfnom čvoru značajno skratila ukupno vrijeme preživljavanja (OS) u njihovoj istraživanoj skupini bez obzira na primljenu kemoterapiju.

HORTA i suradnici (2017.) zaključuju da je inicijalni odgovor na kemoterapiju pouzdan prognostički faktor bez obzira na stadij bolesti, stupanj malignosti i indeks mitoze.

BERGMAN (2010.) također ističe da je prisutnost mastocitoma na stražnjoj polovici tijela, visoka stopa rasta odnosno agresivniji rast i prisutnost sistemskih znakova (paraneoplastičnih simptoma) značajan negativan prognostički faktor.

Sistemske znakove kao što su anoreksija, povraćanje, melena, generalizirani eritem i edem ukazuju na moguće postojanje visceralnog mastocitoma čija prognoza nije povoljna. U 16 slučajeva visceralnog mastocitoma srednje vrijeme preživljavanja (MST) bilo je 90 dana, a svi psi su uginuli (LONDON i THAMM, 2013.).

Malignijima su se pokazali tumori koji se razvijaju na mukokutanom spojevima i u ingvinalnoj regiji (BLACKWOOD i sur., 2012.) dok se subkutani mastocitomi smatraju prognostički povoljnijima (LONDON i THAMM, 2013.). U studiji provedenoj na 306 pasa sa subkutanom

mastocitomom metastaza se javila u 4% (13) pacijenata, dok se lokalni recidiv javio u 8% (12) pacijenata (THOMPSON i sur., 2011.).

KIUPEL, WEBSTER i suradnici (2004.) ukazuju da tumori kod kojih je pretjerano izražen KIT receptor pokazuju biološki agresivnije ponašanje, veći rizik od metastaziranja i lokalnog recidiva nakon kirurške resekcije.

Indeks mitoze (eng. *mitotic index*, MI) predstavlja indirektnu mjeru proliferacije stanica. Indeks mitoze predstavlja broj mitozna na deset HPF-ova (eng. *high power fields*, HPF). U jednoj studiji srednje vrijeme preživljavanja (MST) u pasa s tumorom, koji su imali indeks mitoze 5 ili manje, bilo je 70 mjeseci, a kod pasa koji su imali indeks mitoze veći od 5, srednje vrijeme preživljavanja bilo je 2 mjeseca (ROMANSIK i sur. 2007.). Neki autori preporučuju *cut-off* vrijednost od 7 mitozna po HPF-u (BLACKWOOD i sur., 2012.).

Proliferacijski markeri mogu predvidjeti biološko ponašanje. Ki-67 je protein koji se nalazi u jezgri, a njegove razine su u korelaciji s proliferacijom stanica. U jednoj studiji prosječna razina Ki-67 proteina bila je značajno viša u pasa koji su uginuli od mastocitoma u odnosu na one koji su preživjeli (LONDON i THAMM, 2013.). AgNOR protein (eng. *argynophilic nucleolar organizer regions*) je također indikator proliferacije stanica, a njegove više vrijednosti ukazuju na veću vjerojatnost metastaziranja tumora. PCNA (eng. *proliferating cell nuclear antigen*) je protein koji je potreban za sintezu DNK, a njegova ekspresija ukazuje na proliferaciju stanica, te više vrijednosti njegove ekspresije mogu biti povezane s većim brojem smrtnih ishoda (BLACKWOOD i sur., 2012.).

ŠMIECH i suradnici (2019.) u svojoj retrospektivnoj studiji na uzorcima prikupljenima od 2003. do 2017.godine u Poljskoj zaključuju da najveći rizik razvoja mastocitoma visokog stupnja malignosti imaju shar-pei (13/14 uzoraka bilo je ocijenjeno kao mastocitom visokog stupnja malignosti). Bokseri, labrador retriveri, francuski buldozi i zlatni retriveri također su učestalije oboljevali od mastocitoma, ali je češće zabilježen mastocitom niskog stupnja malignosti.

## 5. Procjena kvalitete života

Glavni cilj brige o pacijentima sa malignim bolestima je održati kvalitetu života na prihvatljivoj razini unatoč učincima bolesti i veterinarskim intervencijama. Ne postoji generalno prihvaćena definicija kvalitete života, ali se općenito smatra da je to višedimenzionalan koncept koji uključuje subjektivnu procjenu čimbenika koju pridonose dobrobiti pacijenta. Kvaliteta života smatra se važnim čimbenikom u donošenju odluka o liječenju kod ljudskih onkoloških pacijenata i obično se koristi kao krajnja točka u kliničkim ispitivanjima liječenja raka kod ljudi. Sve češće je prihvaćeno da je liječenje vrijedno ako subjektivno poboljšava kvalitetu života bez da značajno utječe na druge ishode koji se koriste kao parametri za određivanje uspjeha u liječenju tumora (progresija bolesti i preživljavanje). Ti principi primjenjuju se i u veterinarskih onkoloških pacijenata. Uzevši to u obzir, nažalost, malo je studija koje u svojim istraživanjima uvode kvalitetu života kao značajan parametar u liječenju malignih bolesti životinja. U razdoblju od 2008. do 2013. godine u samo 11,1% (16 od 144) studija određivana je kvaliteta života (GIUFFRIDA i KERRIGAN, 2014.).

Godine 1978. Yoxall izjavljuje kako ga iznenađuje koliko se kvaliteta života psa, koju promatra vlasnik, može poboljšati uz primjenu analgetika ako pas pati od tumorske bolesti te iako bol na palpaciju nije prisutna, bol može biti kronična. Nisu svi tumori bolni, a bolnost individualno varira čak i kod tumora sličnog tipa. Tumori usne šupljine, kostiju, urogenitalnog trakta, tumori oka, nosa, živčanih korijena, probavnog sustava i kože mogu se povezati s boli. Prosječno 70% ljudi koji boluju od uznapredovalog stadija tumora pate od boli. Uz bol koja je uzrokovana samim tumorom, bol može biti i posljedica kemoterapije, radijacijske terapije, operacije ili drugog komorbiditeta. Ublažavanje boli važno je iz fiziološkog, biološkog, ali i etičkog gledišta. Kako bi se mogla ocijeniti dobrobit, predloženo je pet sloboda; sloboda od gladi i žeđi; sloboda od boli, bolesti i ozljeda; sloboda od straha i nelagode; sloboda od nelagode uzrokovane okolinom; sloboda vršenja ponašanja normalnog za vrstu. Svaku od tih sloboda trebalo bi ocijeniti u svakom pojedinom slučaju jer i one ukazuju na kvalitetu života (DUNCAN i LASCELLES, 2013.).

2007. godine predložena je HHHHHMM (5H2M, eng. *Hurt, Hunger, Hydration, Hygiene, Happiness, Mobility, More good days than bad*) ljestvica u procjeni kvalitete života (TABLICA 5). Ljestvica pruža korisne smjernice i informacije vlasnicima i veterinarima o kvaliteti života pacijenata. HHHHHMM je jednostavna ljestvica koja svojim objektivnim bodovanjem pomaže vlasnicima da se lakše suoče sa stvarnošću bez osjećaja krivnje ili



zbunjenosti. Pri ispunjavanju ljestvice od vlasnika se traži da budu svoje zapažanje te da se na taj način suoče s eventualno teškom odlukom (VILLALOBOS, 2007.).

Za bodovanje se koriste brojevi od 1 do 10, pri čemu 1 označava loše, a 10 izvrsno. Bodovi se zbrajaju u ukupni zbroj. Prihvatljivim se smatra više od 5 bodova po skupini, odnosno 35 i više bodova ukupno.

<b>BODOVANJE</b>	<b>KRITERIJ</b>
<b>HURT (BOL) 0-10</b>	Adekvatna kontrola boli, mogućnost samostalnog disanja, potreba za dodatnom primjenom kisika
<b>HUNGER (UZIMANJE HRANE) 0-10</b>	Potreba za hranom, zahtijevanje ručnog hranjenja, potreba za hranjenjem sondom
<b>HYDRATION (UZIMANJE VODE) 0-10</b>	Dovoljno samostalno uzimanje vode, dehidracija, potreba za hipodermalnom primjenom infuzijskih otopina
<b>HYGIENE (UREDOST) 0-10</b>	Adekvatno održavanje higijene, samostalno obavljanje nužde, higijena rana
<b>HAPPINES (INTERES ZA OKOLINU) 0-10</b>	Zainteresiranost i sreća, odgovor na okolinu, igračke i druge ljude ili depresija, anksioznost i usamljenost
<b>MOBILITY (POKRETLJIVOST) 0-10</b>	Samostalno kretanje, kretanje bez asistencije, posrtanje, epileptoidni napadaji
<b>MORE GOOD DAYS THAN BAD (VIŠE DOBRIH NEGO LOŠIH DANA) 0-10</b>	Više loših ili dobrih dana za redom, patnja pacijenta
<b>UKUPNO</b>	Više od 5 bodova po skupini, odnosno 35 i više bodova ukupno smatra se prihvatljivim

TABLICA 5: HHHHMM ljestvica (VILLALOBOS, 2007.).

## 6. Zaključak

Brojna istraživanja pokazala su kako upotreba kemoterapijskog liječenja u pasa s mastocitomom daje zadovoljavajuće rezultate. Nažalost, upotreba kemoterapijskog liječenja u Hrvatskoj nije ustaljena praksa te se velik broj pacijenata liječi samo kirurškim putem. Kirurško liječenje daje zadovoljavajuće rezultate pri liječenju mastocitoma niskog stupnja malignosti, ali ne i pri liječenju mastocitoma visokog stupnja malignosti. Kombinirano kemoterapijsko i kirurško liječenje mastocitoma visokog stupnja malignosti pokazalo je bolje rezultate od jednostranog kirurškog pristupa. U ovom radu navedena su istraživanja koja ukazuju na uspjehe kemoterapijskog liječenja mastocitoma u pasa, te se može zaključiti da bi učestalije uvođenje kemoterapijskog liječenja dodatno produžilo životni vijek i poboljšalo kvalitetu života u pacijenata s mastocitomima visokog stupnja malignosti.

## 7. Literatura

1. ANONYMUS<sup>a</sup> (2013.): Vinblastine (Velban®, Alkaban AQ). OncoLink, PennMedicine, sadržaj preuzet s internet stranice: [www.oncolink.org/cancer-treatment/oncolink-rx](http://www.oncolink.org/cancer-treatment/oncolink-rx)
2. ANONYMUS<sup>b</sup> (2011.): Lomustine (CeeNU®, CCNU). OncoLink, PennMedicine, sadržaj preuzet s internet stranice: [www.oncolink.org/cancer-treatment/oncolink-rx](http://www.oncolink.org/cancer-treatment/oncolink-rx)
3. ANONYMUS<sup>c</sup> (2015.): Palladia® (toceranib phosphate) Tablets. Zoetis, Pfizer Inc, Ascoli, Italy, Palladia Treatment Information for Veterinarians
4. ANONYMUS<sup>d</sup> (2009.): Masivet®, The Efficacy of Targeted Therapy in Veterinary Medicine. AB Science, Pariz, Francuska, sadržaj preuzet s internet stranice: [www.masivet.com](http://www.masivet.com)
5. ANONYMUS<sup>e</sup> (2020.): Uputa o VMP-u: STELFONTA 1 mg/ml otopina za injekciju za pse. Nositelj odobrenja za stavljanje u promet: QBiotics, Nizozemska; Proizvođač: Virbac, Francuska
6. BERGMAN, P. J. (2010.): Canine Mast Cell Tumors: Margins, Markers and Prognostic Factors. Rad objavljen pri Illinois State Veterinary Medical Association, USA. Preuzeto s internet stranice: <https://www.isvma.org/wp-content/uploads/2016/10/CanineMastCellTumors-MarginsMarkersPrognosticFactors.pdf>
7. BERGMAN, P. J. (2013): Paraneoplastic Syndromes. U: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5th edition, Elsevier Saunders, St Louis, 83-97
8. BLACKWOOD, L. (2013): Mast cell tumour advances. FECAVA 19. EuroCongress u Dublinu, Irska, listopad 2013, 24(1) P21 – P33
9. BLACKWOOD, L., S. MURPHY, P. BURACCO, J. P. DE VOS, P. DE FORNEL-THIBAUD, J. HIRSCHBERGER, M. KESSLER, J. PASTOR, F. PONCE, K. SAVARY-BATAILLE, D. J. ARGYLE (2012.): European consensus document on mast cell tumors in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10, 3, e1-e29
10. BURTON, J. H., R. O. VENABLE, D. M. VAIL, L. E. WILLIAMS, C. A. CLIFFORD, S. M. AXIAK-BECHTEL, A. C. AVERY, D. H. THAMM (2015.): Puls-Administered Toceranib Phosphate Plus Lomustine for Treatment of Unresectable Mast Cell Tumor in Dogs. *J Vet Intern Med* 2015;29:1098-1104
11. COOPER, M., XINRU TSAI, P. BENNETT (2009.): Combination CCNU and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumours: 57 cases. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7, 3, 196-206

12. ČUPIĆ, V., M. MUMINOVIĆ, S. KOBAL, R. VELEV (2007.): Farmakologija za studente veterinarske medicine. Izdavač: Heleta, Beograd, Republika Srbija. Odabrana poglavlja: Hemioterapija malignih bolesti 629-633; Farmakologija hormona, hormoni nadbubrežne žlijezde 439-449
13. DE RIDDER, T. R., J. E. CAMPBELL, C. BURKE-SCHWARZ, D. CLEGG, E. L. ELLIOT, S. GELLER, W. KOZAK, S. T. PITTENGER, J. B. PRUITT, J. RIEHL, J. WHITE, M. L. WIEST, C. M. JOHANNES, J. MORTON, P. D. JONES, P. F. SMIDT, V. GORDON, P. REDDELL (2020.): Randomized controlled clinical study evaluating the efficacy and safety of intratumoral treatment of canine mast cell tumors with tigilanol tiglate (EBC-46). *J Vet Intern Med* 2020;1-15
14. DONNELLY, L., C. MULLIN, J. BALKO, M. GOLDSCHMIDT, E. KRICK, C. HUME, D. C. BROWN, K. SORENMO (2013.): Evaluation of histological grade and histologically tumor-free margins as predictors of local recurrences in completely excised canine mast cell tumors. *Veterinary and Comparative Oncology* 13, 1, 70-76
15. DUNCAN, B., X. LASCELLES (2013.): Supportive Care for the Cancer Patient. U: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5th edition, Elsevier Saunders, St Louis, 245-259
16. GIUFFRIDA, M. A., S. M. KERRIGAN (2014.): Quality of Life Measurement in Prospective Studies of Cancer Treatments in Dogs and Cats. *J Vet Intern Med* 2014;28:1824-1829
17. GRABAREVIĆ, Ž. (1993.): Najvažnije upalne stanice. U: Čuljak, K., Ž. Grabarević, R. Srebočanec: Opća veterinarska patologija., izdavač: Hortexky, Zagreb, 1993., poglavlje: VI: Upala; najvažnije upalne stanice, 132-133
18. GRANT, J., S. NORTH, D. LANORE (2016.): Clinical response of masitinib mesylate in treatment of canine macroscopic mast cell tumours. *J Small Anim Pract Jun*; 57(6):283-90
19. GUSTAFSON, D. L., R. L. PAGE (2013.): Cancer Chemotherapy. U: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5th edition, Elsevier Saunders, St Louis, 157-179
20. HAHN, H. A., A. M. LEGENDRE, N. G. SHAW, B. PHILLIPS, G. K. OGILVIE, D. M. PRESCOTT, S. W. ATWATER, J. K. CARRERAS, S. E. LANA, T. LADUE, A. RUSK, J. P. KINET, P. DUBREUIL, A. MOUSSY, O. HERMINE (2010.): Evaluation of 12- and 24-month survival rates after treatment with masitinib in dogs with nonresectable mast cell tumors. *Am J Vet Res* 2010 Nov;71(11):1354-61

21. HANH K. A., G. OGILVIE, T. RUSK, P. DEVAUCHELLE, A. LEBLANC, A. LEGENDRE, B. POWERS, P. S. LEVENZHAL, J.-P. KINET, F. PALMERINI, P. DUBREUIL, A. MOUSSY, O. HERMINE (2008.): Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. *J Vet Intern Med Nov-Dec 2008*;22(6):1301-9
22. HAY, J. K., W. S. LARSON (2019.): Lomustine (CCNU) and prednisone chemotherapy for high-grade completely excised canine mast cell tumors. *Can Vet J 2019*;60:1326-1330
23. HORTA, R. D. S., A. GIULIANO, G. E. LAVALLE, M. D. P. COSTA, R. B. D. ARAÚJO, F. CONSTANTINO-CASAS, J. M. DOBSON (2017.): Clinical, histological, immunohistochemical and genetic factors associated with measurable response of high-risk canine mast cell tumors to tyrosine inhibitors. *Oncology Letters 15*: 129-136, 2018
24. HOSOYA, K., L. K. LORD, A. LARA-GARCIA, W. C. KISSEBERTH, C. A. LONDON, C. G. COUTO (2009.): Prevalence of elevated alanine transaminase activity in dogs treated with CCNU (Lomustine). *Veterinary and Comparative Oncology, 7, 4*, 244-255
25. HUME, C. T., M. KIUPEL, L. RIGATTI, F. S. SHOFER, K. A. SKORUPSKI, K. U. SORENMO (2011.): Outcomes of Dogs with Grade 3 Mast Cell Tumors: 43 Cases (1997 – 2007). *JAAHA 47*:1 Jan/Feb 2011
26. JUNQUEIRA, L. C., J. CARNEIRO (2003.): *Osnove histologije - udžbenik i atlas, prema 10. američkom izdanju, izdavač: Školska knjiga d.d., Zagreb, 2005.*
27. KIUPEL, M., J. D. WEBSTER, J. B. KANEENE, R. MILLER, V. YUZBASIYAN-GURKAN (2004): The Use of KIT and Tryptase Expression Patterns as Prognostic Tool for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Pathol 41*:371-377 (2004)
28. KIUPEL, M., J. D. WEBSTER, K. L. BAILEY, S. BEST, J. DELAY, C. J. DETRISAC, S. D. FITZGERALD, D. GAMBLE, P. E. GINN, M. H. GOLDSCHMIDT, M. J. HENDRICK, E. W. HOWERTH, E. B. JANOVITZ, I. LANGOHR, S. D. LENZ, T. P. LIPSCOMB, M. A. MILLER, W. MISDORP, S. MOROFF, T. P. MULLANEY, I. NEYENS, D. O'TOOLE, J. RAMOS-VARA, T. J. SCASE, F. Y. SCHULMAN, D. SLEDGE, R. C. SMEDLEY, K. SMITH, P. W. SNYDER, E. SOUTHORN, N. L. STEDMAN, B. A. STEFICEK, P. C. STROMBERG, V. E. VALLI, S. E. WEISBRODE, J. YAGER, J. HELLER, R. MILLER (2010.): Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Veterinary Pathology 48*(1) 147-155
29. KRISTAL, O., K. M. RASSNICK, J. M. GLIATTO, N. C. NORTHRUP, J. D. CHRETIN, K. MORRISON-COLLISTER, S. M. COTTER, A. S. MOORE (2004.): Hepatotoxicity

- Associated with CCNU (Lomustine) Chemotherapy in Dogs. *J Vet Inter Med* 2004;18:75-80
30. KUČER, N., prof. dr. sc. (2014.): pisani materijali za predavanja iz veterinaske onkologije. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
  31. LEVER, J. V., P. A. TROTT, A. J. WEBB (1985.): Fine needle aspiration cytology. *J Clin Pathol* 1985;38:1-10
  32. LONDON, C. (2004.): Kinase inhibitors in cancer therapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, 2, 4, 177-193
  33. LONDON, C. A. (2013.): Signal Transduction and Cancer. U: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5th edition, Elsevier Saunders, St Louis, 221-229
  34. LONDON, C. A., D. H. THAMM (2013.): Mast Cell Tumors. U: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5th edition, Elsevier Saunders, St Louis, 335-349
  35. LONDON, C. A., P. B. MALPAS, S. L. WOOD-FOLLIS, J. F. BOUCHER, A. W. RUSK, M. P. ROSENBERG, C. J. HENRY, K. L. MITCHENER, M. K. KLEIN, J. G. HINTERMEISTER, P. J. BERGMAN, G. C. COUTO, G. N. MAULDIN, G. M. MICHELS (2009.): Multi-center, Placebo-controlled, Double-blind, Randomized Study of Oral Toceranib Phosphate (SU11654), a Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, for the Treatment of Dogs with Recurrent (Either Local or Distant) Mast Cell Tumor Following Surgical Excision. *Clin Cancer Res* 2009;15(11)
  36. MATIČIĆ, D., prof. dr. sc. (2009.): Veterinarska kirurška onkologija - pisani materijali za studente. Pisani materijali za studente iz kolegija „Kirurgija, ortopedija i oftalmologija II“ za studente VIII. semestra, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
  37. MCCAWE, D. L. (2010.): Mast Cell Tumors. U: *Cancer Management in Small Animal Practice*, Carolyn J. Henry, Mary Lynn Higginbotham, 2010., Elsevier Saunders, Maryland Heights, Missouri, 317-321
  38. MILLER, R. L., S. VAN LELYVELD, J. WARLAND, J. M. DOBSON, R. D. FOALE (2016.): A retrospective review of treatment and response of high-risk mast cell tumours in dogs. *Vet Comp Oncol* 2016 Dec;14(4):361-370
  39. MILLER, R. L., S. VANLELYVELD, J. WARLAND, J. M. DOBSON, R. D. FOALE (2014.): A retrospective review of treatment and response of high-risk mast cell tumor in dogs. John Wiley and Sons Ltd, *Veterinary and Comparative Oncology*, doi:10.1111/vco.12116

40. MOIRANO, S. J., S. F. LIMA, K. R. HUME, E. M. BRODSKY (2017.): Association of prognostic features and treatments on survival time of dogs with systemic mastocytosis: A retrospective analysis of 40 dogs. *Vet Comp Oncol.* 2017:1-8
41. OLESEN, J. A., M. THOMSON, K. O'CONNELL, K. WYATT (2018.): Combination vinblastin, prednisolone and toceranib phosphate for treatment of grade II and III mast cell tumors in dogs. *Veterinary Medicine and Science* (2018) 4. pp. 237-251
42. PANIZZA, B. J., P. DE SOUZA, A. COOPER, A. ROOHULLAH, C. S. KARAPETIS, J. D. LICKLITER (2019.): Phase I dose-escalation study to determine the safety, tolerability, preliminary efficacy and pharmacokinetics of intratumoral injection of tigilanol tiglate (EBC-46). *EBioMedicine* 50 (2019) 433-441
43. RASSNICK, K. M., A. S. MOORE, L. E. WILLIAMS, C. A. LONDON, P. P. KINTZER, S. J. ENGLER, S. M. COTTER (1999.): Treatment of Canine Mast Cell Tumors with CCNU (Lomustine). *J Vet Intern Med* 1999: 13:601-605
44. RASSNICK, K. M., D. B. BAILEY, A. B. FLORY, C. E. BALKMAN, M. A. KISELOW, J. L. INTILE, K. AUTION (2008.): Efficacy of Vinblastin for Treatment of Canine Mast Cell Tumors. *J Vet Intern Med* 2008:22:1390-1396
45. RASSNICK, K. M., D. B. BAILEY, D. S. RUSSELL, A. B. FLORY, M. A. KISELOW, J. L. INTILE, C. E. BALKMAN, S. M. BARNARD (2010): A phase II study to evaluate the toxicity and efficacy of alternating CCNU and high-dose vinblastine and prednisone (CVP) for treatment of dogs with high-grade, metastatic or nonresectable mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8, 2, 138-152
46. ROGERS, K. S. (2010.): Mast Cell Disease. U: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, S. J. Ettinger and E. C. Feldman, 7th edition, Volume 2, Elsevier Saunders, St Louis, Chapter 329, 2166-2177
47. ROMANSIK, E. M., C. M. REILLY, P. H. KASS, P. F. MOORE, C. A. LONDON (2007.): Mitotic Index Is Predictive for Survival for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Vet Pathol* 44:335-341 (2007)
48. SERRA VARELA, J. C., E. PECCEU, I. HANDEL, J. LAWRENCE (2016.): Tolerability of a rapid-escalation vinblastine-prednisolone protocol in dogs with mast cell tumor. *Veterinary Medicine and Science* (2016). 2. pp. 266-280
49. SKORUPSKI, K. A., G. M. HAMMOND, A. M. IRISH, M. S. KENT, T. A. GUERRERO, C. O. RODRIGUEZ, D. W. GRIFFIN (2011): Prospective Randomized Clinical Trial Assessing Efficacy of Denamarin for Prevention of CCNU – Induced Hepatopathy in Tumor-Bearing Dogs. *J Vet Intern Med*, 2011:25:838-845

50. ŚMIECH, A., W. ŁOPUSZYŃSKI, B. ŚLASKA, K. BULAK, A. JASIK (2019.): Occurrence and distribution of canine cutaneous mast cell tumors characteristics among predisposed breeds. *J Vet Res* 63, 141-148, 2019
51. SMRKOVSKI, O. A., L. ESICK, B. W. ROHRBACH, A. M. LEGENDRE (2013.): Masitinib mesylate for metastatic and non-resectable canine cutaneous mast cell tumors. John Wiley and Sons Ltd, *Veterinary and Comparative Oncology*, doi:10.1111/vco.12053
52. THAMM, D. H., E. A. MAULDIN, D. M. VAIL (1999.): Prednisone and Vinblastine Chemotherapy for Canine Mast Cell Tumor – 41 Cases (1992 – 1997). *J Vet Intern Med* 1999;13:491-497
53. THAMM, D. H., M. M. TUREK, D. M. VAIL (2006): Outcome and Prognostic Factors Following Adjuvant Prednisone/Vinblastine Chemotherapy for High-Risk Canine Mast Cell Tumour: 61 Cases. *J Vet Med Sci* 68(6): 581-587, 2006
54. THOMPSON, J. J., D. L. PEARL, J. A. YAGER, S. J. BEST, B.L. COOMBER, R. A. FOSTER (2010.): Canine Subcutaneous Mast Cell Tumor: Characterization and Prognostic Indices. *Veterinary Pathology* 48(1) 156-168
55. VILLALOBOS, A. E. (2011.): Quality-of-life Assessment Techniques for Veterinarians. *Vet Clin Small Anim* 41(2011) 519-529
56. WEISHAAR, K. M., E. J. EHRHART, A. C. AVERY, J. B. CHARLES, R. E. ELMSLIE, D. M. VAIL, C. A. LONDON, C. A. CLIFFORD, J. C. EICKHOFF, D. H. THAMM (2018.): c-Kit Mutation and Localization Status as Response Predictors in Mast Cell Tumors in Dogs Treated with Prednisone and Toceranib or Vinblastine. *J Vet Intern Med* 2018;32:394-405
57. ZEMKE, D., B. YAMINI, V. YUZBASIYAN-GURKAN (2002.): Mutations in the Juxtamembrane Domain of c-KIT Are Associated with Higher Grade Mast Cell Tumor in Dogs. *Vet Pathol* 39:529-535 (2002)



## 8. Sažetak

Filip Pek

### DIJAGNOSTIKA I LIJEČENJE MASTOCITOMA U PASA

Mastocitomi su jedni od najčešćih tumora kože i potkožja pasa, a njihovo biološko ponašanje varira. Većina pacijenata s mastocitnim tumorima uspješno se liječi kirurški, dok liječenje u podmakloj fazi bolesti zahtijeva multimodalni pristup. Kemoterapija se najčešće koristi kod pacijenata kod kojih je utvrđen mastocitom visokog stupnja malignosti odnosno kod mastocitoma koji imaju visok rizik od metastaziranja. Najčešće korišteni kemoterapijski lijekovi su vinblastin, prednizolon i lomustin. U posljednjih nekoliko godina razvijeni su lijekovi koji inhibiraju receptor tirozin kinazu te su se pokazali kao dobra kemoterapija u liječenju mastocitoma. Nedavna istraživanja o učinku tigilanol tiglata kao lijeka primijenjenog intratumorski pokazuje zadovoljavajuće rezultate u terapiji neoperabilnih mastocitoma. Cilj brige o pacijentima oboljelim od mastocitoma, kao i od drugih malignih bolesti, je održati kvalitetu života na prihvatljivoj razini unatoč bolesti i neizbježnim toksičnim učincima liječenja.

Ključne riječi: *mastocitom, tumor, pas, liječenje, kemoterapija.*

## 9. *Summary*

Filip Pek

### DIAGNOSIS AND TRETMENT OF MAST CELL TUMORS IN DOGS

Mast cell tumors are among the most common tumors of dermis and subcutaneous tissues in dogs, and their biological behavior varies. Most patients with mast cell tumors undergo successful surgical treatment, while treatment of patients in advanced phases of the disease requires multimodal approach. Chemotherapy is mostly used in patients with of high grade mast cell tumors and those with high risk of metastasizing. Chemotherapy most often includes vinblastine, prednisolone and lomustine. In the last couple of years medications have been developed that inhibit receptor tyrosine kinase, and have proven to be successful in treating mast cell tumors. Recent research on the effects of intratumoral administration of tigilanol tiglata show satisfying results in therapy of inoperable mast cell tumors. The goal of patient care in cases of mast cell tumors, as well as with other malignant tumor, is maintaining of life quality at acceptable level despite effects of the disease and adverse effects of the therapy.

*Key words: mast cell tumors, tumor, dog, treatment, chemotherapy.*

## 10. Životopis

Rođen sam 6. svibnja 1990. godine u Zagrebu. Maturirao sam 2009. godine u zagrebačkoj XI. gimnaziji te iste godine upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zbog zanimanja za bolesti kućnih ljubimaca na petoj godini studija opredijeljujem se za usmjerenje „Kućni ljubimci“. Za vrijeme studija aktivan sam član studentske udruge EQUUS te sudjelujem u organizaciji edukativne izložbe Reptilomanija+ za što dobivamo Posebnu Rektorovu nagradu. Tijekom studija prisustvujem na edukativno-stručnim skupovima vezanim uz veterinarsku struku.