

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Fakulta veterinárního lékařství



Není lymfom jako lymfom

Projekt IVA 2018

MVDr. Marie Štěrbová
Doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D.

Brno 2018

Lymfom je časté onemocnění psů a koček vycházející z hematopoetické tkáně. Postihuje až 20-100 jedinců ze 100 000. Jedná se o heteroechoegenní skupinu onemocnění a klinická manifestace se může u jednotlivých typů značně lišit. Lymfom může postihnout jakýkoliv orgán v těle, nejčastěji však ty, které jsou součástí imunitního systému – mízní uzliny, slezinu, kostní dřeň.

Klasifikace

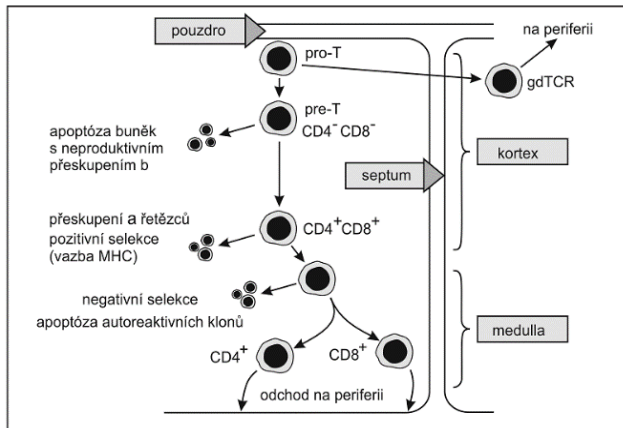
V minulosti byly využity systémy pro klasifikaci Non-Hodgkinova lymfomu u lidí také ve veterinární medicíně. Tyto systémy byly založeny pouze na morfologické charakteristice a postupně docházelo k jejich úpravám, které zahrnovaly i imunofenotypizaci.⁴ V následujících letech došlo ke zdokonalování řazení lymfomu, ne jen podle morfologie a imunofenotypizace, ale i podle klinické manifestace, nových imunologických a histochemických poznatků.⁴ To vedlo k vytvoření tzv. REAL klasifikace (Revidovaná Evropsko-Americká Klasifikace Lymfoidních Neoplazií). Přínos této klasifikace byl zejména v tom, že zahrnovala mimo buněčnou charakteristiku lymfomu i popis na úrovni rozličných klinických onemocnění. Do diagnostiky byly zahrnuty veškeré relevantní informace: morfologie buněk, imunofenotyp, topografie a klinické chování.⁵ REAL klasifikace byla základem pro vytvoření klasifikace lymfoproliferativních chorob Světové Zdravotnické Organizace (WHO klasifikace), která představuje světový konsenzus pro diagnózu těchto nádorů a je založena na rozpoznání rozdílných forem onemocnění.⁶ Její celosvětový úspěch byl zapříčiněn klinickou relevancí, praktičností a dobrou reprodukovatelností. Od roku 2001 začala být používána v klinicky aplikovaném a bazálním výzkumu a stala se základním stavebním pilířem genetických a molekulárních studií.¹ Upravená klasifikace zpřesňuje definici dobře rozpoznávaných

subtypů, identifikaci nových variant za současného začlenění všech nových vědeckých poznatků v lepším klinickém porozumění lymfoproliferativním chorobám.⁹ Řada otázek zůstává nevyřešená jako je charakteristika určitých subtypů pomocí genetických a epigenetických změn.¹ V současnosti je rozpoznáváno přes 60 lymfoidních neoplazií u lidí, u psů téměř 40 forem a u kočky přibližně 30.^{2,8} WHO klasifikace lymfoproliferativních chorob nám umožňuje předpovědět prognózu u řady typů lymfomu u psů a koček a zvolit cílenou terapii pro daný typ onemocnění.

Buněčný původ lymfoidních neoplázií

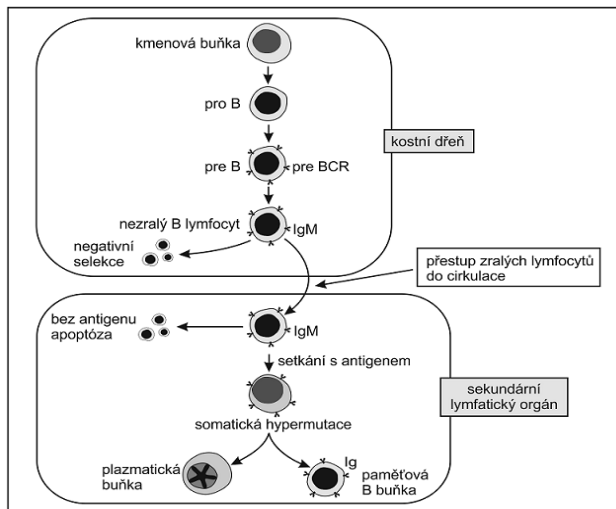
Lymfoidní neoplazie mohou vycházet z naivních lymfoidních buněk (innate lymphoid cells, ILC), mezi něž patří také NK-buňky, a dále z různých subtypů T- a B-lymfocytů.² Ke vzniku neoplazií může dojít v jakékoliv fázi vývoje buněk imunitního systému.³ Zatímco naivní lymfoidní buňky jsou součástí nespecifické imunity, T a B lymfocyty jsou základem antigen-specifické imunity.³ Obě skupiny buněk zajišťují organismu odpověď na setkání s antigeny. Zatímco ILC buňky mají jen omezenou schopnost rozpoznávat antigeny a nevytváří imunologickou paměť, přesto jsou schopné rychlé odpovědi imunitního systému, T a B-lymfocyty dokáží rozlišit velké množství antigenu a tím je vytvářena imunologická paměť.⁷ Lymfocyty vznikají a následně dozrávají v primárních a sekundárních lymfatických orgánech. Mezi primární lymfatické struktury patří kostní dřeň a brzlík, mezi sekundární pak mízní uzliny, slezina a se sliznicí asociovaná lymfatická tkáň (mucosa-associated lymphatic tissue, MALT).¹ Vzhledem ke komplexnosti lymfoidních tkání musí být biopsie dostatečně velká, aby zahrnovala veškeré její anatomické struktury. Z toho doporučujeme excizní biopsii, u nodální formy lymfomu tedy obvykle lymfadenektomii.¹

Obr. 1 Diferenciace T lymfocytů v thymu



TOMAN, Miroslav. *Veterinární imunologie*. 2., dopl. a aktualiz. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2464-5.

Obr. 2 Diferenciace B lymfocytů



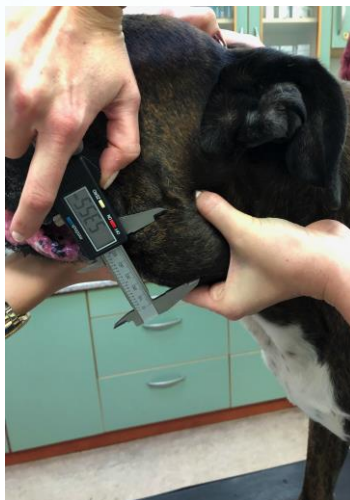
TOMAN, Miroslav. *Veterinární imunologie*. 2., dopl. a aktualiz. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2464-5.

Odběr vzorků, histopatologické vyšetření a imunohistochemie

Jako nejvhodnější metoda diagnostiky lymfomu se ukazuje histopatologické vyšetření, tzv. zlatý standart. Pro toto vyšetření je nutné provedení biopsie. V případě, že vznikne podezření na lymfoproliferativní onemocnění, je vhodné toto vyšetření doplnit o imunohistochemické vyšetření a provedení průtokové cytometrie. K odběru vzorků upřednostňujeme excizní biopsii (lymfadenektomie), která umožňuje detailní vyšetření a typizaci lymfomu, na rozdíl od incizní biopsie.

Dalším krokem v diagnostice může být cytologické vyšetření, které je však pouze orientační. Pomocí tohoto vyšetření jsme schopni vyslovit podezření, že se může jednat o lymfom.⁹ Dále má svůj význam při diagnostice relapsu a v rámci stanovená stádia (staging). Cytologické vyšetření je v tomto případě rychlá, spolehlivá a bezpečná.¹ Pro stanovení úvodní diagnózy je ale nedostatečná a doporučujeme vždy potvrzení a přesnější klasifikaci onemocnění pomocí kombinace histopatologie, imunohistochemie a průtokové cytometrie.¹ Na histopatologické vyšetření odesíláme vzorky odebrané z mírně až středně zvětšených mízních uzlin (při nodální formě) z důvodu lepšího hojení operační rány, snazšího chirurgického zákroku a lepší fixací odebraného vzorku formalínem. Častou obavou majitelů je špatné hojení po provedeném chirurgickém zákroku a časové prodloužení do zahájení léčby způsobené pooperačním hojením. Ze zkušenosti autorů probíhá hojení standardně bez komplikací a u pacientů je možné přibližně 5-7 dní od zákroku zahájit odpovídající onkologickou léčbu. Tato doba obvykle odpovídá dodání konečného výsledku histopatologie a imunohistochemie.¹

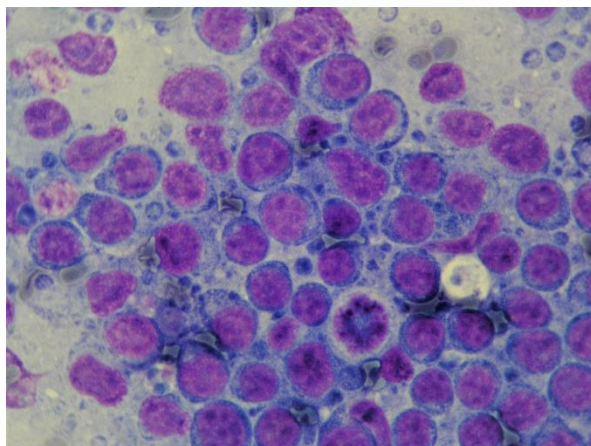
Obr. 3 a 4 Palpace a měření zvětšené submandibulární mízní uzliny



Obr. 5 a 6 Tenkojehelná biopsie a vytvoření cytologického preparátu

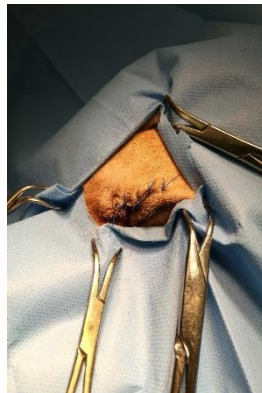


Obr. 7 Cytologické vyšetření



Popis cytologického preparátu: cca 90 % intermediární až velké blasty, mírná indentace jader, multipní jádérka, středně abundanční intenzivně modrá cytoplazma s perinukleárním projasněním, 1 mitotická figura

Obr. 8, 9 a 10 Excizní biopsie mízní uzliny



Histopatologické vyšetření zjišťuje rozsah postižení daných struktur, v rámci infiltrace rozlišujeme formy difúzní a nodulární. Tyto anatomické rozdíly jsou pomocí dalších vyšetření jako je cytologické vyšetření, průtoková cytometrie nebo PARR klonality nezachytitelné.⁹ V případě, že dochází k pokročilé fázi onemocnění, může dojít k vymezení nodulárního charakteru infiltrace, a naopak začíná převládat difúzní charakter onemocnění. Pokud se provádí pouze incizní biopsie, zvyšuje se riziko přehlédnutí původně nodulárních změn, pro které je typické postupné utlačování, nikoliv infiltrace fyziologických struktur.¹⁰ Kromě způsobu infiltrace lymfoidní tkáně a její topografické lokalizace posuzuje patolog invazivitu do okolních struktur, například tkání v blízkosti lymfatického orgánu a cév. Dále se hodnotí cytologická kritéria jako je morfologie a velikost buněk a jejich jader.¹

Imunohistochemie (IHC) představuje nejdůležitější metodu imunofenotypizace pro účely detailní klasifikace lymfomu. Umožňuje vizualizaci nádorového antigenu (Ag) pomocí primárních monoklonálních nebo polyklonálních protilátek (Abs) a detekčního systému. Monoklonální protilátky specifické pro stejný antigen jsou označovány číslem diferenciací skupiny tzv. CD znaky (*cluster of differentiation*) dle *International Leukocyte Typing Workshops*.²

Průtoková cytometrie (FCM) a klonalita lymfocytů (PARR)

Průtoková cytometrie je jedna z dalších metod využívaná v diagnostice onkologických onemocnění, zejm. v hematologii, kdy jsme schopni pomocí monoklonálních protilátek identifikovat jednotlivé subtypy buněk. Principem této metody je analýza znaků nádorových buněk pomocí laserového paprsku, který prochází buňkami protékajícími v kapiláře. Dochází k lomu a rozptylu světla a paprsek je následně transformován na elektrický signál, který je poté analyzován.

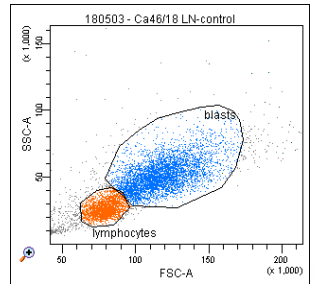
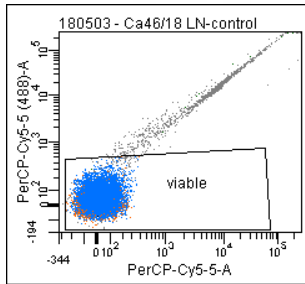
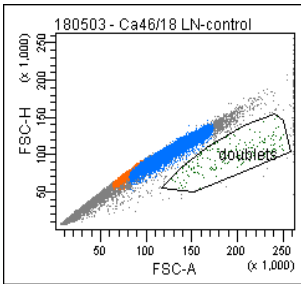
Předností této metody je její rychlost a podrobná typizace buněk. Už během několika hodin jsme schopni zjistit potřebné informace. Mezi základní úlohy FCM patří diagnostika a určení prognózy různých forem lymfomů. Klasifikace je založená na určení T (CD3, CD4, CD5, CD8) nebo B (CD 79a, CD21, MHC II, IgM nebo IgG) lymfoidních znaků, určení stupně maturace lymfocytů – to je důležité při diagnostice jednotlivých typů leukémií a jejich odlišení od Ann Arbor IV. stádia leukemizujících lymfomů v periferní krvi a kostní dřeni.¹³

Neoplazie původem z kostní dřene (akutní leukémie) exprimují na svém povrchu znaky CD34 , jedná se membránový glykoprotein. Většina buněk lymfomu je na přítomnost tohoto glykoproteinu negativní. Pouze T nebo B lymfoblastické lymfomy mohou tento znak vykazovat. Pomocí této metody jsme schopni odlišit dále například thymom od mediastinálního lymfomu, kde se liší procentuální zastoupení populací CD4+ a CD8+.¹⁴ Průtokovou cytometrii lze dále využívat k zjištění stádia onemocnění, zejm. odlišení Ann Arbor stádia I-III od IV. Na základě určení základní buněčné linie a posouzení prognostických markerů jsme schopni lépe předvídat očekávanou prognózu a odezvu na zvolenou chemoterapii. Nevýhodou však stále zůstává to, že v České republice vyšetření nabízí pouze Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně a zahraniční laboratoře v českém zastoupení. Vzorky je vhodné vyšetřit v co nejkratší době po odběru, ideálně 24 hodin (maximálně 48 hodin). Lymfocyty a lymfoblasty jsou extrémně náchylné k poškození, z toho důvodu je nutné předcházet kontaminaci cizorodým materiálem.¹⁰ Odebraný materiál je přenesen do tekutého média např. fyziologický roztok, v případě aspirátu kostní dřene, krve a jiných tělesných tekutin je vhodné využití roztoku EDTA.

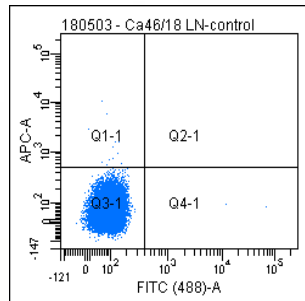
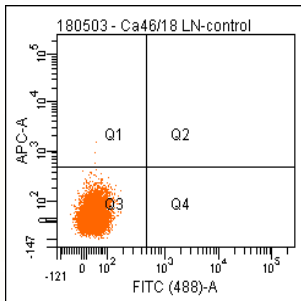
Obr. 11 Dot-plot B lymphom

Tube: control

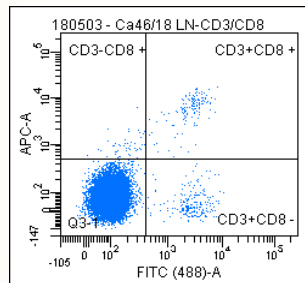
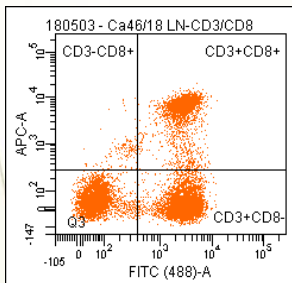
Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	52,235	###	100.0
doublets	194	0.4	0.4
single cells	52,041	99.6	99.6
plate	45,878	87.9	87.4
lymphocytes	12,116	28.5	23.2
o1	3	0.0	0.0
o2	0	0.0	0.0
o3	12,112	100.0	23.2
o4	0	0.0	0.0
blasts	23,547	51.5	45.1
o1-1	17	0.1	0.0
o2-1	0	0.0	0.0
o3-1	23,528	99.9	45.0
o4-1	2	0.0	0.0



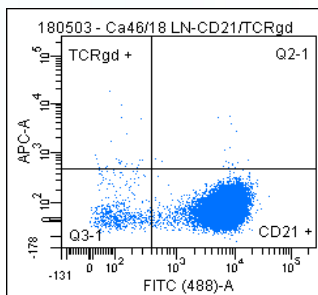
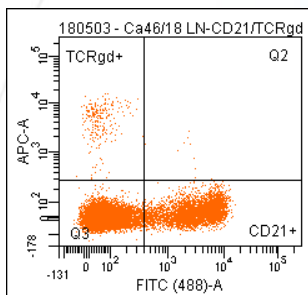
Kontrola:



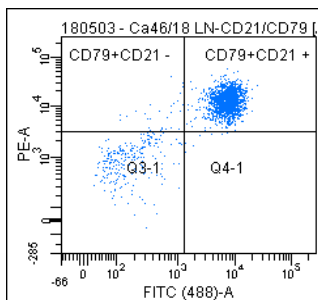
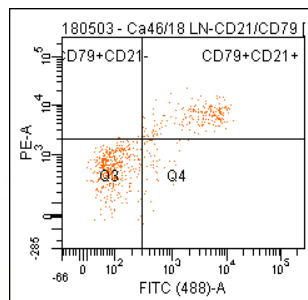
CD3/CD8:



TCRgd/CD21:



CD79/CD21:



Analyza bunek ziskanych aspiraci z mizni uzliny. Prutokova cytometrie rozlisi ruzne bunecne typy mezi sebou v analyzovane populaci bunek. Rozlišení je založeno na přítomnosti a nepřítomnosti vybraných znaků (velikost a granularita buněk, CD znaky) u každé z vyšetřovaných buněk. Předložený obrázek ilustruje analýzu populace buněk složenou z několika na sebe navázaných kroků (tzv. *GATING STRATEGY*). Nejprve byly pro analýzu vybrány jednotlivé buňky (*single cells*) a vyloučeny shluky a dvojice buněk (*doublets*). Z jednotlivých buněk byly vybrány pouze živé (*viable*). Živé buňky byly na základě jejich morfologických vlastností (velikost a granularita) rozděleny na subpopulaci menších lymfocytů a větších blastů. U obou subpopulací byla stanovena přítomnost vybraných CD znaků (CD3 a CD8 typické pro T-buňky a CD79 a CD21 typické pro maturované B-buňky).

K analýze byl použit průtokový cytometr LSRFortessa cell analyzer (Becton-Dickson, San Jose, USA) a software BD FACSDiva Software (Becton-Dickson, San Jose, USA).

Klonalita lymfocytů, neboli PARR je po histopatologickém a cytologickém vyšetření a průtokové cytometrii vhodnou doplňkovou metodou diagnostiky lymfomu u psů a koček.¹² Pomocí PARR jsme schopni rozpoznat mono-/oligoklonální populaci lymfocytů typickou pro lymfomy oproti polyklonální populaci u reaktivních lymfocytárních procesů. Určení klonality B a T receptorů buněk je po morfologickém vyšetření (histopatologie a cytologie) a průtokové cytometrii dobrou doplňkovou metodou diagnostiky lymfomu u psů a koček. Principem je PCR analýza T-buněčných receptorů (TCR) u T-buněk a receptorů pro imunoglobulin (Ig) u B-buněk. U nenádorové populace je výsledkem to, že se každý lymfocyt svým TCR nebo Ig receptorem mírně liší ve velikosti a složení genu pro TCR či Ig receptor a výsledek klonality lymfocytů je tak různorodý (polyklonální). Oproti tomu nádorové buňky jsou klonem mateřské buňky a proto mají totožnou přestavbu genu pro receptorový antigen, který je pomocí klonality lymfocytů vyhodnocen jako monoklonální. Pokud neoplastická populace vychází z více klonů buněk, může být vzácně detekována jako bi- nebo triklonální. Vzorky pro toto vyšetření mohou být jak tělní tekutiny, tak aspiráty orgánů či samotná krev. Materiál může být zaslán v mediu (např. EDTA) nebo fixovány na mikroskopickém sklíčku. Výhodou této metody je, že lze vyšetřovat i preparáty fixované ve formalínu. V současné době je klonalita důležitá zejm. ve sledování minimální reziduální choroby (MRD), která spočívá v identifikaci nádorových buněk během i po provedené léčbě, kdy je pacient klinicky v kompletní remisi (cCR), ale při pozitivním nálezů MRD není v kompletní molekulární remisi (mCR). Pozitivní výsledek MRD v průběhu léčby koreluje s horším přežíváním pacientů a je indikací k intenzivnější nebo udržovací terapii.¹⁵

Klinická manifestace

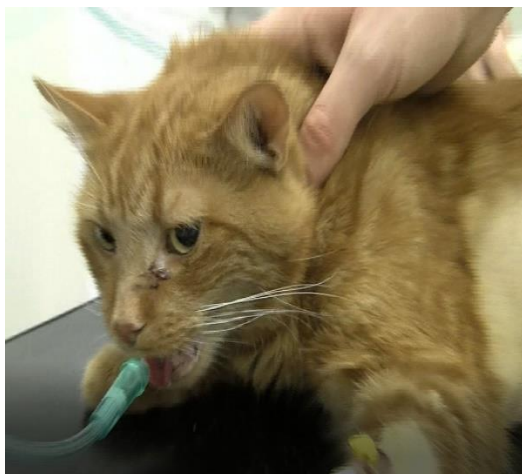
Nejčastěji vyskytující se forma lymfomu je tzv. nodální. Při tomto onemocnění dochází ke zvětšení periferních mízních uzlin. Dále se setkáváme s formou extranodální, zahrnující např. alimentární lymfom, mediastinální, hepatický, splenický, oční, kožní, CNS nebo plicní lymfom. Klinické příznaky těchto onemocnění mohou být značně rozdílné a nespecifické.¹⁶

Nodální (multicentrický) lymfom tvoří až 75% všech případů.¹⁷ Pro tento typ onemocnění je typické zvětšení periferních mízních, které mohou dosahovat několikanásobné velikosti zdravé mízní uzliny avšak obvykle bývají nebolestivé. Dle světové zdravotnické organizace rozlišujeme 5 stádií (viz. tabulka č.3¹⁸), které se mohou dále dělit na substádia „a“ a „b“ dle přítomnosti nebo absence systémových klinických příznaků.

Alimentární lymfom je častým onemocněním zejm. u koček. U psů je popisována predispozice k tomu onemocnění především u plemen jako jsou boxer a shar-pei.¹⁹ Gastrointestinální lymfom může být prezentováno jako solitární léze nebo multifokální či difúzní onemocnění.¹⁶ U koček může infekce *Helicobakterem* zvyšovat riziko vzniku alimentárního lymfomu.²⁰ Klinické příznaky jsou značně heteroechoenní a mohou připomínat gastroenteritidu. Objevuje se např. průjem, hubnutí, zvracení, nechutenství. Kromě stěny střeva nebo žaludku mohou být postiženy i mezenterické mízní uzliny.²⁰

S mediastinálním lymfomem se často setkáváme u mladších psů a téměř výlučně je tvořen T-buňkami.²¹ Mezi běžné klinické příznaky u této formy onemocnění patří dušnost (dyspnoe), kašel a intolerance zátěže. Může také docházet k tvorbě pleurální efuze. Prekavální syndrom se může rozvinout v důsledku špatného venózního návratu. Pro tento syndrom je charakteristický otok hlavy, krku a předních končetin.

Obr. 12 Dyspnoe u pacienta s mediastinální formou lymfomu



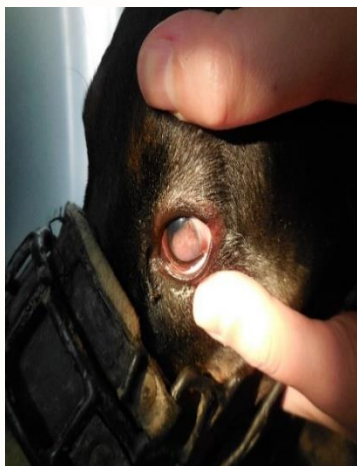
Primární hepatický lymfom je méně častá forma lymfomu a prognóza tohoto onemocnění je horší než u některých jiných forem lymfomu.²² Tento lymfom má tendenci k agresivnímu průběhu onemocnění.²³ Klinické příznaky jsou velmi nespecifické a mohou zahrnovat abdominální bolestivost, zvracení, apatii, nechutenství, ascites.

Obr. 13 a 14 Pacient s ascitem



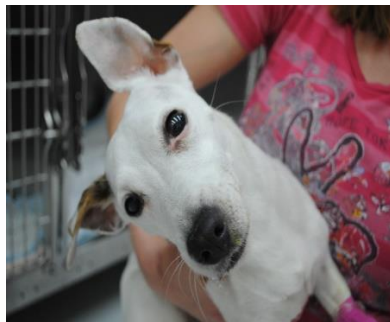
Primární periokulární lymfom je relativně vzácný typ onemocnění a obvykle je spojen s výskytem uveitidy.¹⁶ Oční postižení můžeme často pozorovat u psů s nodálním lymfomem.²⁴ Mnohdy se jedná o B-lymfom. Klinická manifestace tohoto onemocnění může zahrnovat glaukom a uveitidu (unilaterální je více častá než bilaterální).²⁵ Majitel tedy může pozorovat zvýšený slzotok, zarudnutí spojivky, episklérový edém, bolestivost oka, apatii a mnoho dalších.

Obr. 15 a 16 Lymfom duhovky



Ačkoliv prevalence psího lymfomu postihujícího CNS není vysoká²⁶, nedávné studie prokázaly přítomnost intrakraniálního lymfomu u 4% pacientů s primárním mozkovým nádorem.²⁷ Diagnostika tohoto onemocnění může být velmi obtížná, vzhledem k přítomnosti nespecifických klinických příznaků.²⁶ K prokázání onemocnění se využívá cytologické vyšetření mozkomíšního moku společně s provedením magnetické rezonance. Mezi časté klinické příznaky patří, náklon hlavy, slabost, ataxie, změny mentálního stavu, záchvaty, parézy/paralýzy a v některých případech diabetes insipidus.²⁸

Obr. 17 a 18 Pacienti s vestibulárním syndromem

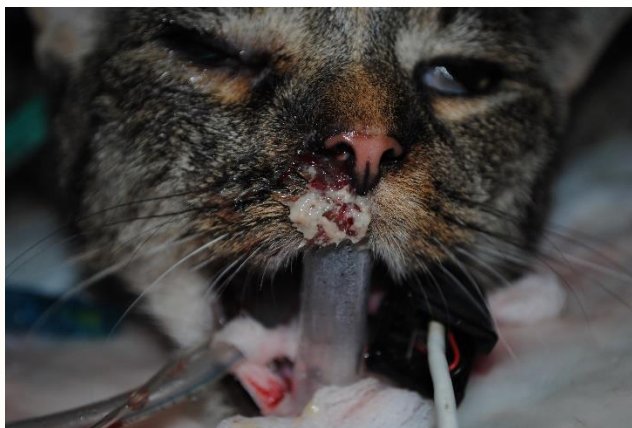


Kožní lymfom je typický lymfom T-buněk. Časteji se setkáváme s epiteliotropním typem (tvořen právě T-buňkami) než s neepiteliotropním.¹⁶ Zákeřnost kožního lymfomu může spočívat v jeho zaměnitelnosti s jiným dermatologickým onemocněním. Mezi příznaky může patřit například šupinatění a zarudnutí (tzv. exfoliativní erythroderma), multifokální alopecie, mukokutánní depigmentace, eroze a ulcerace, zarudnutí sliznice dutiny ústní, solitérní erytromatózní makuly.

Pacienta může často trápit mírný až velmi silný pruritus.³⁰ K tomuto typu onemocnění jsou predisponovaná plemena jako je boxer nebo anglický kokršpaněl.²⁹ Náchylnější mohou být pacienti trpící atopickou dermatitidou. U těchto zvířat je až 10x vyšší incidence kutánního lymfomu.

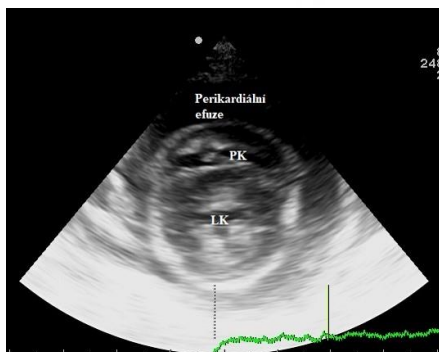
Felinní nazální lymfom koček je řazen mezi extranodální lymfomy a představuje 5-10% všech kočičích lymfomů. Tento typ onemocnění se prezentuje příznaky, které vznikají v důsledku poškození anatomických struktur např. chronické rhinitidy, otok nosu a okolních tkání, epistaxe, infiltrativní růst do dutiny nosní, ústní a orbity, který může vést až k poruchám zraku a v krajním případě až invazivní růst do cerebrální oblasti s následným rozvojem neurologických příznaků. Stejně jako u ostatních forem se i u této mohou rozvinout systémové příznaky.³¹

Obr. 19 Výtok z dutiny nosní u pacienta s nazálním lymfomem



Existují i atypické formy lymfomu, které mohou postihnout jakýkoliv orgán nebo strukturu v těle např. skeletální³², renální³³, adrenální³⁴, lymfom srdce a osrdečníku³⁵, lymfom prostaty, močového měchýře, synoviální membrány, orální, periapikální a mnoho dalších.¹⁶

Obr. 20 a 21 Perikardiální efúze viditelná při ultrasonografickém vyšetření srdce a aspirát získaný při perikardiocentéze



Paraneoplastický syndrom

Paraneoplastický syndrom (PNS) je souhrn klinických příznaků způsobených biologicky aktivními látkami jsou například hormony, růstové faktory, cytokiny, které jsou produkovány tumorem. Mezi významné příznaky patří hyperkalcémie, která způsobuje poškození ledvinných tubulů, je nepříznivým prognostickým faktorem a u lymfomu se vyskytuje v 10-40% případů. Příznaky mohou zahrnovat polydipsii a polyurii, apatii, anorexii, slabost, zvracení, bradykardii a neurologické příznaky. Anémie je nejčastějším příznakem paraneoplastického syndromu. Může zahrnovat erytrocytózu, neutrofilii, trombocytopenii.

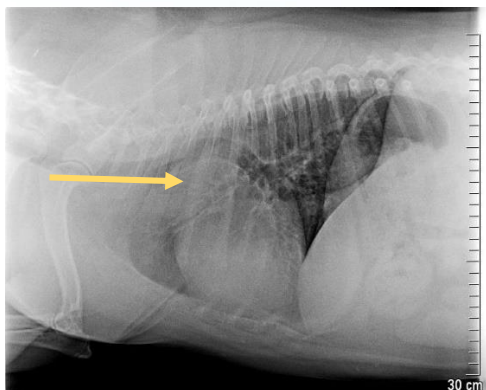
V tomto případě můžeme pozorovat bledé sliznice, petechie a krváceniny, náchylnost pacienta k infekcím. Dále se PNS může projevat např. hyperglobulinémií, horečkou, méně často neuromuskulárními poruchami (myastenia gravis, periferní polyneuropatie).

Zobrazovací metody v diagnostice lymfomu

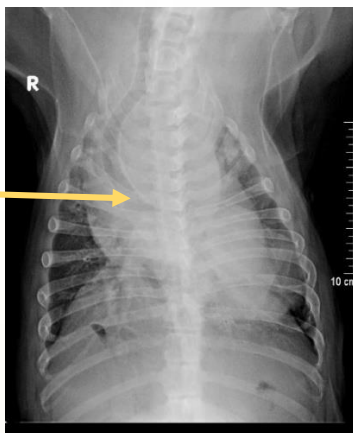
Pro diagnostiku lymfomu a zjištění stádia onemocnění se kromě klinického vyšetření využívají i zobrazovací metody.

Rentgenologické vyšetření hrudníku a břicha je jednou ze základních metod používaných při vyšetřování pacientů a pomocí těchto snímků jsme schopni odhalit některé morfologické abnormality. Mnohdy se však jedná o nespecifické nálezy, díky kterým lze brát lymfom jen jako jednu z možných diagnóz. Častěji se setkáváme s výskytem multipních změn.³⁶ Vždy je nutné provádět nejméně dvě na sebe kolmé projekce. Častým nálezem je lymfadenomegálie (sternální nebo tracheobronchiální) a to až v 70% případů psího lymfomu¹⁶, plicní infiltrace, mediastinální masa, pleurální efuze příp. rozšíření kraniálního mediastina.³⁶ Plicní vzory, které byly popsány u koček nebo psů s předpokládaným plicním lymfomem, jsou nestrukturní intersticiální, retikulo-nodulární, alveolární a nodulární.³⁷ Jsou popsány případy výskytu skeletálního lymfomu, i v těchto případech je vhodné provést rentgenologické vyšetření skeletu pro zjištění osteolytických změn³⁸, která je však patrná až při určitém stupni demineralizace (kortex až 30%, medula 50-60%). Absence radiologických abnormalit může znamenat lepší prognózu pro pacienta.³⁶

Obr. 22 Přítomnost mediastinální masy v blízkosti srdeční báze (LL projekce)

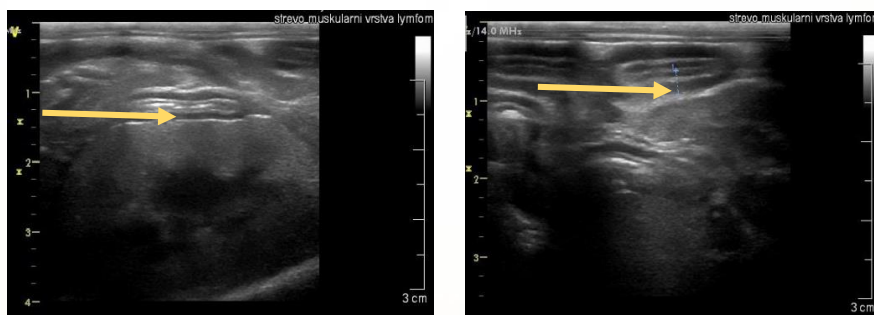


Obr. 23 Přítomnost kraniální mediastinální masy v hrudníku (DV projekce)



Další metodou využívanou v diagnostice a stagingu psího lymfomu může být ultrasonografické vyšetření abdomenu. Toto vyšetření je užitečné zejména pro detekci zvětšených mízních uzlin a zjištění jejich echotextury.¹⁶ Kromě mízních uzlin se posuzuje vzhled parenchymatózních orgánů – jater, sleziny, ledvin (především jejich echogenita a přítomnost nodulárních změn)³⁹. Dále posuzujeme stěnu gastrointestinálního traktu (stratifikace a tloušťka jednotlivých vrstev), močový měchýř a ostatních anatomických struktur uložených v dutině břišní. Při alimentárním lymfomu je častým nálezem zesílení muskulární vrstvy stěny žaludku a střeva, dále může být pozorována ztráta normální stratifikace jednotlivých vrstev stěny gastrointestinálního traktu, zesílení stěny žaludku, a to buď fokální nebo difúzní, přítomnost hypoechogenní struktury v GIT.⁴⁰

Obr. 24 a 25 Zesílená muskulární vrstva tenkého střeva u kočky

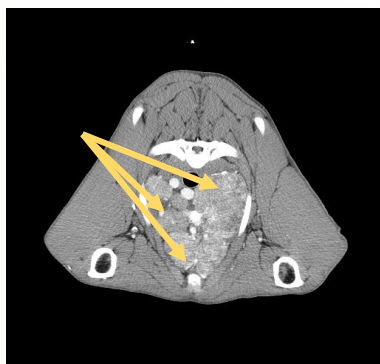


Dle Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) lze pro diagnostiku lymfomu využít vyšetření pomocí počítačové tomografie (CT) nebo pozitronová emisní tomografie (PET). Díky těmto metodám jsme schopni určit rozsah onemocnění dle morfologických změn, nelze však pouze na základě CT nebo PET vyšetření určit jednoznačnou diagnózu.^{16,41} Tu nám přinese pouze histopatologické vyšetření.

CT vyšetření je pro určení rozsahu primárního procesu i pro hledání případných vzdálených metastáz více senzitivní než nativní RTG snímky. CT pracuje na principu rentgenových paprsků stejně jako klasický RTG přístroj, avšak nespornou výhodou CT zobrazování je možnost zobrazování jednotlivých struktur bez superpozice s ostatními strukturami a možností zobrazení v kranio-kaudálním pohledu v podobě jednotlivých řezů vyšetřovanou strukturou (ať už se jedná o dutinu břišní, hrudní, končetinu nebo hlavu pacienta). Důležitým bodem CT vyšetření je nastavení tloušťky jednotlivých řezů vyšetřované oblasti. Pokud bychom chtěli například hledat vzdálené metastázy v plicním parenchymu, je vhodné nastavit nejtenčí možné řezy, které konkrétní CT přístroj nabízí (např. 0,625 mm). Pokud bychom měli řezy tlustší (např. 2,5 mm), hrozilo by riziko minutí případných drobných metastáz. Metastázy v plicním parenchymu můžeme při CT vyšetření vidět již okolo 1 mm jejich velikosti, kdežto při RTG vyšetření hrudníku, jsou případné metastázy viditelné až od velikosti zhruba 3 – 5 mm.

Další nezpochybnitelnou výhodou CT vyšetření ve srovnání s RTG je možnost angiografie, tzn. kontrastní vyšetření aplikací kontrastní látky intravenózně. Dle intenzity prokrvení případných nodulárních změn ve vyšetřované oblasti jsme schopni vyjádřit podezření na přítomnost neoplastického procesu.

Obr. 26 Masa v kraniálním mediastinu syčená kontrastní látkou při kontrastním CT vyšetření



PET (pozitronová emisní tomografie) je založena na principu aplikace radiofarmaka pacientovi. Postupně dochází k rozpadu radiofarmaka a uvolňování pozitronů, které je schopen detekovat přístroj. Na základě distribuce pozitronů ve změněné tkáni, můžeme usuzovat o případné neoplazii. Pro vyšší senzitivitu a detailnější zobrazení jednotlivých struktur, byly sestaveny hybridní přístroje kombinující PET s magnetickou rezonancí nebo počítačovou tomografií (PET/CT, PET/MRI). Nevýhodou těchto vyšetření je jejich vysoká cena a nedostupnost pro veterinární použití v ČR.

Terapie

Možnosti léčby psího lymfomu je několik. Stanovení nejvhodnějšího léčebného protokolu vychází ze všech získaných dat během klinických a paraklinických vyšetření pacienta. V současné době je ve veterinární medicíně dostupných několik léčebných postupů a to sice léčba glukokortikoidy, chemoterapie, radiační terapie a postupně se rozvíjející imunoterapie. V některých případech může být kurativní i samotný chirurgický zákrok. Je na veterinárním lékaři, aby zhodnotil, jaká léčba je pro pacienta nejvhodnější a přinese mu co nejvíc benefitů. Cílem může být jak úplné vyléčení, tak prodloužení a zkvalitnění života pacienta.

Glukokortikoidy jsou steroidní hormony produkované kůrou nadledvin, které umožňují tělu nakládat se sacharidy, bílkovinami a tuky. Dále indukují apoptózu (buněčnou smrt) lymfocytů a jejich prekurzorů a často jsou využívány v léčbě psího lymfomu jako součást paliativní léčby.¹⁶ Při dlouhodobějším použití mohou tyto látky způsobit rezistenci organismu na cytostatika, což může vést ke zhoršené odpovědi na chemoterapii. Při paliativním použití může nastat částečná až kompletní remise po dobu 60-90 dní.⁴³ Kvůli vysokým dávkám glukokortikoidů podávaných onkologickým pacientům pro docílení požadovaného efektu je vhodné podávat gastroprotektiva, jako prevenci gastroduodenálních erozí a ulcerací.

Chemoterapie

Vzhledem k systémové povaze onemocnění je chemoterapie často vhodnou léčbou. Cílem této léčby je dosažení co nejdélejší doby remise s co nejnižším počtem aplikací.¹⁶ Existuje velké množství léčebných protokolů, které se mohou skládat z jednotlivých cytostatik (monoterapie, single-agent therapy) nebo jejich kombinací (kombinované protokoly, multi-agent therapy). Mezi single-agent therapy patří léčebný protokol sestávající např. doxorubicinu, l-asparaginázy, CCNU a dalších.¹⁶ Některá cytostatika se podávají pacientovy nitrožilně v krátkodobé infúzi nebo formou bolu, některá se mohou podávat perorálně. Kombinované protokoly jsou sestaveny z více cytostatik v různých kombinacích. Tato léčiva se aplikují v tzv. cyklech po jejichž podání se hodnotí účinnost. Mezi běžně podávané kombinované protokoly řadíme např. CHOP protokol (kombinace cyklofosfamidu, doxorubicinu, vinkristinu a prednisonu), COP protokol (cyklofosfamid, vinkristin, prednison), CHOP-L protokol (cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin, prednison, L-asparagináza). V případě, že pomocí základní léčby není dosaženo požadovaných výsledků, nebo dojde k opětovnému propuknutí onemocnění (tzv. relaps) lze nasadit „rescue protokol“. Výběr záchranného protokolu je ovlivněn dobou, ve které došlo k recidivě a cytostatiky které byly použity v první fázi léčby. Mezi tyto protokoly mohou patřit např. CCNU (lomustin), DMAC (dexamethason, melphalan, actinomycin D, cytosin arabinosid), LOPP (lomustin, vinkristin, procarbazin, prednisolon), MOPP (mechlorethamin, vinkristin, procarbazin, prednisolon) apod. Aplikace cytostatik sebou nese riziko vzniku nežádoucích účinků. Těmto vedlejším účinkům lze do určité míry předcházet použitím léčiv, jako jsou například antiemetika, gastroprotektiva, diuretika. Před aplikací cytostatik se provádí klinické vyšetření pacienta a kontrolní odběr venózní krve pro zjištění aktuálního zdravotního stavu. Aplikace je prováděna ambulantně, v případě že pacient nevykazuje žádné známky nežádoucích účinků léčiva, je propuštěn ihned po aplikaci.

Většina cytostatik je vylučována močí nebo trusem, z toho důvodu je nutné obezřetné zacházení s výkaly. Doporučeno je psy venčit mimo komunitní prostranství, při odstranění exkrementů je vhodné používat gumové rukavice, jednorázové utěrky a dvojitě jednorázové sáčky.⁴⁴

Radiační terapie

V některých případech je indikován tento způsob léčby (např. nazální lymfom, lymfom močového měchýře⁴²). Radiační terapie může být sama o sobě kurativní, nebo se využívá v kombinaci s chemoterapií.¹⁶ Principem radiační terapie je využití ionizujícího záření, díky kterému dochází k poškození nádorových buněk a jejich smrti. Cílem je dostat maximální množství energie záření do neoplastické oblasti a současně nepoškodit okolní zdravou tkáň. Při ionizaci elektron vyletí z atomu a tento se přemění na kladný ion a elektron. Dochází-li k absorpci energie záření přímo v jádře, hovoříme o přímé ionizaci. Způsobí-li ionizace radiolýzu vody za vzniku radikálů ($H\bullet$ a $OH\bullet$), které následně poškodí DNA, dochází k nepřímé ionizaci. Radikály dále reagují s molekulami DNA, způsobují zlomy vláken a jsou tedy příčinou poškození. Vznikají změny ve struktuře a biosyntéze DNA. Dále může dojít k nejružnějším mutacím (genetickým či somatickým). Pacient při tomto ošetření musí být nehybný, to je zajištěno krátkou anestézií. Během celého procesu jsou pacientovi monitorovány životní funkce a bezprostředně po ošetření dochází k probuzení z anestézie. Následně je pacient propuštěn do domácí péče. Počet cyklů se odvíjí od typu a stádia onemocnění.

Imunoterapie je součástí léčby onkologických pacientů v humánní medicíně, ve veterinární medicíně je její použití stále omezené. Popsáno je zejména využití MAb-231 (murine anti-canine lymphoma monoclonal antibody) a L243 (murine anti-human leukocyte antigen-DR monoclonal antibody) ale došlo pouze k dočasné stabilizaci progresi onemocnění.^{16,45} Použití autologní vakcíny sestávající z hydroxyapatitového keramického prášku s autologními „heat shock“ proteiny získaných z neoplastické lymfatické uzliny se ukázalo jako účinné pro kontrolu onemocnění bez zvýšení toxicity.⁴⁶

Prognóza

Stanovení prognózy zahrnuje zejm. důkladnou diagnostiku, aktuální klinický stav pacienta a přítomnost paraneoplastického syndromu. Je nutné brát lymfom jako skupiny různých onemocnění a k léčbě přistupovat velmi individuálně stejně tak, jako k vyslovení prognózy. Obecně lze říci, že extranodální lymfomy mají horší prognózu než lymfomy nodální.¹⁶ Léčba glukokortikoidy před zahájením chemoterapie snižuje míru odpovědi na chemoterapii.⁴⁷ Negativním prognostickým faktorem je i nekompletní odpověď po zahájení léčby. Hyperkalcémie může znamenat horší prognózu v případě že se jedná o B-lymfom.¹⁶ V minulosti se mělo za to, že B-lymfom má obecně lepší prognózu než T lymfom, nyní víme, že např. T-zónový lymfom je low-grade lymfom typicky diagnostikovaný u starších (středních 10 let) zlatých retrieverů s lymfadenopatií a periferní lymfocytózou a vykazuje dobrou prognózu (medián přežití 637 dnů).⁴⁸ V humánní medicíně byl zaveden tzv. IPI (International Prognostic Index).¹⁶ Do výpočtu jsou zahrnuty následující kritéria: věk pacienta, hladina LDH v krevním séru, extranodální postižení a výkonnostní stav pacienta. Ve veterinární medicíně podobný systém doposud zaveden nebyl.



Tabulka 1: Přehled vybraných typů B-lymfomu dle adaptované WHO klasifikace

Prekurzorové neoplazie
B-lymfoblastická leukémie/lymfoblastický lymfom
Nodální neoplazie z plášťové zóny
Nodální lymfom plášťové zóny
Splenický lymfom plášťové zóny
Nodální neoplazie z germinálního centra
Nodální folikulární lymfom
Nodální velkobuněčný B-lymfom, centroblastický typ
Velkobuněčný B-lymfom bohatý na T-lymfocyty a histiocyty
Primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom
Burkittův lymfom/leukémie
Burkittovy-podobný lymfom
Nodální neoplazie z marginální zóny
B-malobuněčný lymfocytární lymfom/ chronická lymfocytární leukémie
Lymfoplazmacytický lymfom
Splenický lymfom marginální zóny
Nodální lymfom marginální zóny
Nodální difúzní velkobuněčný B-lymfom, imunoblastický typ
Plazmablastický lymfom
Extranodální neoplazie
Primární kutánní lymfom z plášťové zóny
Primární kutánní folikulární lymfom
Primární difúzní velkobuněčný B-lymfom centrálního nervového systému (CNS)
Primární kutánní difúzní velkobuněčný B-lymfom
Lymfom marginální zóny z lymfatické tkáně asociované se sliznicí (<i>MALT lymphoma</i>)
Multipní myelom/solitární plasmocytom kosti
Extraosseální plasmocytom
Primární efuzivní lymfom
Intravaskulární velkobuněčný B-lymfom

Tabulka 2: Přehled vybraných typů T- a NK-lymfomu dle adaptované WHO klasifikace

Prekurzorové neoplazie
T-lymfoblastická leukémie/lymfoblastický lymfom
Nodální neoplazie
T-zonární lymfom
Nodální periferní T-lymfom
Angioimunoblastický T-lymfom
Nodální anaplastický velkobuněčný T-lymfom
Hepatosplenický gamma/delta T-buněčný lymfom
Extranodální neoplazie
Mycosis fungoides
Pagetoidní retikulóza
Sézaryho syndrom
Primární kutánní anaplastický velkobuněčný T-lymfom
Subkutánní panikulitidu připomínající T-lymfom
Primární kutánní CD8+ agresivní epiteliotropní cytotoxický T-lymfom
Primární kutánní CD4+ T-lymfom z malých až středních lymfocytů
S enteropatií-asociovaný T-lymfom
Angiocentrický T-lymfom
Periferní T-buněčný lymfom bez bližší specifikace
T-buněčná prolymfocytární leukémie
T-buněčná leukémie z velkých granulárních lymfocytů
Agresivní NK-leukémie

Tabulka 3. Stádia multicentrického psího lymfomu dle Světové zdravotnické organizace (WHO) ¹⁸

Stádium	
I	Postižená je jedna mízní uzlina nebo lymfatická tkáň v jednom orgánu (kromě kostní dřeně)
II	Postižení více mízních uzlin v rámci jednoho régia
III	Generalizované zvětšení mízních uzlin
IV	Stádium I-III společně s postižením jater a/nebo sleziny
V	Stádium I-IV společně s postižením krve nebo kostní dřeně
Substádium	
a	Absence systémových klinických příznaků
b	Přítomnost klinických systémových příznaků (horečka, ztráta hmotnosti o více než 10%, hyperkalcémie)

Literatura:

1. ŠKOR, Ondřej. Klasifikace lymfomů. In: CAVLMZ [online]. Brno [cit. 2018-11-08]. Dostupné z: <https://www.cavlmz.cz/sekce/onkologicka-sekce/specialni-veterinarni-onkologie/onkologicka-onemocneni-hematopoetickeho-systemu/lymfom/lymfom-psu/klasifikace-lymfomu/>
2. Swerdlow, S. H., Campo, E., Pileri, S. A., Harris, N. L., Stein, H., Siebert, R., Jaffe, E. S. (2016). The 2016 revision of the World Health Organization (WHO) classification of lymphoid neoplasms. *Blood*, blood-2016.
3. Sabattini, E., Bacci, F., Sagramoso, C., Pileri, S. A. (2010). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview. *Pathologica*, 102(3), 83-87.
4. Valli, V. E., Myint, M. S., Barthel, A., Bienzle, D., Caswell, J., Colbatzky, F., Kiupel, M. (2011). Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. *Veterinary pathology*, 48(1), 198-211.
5. Melnyk, A., Rodriguez, A., Pugh, W. C., & Cabannillas, F. (1997). Evaluation of the Revised European-American Lymphoma classification confirms the clinical relevance of immunophenotype in 560 cases of aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*, 89(12), 4514-4520.
6. Harris, N. L., Jaffe, E. S., Diebold, J., Flandrin, G., Muller-Hermelink, H. K., Vardiman, J., Bloomfield, C. D. (1999). The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997. *Annals of Oncology*, 10(12), 1419-1432.
7. Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M. J. (2005). Immunobiology: the immune system in health and disease.
8. Wolfesberger, B., Skor, O., Hammer, S. E., Flickinger, I., Kleiter, M., Rütgen, B. C., Fuchs-Baumgartinger, A. (2017). Does categorisation of lymphoma subtypes according to the World Health Organization classification predict clinical outcome in cats?. *Journal of feline medicine and surgery*, 19(8), 897-906.
9. Marconato, L., Polton, G. A., Sabattini, S., Dacasto, M., Garden, O. A., Grant, I., Stefanello, D. (2017). Conformity and controversies in the diagnosis, staging and follow-up evaluation of canine nodal lymphoma: a systematic review of the last 15 years of published literature. *Veterinary and comparative oncology*, 15(3), 1029-1040.
10. Frederiksen, J. K., Sharma, M., Casulo, C., Burack, W. R. (2015). Systematic review of the effectiveness of fine-needle aspiration and/or core needle biopsy for subclassifying lymphoma. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 139(2), 245-251.

11. Reggeti, F., Bienzle, D., 2011. Flow Cytometry in Veterinary Oncology. *Veterinary Pathology* 48, 223-235.
12. Burkhard, M.J., Bienzle, D., 2013. Making Sense of Lymphoma Diagnostics in Small Animal Patients. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal practise* 43, 1331–1347.
13. Avery, P.R., Burton, J., Bromberek, J.L., Seelig, D.M., Elmslie, R., Correa, S., Ehrhart, E.J., Morley, P.S., Avery, A.C., 2014. Flow cytometric characterization and clinical outcome of CD4+ T-cell lymphoma in dogs: 67 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28, 538-546.
14. Lana, S., Plaza, S., Hampe, K., Burnett, R., Avery, A.C., 2006. Diagnosis of mediastinal masses in dogs by flow cytometry. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20, 1161-1165.
15. Yamazaki J., Baba K., Goto-Koshino Y., et al., 2008. Quantitative assessment of minimal residual disease (MRD) in canine lymphoma by using real-time polymerase chain reaction. *Veterinary Immunology Immunopathology* 126, 321–31.
16. ZANDVLIET, M. Canine lymphoma: a review. *Veterinary Quarterly*[online]. 2016, **36**(2), 76-104 [cit. 2018-11-08]. DOI: 10.1080/01652176.2016.1152633. ISSN 0165-2176.
17. Ponce F, Marchal T, Magnol JP, Turinelli V, Ledieu D, Bonnefont C, Pastor M, Delignette ML, Fournel-Fleury C. 2010. A morphological study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between canine and human lymphoma morphology. *Vet Pathol.* 47:414-433.
18. Owen LN, editor. 1980. TNM classification of tumours in domestic animals. 1st ed. Geneva: World Health Organization.
19. Coyle KA and Steinberg H. 2004. Characterization of lymphocytes in canine gastrointestinal lymphoma. *Vet Pathol.* 41:141-146.
20. BRIDGEFORD, Erin C., Robert P. MARINI, Yan FENG, Nicola M.A. PARRY, Barry RICKMAN a James G. FOX. Gastric Helicobacter species as a cause of feline gastric lymphoma: A viable hypothesis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* [online]. 2008, **123**(1-2), 106-113

21. Fournel-Fleury C, Ponce F, Felman P, Blavier A, Bonnefont C, Chabanne L, Marchal T, Cadore JL, Goy-Thollot I, Ledieu D, et al. 2002. Canine T-cell lymphomas: a morphological, immunological, and clinical study of 46 new cases. *Vet Pathol.* 39:92-109.
22. Keller SM, Vernau W, Hodges J, Kass PH, Vilches-Moure JG, McElliot V, Moore PF. 2013. Hepatosplenic and hepatocytotropic T-cell lymphoma: two distinct types of T-cell lymphoma in dogs. *Vet Pathol.* 50:281-290.
23. Dank G, Rassnick KM, Kristal O, et al. Clinical characteristics, treatment, and outcome of dogs with presumed primary hepatic lymphoma: 18 cases (1992–2008). *J Am Vet Med Assoc.* 2011;239:966-971.
24. Krohne SG, Henderson NM, Richardson RC et al. Prevalence of ocular involvement in dogs with multicentric lymphoma prospective evaluation of 94 cases. *Veterinary Comparative Ophthalmology* 1994; 4: 127–135
25. LANZA, Matthew R., Ayla R. MUSCIANO, Richard D. DUBIELZIG a Amy C. DURHAM. Clinical and pathological classification of canine intraocular lymphoma. *Veterinary Ophthalmology* [online]. 2018, 21(2), 167-173
26. LARUE, M. K., A. R. TAYLOR, A. R. BACK, et al. Central nervous system lymphoma in 18 dogs (2001 to 2015). *Journal of Small Animal Practice* [online]. 2018, 59(9), 547-552 [
27. Snyder, J. M. , Shofer, F. S. , Winkle, T. J. , et al. (2006) Canine intracranial primary neoplasia: 173 cases (1986-2003). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20, 669-675
28. Couto CG, Cullen J, Pedroia V, Turrel JM. 1984. Central nervous system lymphosarcoma in the dog. *J Am Vet Med Assoc.* 184:809-813
29. FONTAINE, J., C. BOVENS, S. BETTENAY a R. S. MUELLER. Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review. *Veterinary and Comparative Oncology* [online]. 2009, 7(1), 1-14
30. RYBNÍČEK, Jan. EPITELIOTROPNÍ LYMFOM. In: CAVLMZ [online]. Brno [cit. 2018-11-08].

31. ŠKOR, Ondřej. KOČÍČÍ NAZÁLNÍ LYMFOM. In: CAVLMZ [online]. Brno [cit. 2018-11-08]. Dostupné z: <https://www.cavlmz.cz/sekce/onkologicka-sekce/specialni-veterinari-onkologie/onkologicka-onemocneni-hematopoetickeho-systemu/lymfom/lymfom-psu/kocici-nazalni-lymfom/>
32. Dhaliwal RS, Reed AL, Kitchell BE. 2001. Multicentric lymphosarcoma in a dog with multiple-site skeletal involvement. *Vet Radiol Ultrasound*. 42:38-41.
33. Durno AS, Webb JA, Gauthier MJ, Bienzle D. 2011a. Polycythemia and inappropriate erythropoietin concentrations in two dogs with renal T-cell lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc*. 47:122-128
34. Labelle P and De Cock HE. 2005. Metastatic tumors to the adrenal glands in domestic animals. *Vet Pathol*. 42:52-58.
35. MacGregor JM, Faria ML, Moore AS, Tobias AH, Brown DJ, de Morais HS. 2005. Cardiac lymphoma and pericardial effusion in dogs: 12 cases (1994-2004). *J Am Vet Med Assoc*. 227:1449-1453
36. Blackwood L, Sullivan M, Lawson H. 1997. Radiographic abnormalities in canine multicentric lymphoma: a review of 84 cases. *J Small Anim Pract*. 38:62-69.
37. GEYER, NICOLE E., JEAN K. REICHLÉ, ALEJANDRO VALDÉS-MARTÍNEZ, et al. RADIOGRAPHIC APPEARANCE OF CONFIRMED PULMONARY LYMPHOMA IN CATS AND DOGS. *Veterinary Radiology & Ultrasound* [online]. 2010, 51(4), 386-390
38. THOMAS, Helen L., Barrak M. PRESSLER a Ian D. ROBERTSON. RADIOGRAPHIC DIAGNOSIS-POLYOSTOTIC LYMPHOMA IN A 5 MONTH OLD DOG. *Veterinary Radiology Ultrasound* [online]. 2001, 42(6), 521-523
39. CRABTREE, AMANDA C., ELIZABETH SPANGLER, DEBRA BEARD a ANNETTE SMITH. DIAGNOSTIC ACCURACY OF GRAY-SCALE ULTRASONOGRAPHY FOR THE DETECTION OF HEPATIC AND SPLENIC LYMPHOMA IN DOGS. *Veterinary Radiology & Ultrasound* [online]. 2010, 51(6), 661-664
40. GROOTERS, Amy M., David S. BILLER, Heidi WARD, Takayoshi MIYABAYASHI a C. Guillermo COUTO. ULTRASONOGRAPHIC APPEARANCE OF FELINE ALIMENTARY LYMPHOMA. *Veterinary Radiology Ultrasound* [online]. 1994, 35(6), 468-472

41. JONES, I.D., A.D. DANIELS, A. LARA-GARCIA, L.M. PETERS a P. MANTIS. Computed tomographic findings in 12 cases of canine multi-centric lymphoma with splenic and hepatic involvement. *JSAP*. 2017, 58(11), 622-628.
42. Kessler M, Kandel-Tschiederer B, Pfleghaar S, Tassani-Prell M. 2008. Primary malignant lymphoma of the urinary bladder in a dog: longterm remission following treatment with VETERINARY QUARTERLY 97 radiation and chemotherapy. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 150:565-569
43. Bell R, Cotter S, Lillquist A, Sallan S, McCaffrey R. 1984. Characterization of glucocorticoid receptors in animal lymphoblastic disease: correlation with response to single-agent glucocorticoid treatment. *Blood*. 63:380-383.
44. SMITH, A.N., S. KLAHN, B. PHILLIPS, L. PARSHLEY, P., A. FLORY a R. CALDERON. ACVIM small animal consensus statement on safe use of cytotoxic chemotherapeutics in veterinary practice. *J Vet Intern Med*. 2018, 2018(32), 904-913.
45. Stein R, Balkman C, Chen S, Rassnick K, McEntee M, Page R, Goldenberg DM. 2011. Evaluation of anti-human leukocyte antigen-DR monoclonal antibody therapy in spontaneous canine lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 52:273-284.
46. Marconato L, Frayssinet P, Rouquet N, Comazzi S, Leone VF, Laganga P, Rossi F, Vignoli M, Pezzoli L, Aresu L. 2014. Randomized, placebo-controlled, double-blinded chemotherapeutic clinical trial in a pet dog model of diffuse large B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res*. 20:668-677
47. Marconato L, Stefanello D, Valenti P, Bonfanti U, Comazzi S, Roccabianca P, Caniatti M, Romanelli G, Massari F, Zini E. 2011. Predictors of long-term survival in dogs with high-grade multicentric lymphoma. *J Am Vet Med Assoc*. 238:480-485.
48. Seelig DM, Avery P, Webb T, Yoshimoto J, Bromberek J, Ehrhart EJ, Avery AC. 2014. Canine T-zone lymphoma: unique immunophenotypic features, outcome, and population characteristics. *J Vet Intern Med*. 28:878-886.

Za pomoc při vytvoření této brožury patří dík MVDr. O. Škorovi Dipl.ECVIM-CA (oncology), Prof. MVDr. M. Tomanovi, CSc., Doc. MVDr. M. Škoričovi, Ph.D., MVDr. J. Pfeifrovi, MVDr. B. Koskové, MVDr. Z. Filipejové, Ph.D., MVD. C.F. Agudelovi ,Ph.D., MVDr. K. Řehákové, Ph.D., MVDr. P. Schánilcovi, Ph.D., MVDr. K. Pauknerovi, Ing. L. Levé, MVDr. D. Komendovi, MVDr. I. Nývltové, MVDr. A. Nečasové, MVDr. V. Gabrielovi, MVDr. M. Mrázové, MVDr. J. Lorenzové, Ph.D.