Učestalost Epstein-Barr virus - povezanog klasičnog Hodgkinovog limfoma u KBC-u Split u desetogodišnjem razdoblju : patološka studija

Brzica, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:210988

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Katarina Brzica

UČESTALOST EPSTEIN-BARR VIRUS - POVEZANOG KLASIČNOG HODGKINOVOG LIMFOMA U KBC SPLIT U DESETOGODIŠNJEM RAZDOBLJU – PATOLOŠKA STUDIJA

Diplomski rad

Akademska godina:

2018./2019.

Mentor:

prof. prim. dr. sc. Merica Glavina Durdov, dr. med.

Split, srpanj 2019.

SADRŽAJ

1. UVOD **1**

1.1. Građa limfnog čvora 2

1.2. Hodgkinov limfom 4

1.2.1. Nodularna limfocitna predominacija Hodgkinovog limfoma 5

1.2.2. Klasični Hodgkinov limfom 6

1.3. Etiopatogeneza Hodgkinovog limfoma 8

1.3.1. Molekularna osnova klasičnog Hodgkinovog limfoma 11

1.3.2. Utjecaj Epstein-Barr virusa na patogenezu klasičnog Hodgkinovog limfoma 11

1.4. Epidemiologija klasičnog Hodgkinovog limfoma 13

1.4.1. Javnozdravstveni rizici za nastanak Hodgkinovog limfoma 15

1.5. Klinička slika Hodgkinovog limfoma 15

1.6. Dijagnostika Hodgkinovog limfoma 17

1.6.1. Kliničko-patološka korelacija s obzirom na podtip 18

1.7. Liječenje 19

1.8. Prognoza 20

2. CILJ ISTRAŽIVANJA **21**

3. ISPITANICI I METODE **23**

3.1. Ispitanici 24

3.2. Metode 24

3.3. Statistička analiza 25

4. REZULTATI **26**

5. RASPRAVA **40**

6. ZAKLJUČCI **46**

7. POPIS CITIRANE LITERATURE **48**

8. SAŽETAK **60**

9. SUMMARY **62**

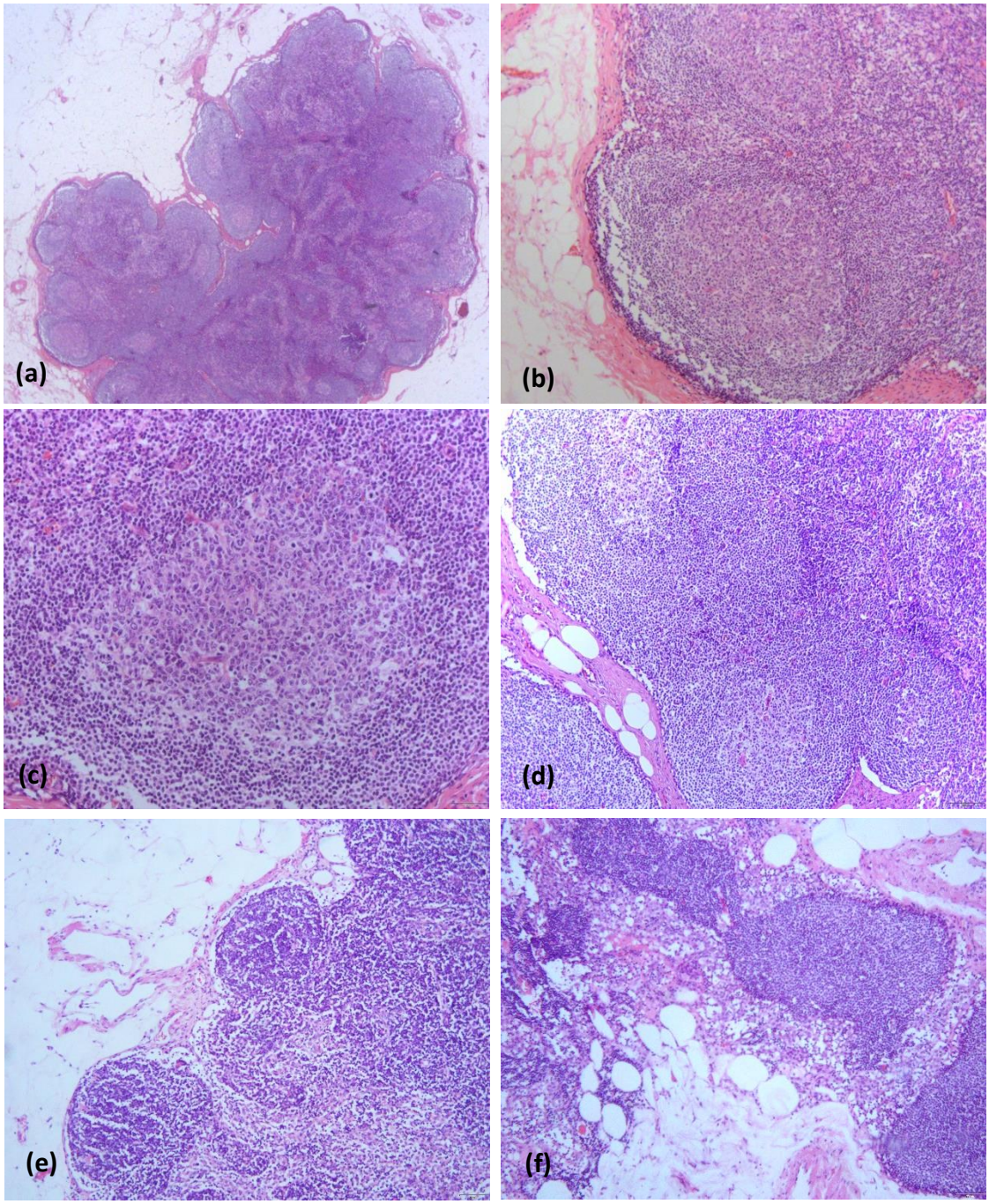
10. ŽIVOTOPIS **64**

Zahvaljujem se svojoj dragoj mentorici prof. prim. dr. sc. Merici Glavina Durdov na stručnoj pomoći i posvećenom vremenu pri izradi ovog diplomskog rada.

1. UVOD

1.1. Građa limfnog čvora

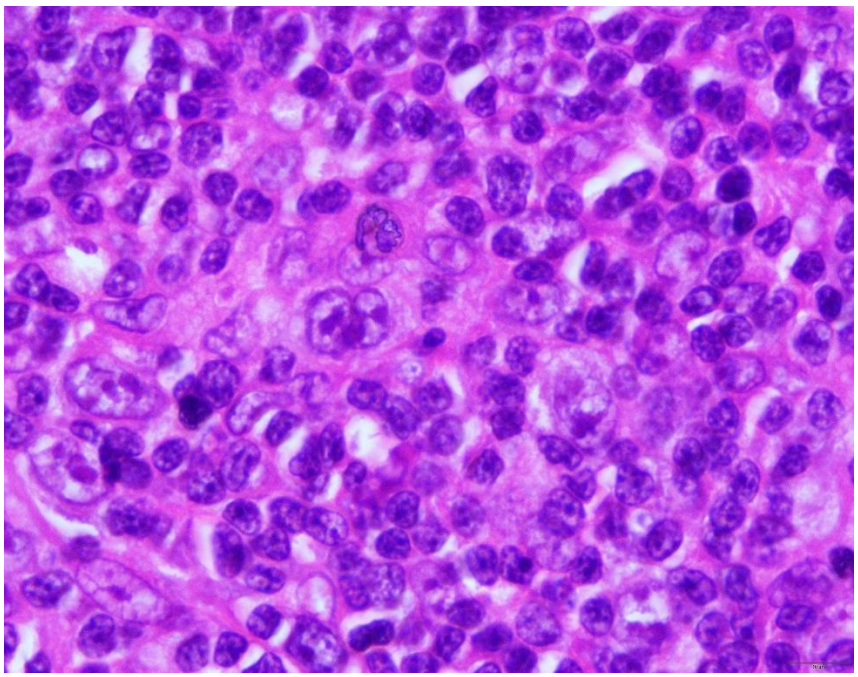
Limfni čvorovi pripadaju limforetikularnom sustavu, a smješteni su duž limfnih žila u određenim anatomskim regijama. U njima se, filtriranjem limfe iz širokog drenažnog područja, uklanjaju eventualni mikroorganizmi i reakcijom rezidentnih makrofaga ograničava širenje infekcije. Proteini koji su u makrofagima prerađeni u antigene izloženi su na rezidentnim antigen-prezentirajućim stanicama i dolaze u kontakt s cirkulirajućim limfocitima. Kad specifični limfociti prepoznaju određeni antigen, proliferiraju unutar limfnog čvora koji se zbog toga poveća (tzv. limfadenopatija) (1). Limfni čvorovi su okrugli ili ovalni, promjera do 2 cm, mekane konzistencije i blijedocrvene boje, obavijeni vezivnom čahurom od koje se u parenhim pružaju vezivne pregrade. Na konveksnoj strani ulaze brojne limfne žile, a na konkavnoj kroz hilus ulaze arterija i živac, a izlaze dvije odvodne limfne žile i vena. Limfa protječe kroz supkapsularni sinus, intermedijarne i medularne sinuse i odvodnim limfnim žilama napušta čvor (2). Mikroskopski se razlikuje celularniji vanjski dio - kora i unutarnji manje celularni dio – srž (Slika 1). U kori se nalaze limfatični folikuli građeni od brojnih B limfocita, antigen prezentirajućih folikularnih dendritičnih stanica, makrofaga i pomoćničkih T limfocita. Interfolikularno i u parakorteksu prevladavaju T limfociti, među kojima ima dendritičnih stanica (3). U nepodraženom limfnom čvoru se obično nalaze primarni folikuli, a u reaktivnom limfnom čvoru sekundarni folikuli građeni od blijedo obojenog germinativnog centra okruženog plaštom gusto zbijenih malih limfocita. U tamnoj ekscentričnoj zoni germinativnog centra odvija se klonalna proliferacija i somatska hipermutacija naivnih limfocita u centroblaste. Kad steknu membranski B stanični receptor postanu centrociti, migriraju u svijetlu zonu i dolaze u dodir s antigenima na dendritičkim folikularnim stanicama. Ovisno o afinitetu za antigen, diferenciraju se u memorijske ili u plazma stanice; ako pokažu slab afinitet za antigen, umiru apoptozom. Plaštena zona sadrži recirkulirajuću zalihu memorijskih B stanica (4). U srži sazrijevaju i proliferiraju plazma stanice koje stvaraju protutijela (3). Srž je građena od razgranatih izdanaka unutarnjeg korteksa koji sadržava makrofage, plazma stanice i B limfocite i medularnih sinusa omeđenih izduženim makrofagima i retikularnim stanicama (4).



Slika 1. *Histološka građa limfnog čvora (a) tamna kora i svjetlija srž (20x), (b) B zona s limfatičnim folikulom (100x), (c) germinativni centar (200x), (d) parakortikalna T zona (200x), (e) marginalni sinus (40x), (f) medularni sinusi (40x) (izvor: Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Odjel za patologiju, KBC Split)*

1.2. Hodgkinov limfom

Najčešći tumori koji primarno nastaju u limfnom čvoru su limfomi, zloćudne neoplazme limfatičnog tkiva koje se dijele na Hodgkinov limfom (HL) i ne-Hodgkinove limfome (NHL). Za razliku od NHL, Hodgkinov limfom ima vrlo mali broj zloćudnih stanica okruženih obilnim infiltratom makrofaga, eozinofila, plazma stanica, limfocita i mastocita (5). Incidencija HL varira po spolu, dobi, geografskoj regiji i socioekonomskom statusu. Unatoč mnogim saznanjima u proteklih 30-tak godina, HL ostaje entitet čija je etiopatogeneza znanstveno-istraživači izazov zbog sličnosti s upalnim procesom, varijabilnog izražaja gena i česte pojave u djece i mladih. Bolest je dobila ime po kirurgu sir Thomasu Hodgkinu koji ju je 1832. godine prvi opisao. Kasnije su Carl Sternberg i Dorothy Reed odvojeno opisali zloćudne stanice u HL, od tada nazvane Hodgkinove i Reed-Sternbergove stanice (kratica HRS stanice) (6). Klasične RS stanice su binuklearne i s velikim jezgricama („sovine oči“), a mogu biti prisutne njihove multinuklearne ili mononuklearne varijante (Hodgkinova stanica) (Slika 2).

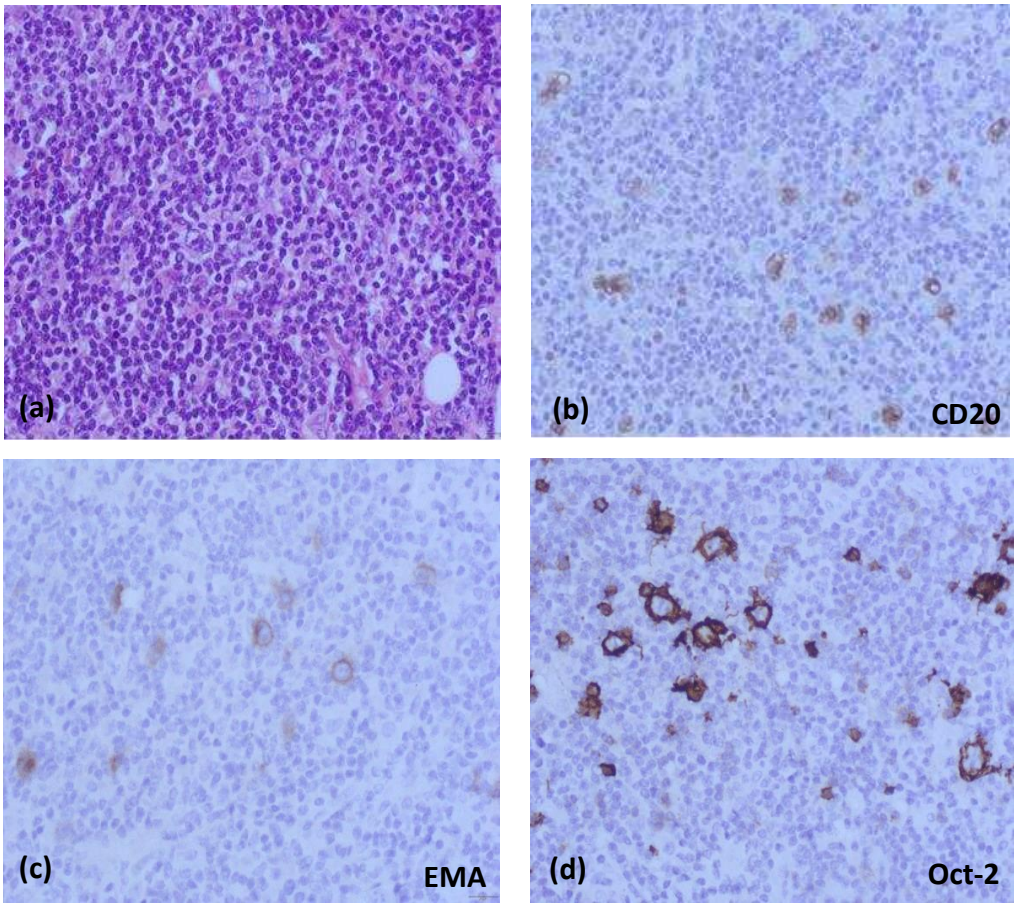


Slika 2. *Hodgkinove i Reed-Sternbergove stanice (HRS stanice) u klasičnom Hodgkinovu limfomu (HE,400x) (izvor: Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Odjel za patologiju, KBC Split)*

Zbog razlika u biološkom ponašanju, imunofenotipu i molekularnim promjenama, HL je u REAL klasifikaciji iz 1994. godine podijeljen u dva entiteta - nodularnu limfocitnu predominaciju Hodgkinovog limfoma (NLPHL) i klasični Hodgkinov limfom (kHL). Ta je podjela uvrštena u klasifikaciju hematopoetskih i limfatičnih novotvorina Svjetske zdravstvene organizacije (7).

1.2.1. Nodularna limfocitna predominacija Hodgkinovog limfoma

NLPHL je monoklonalna B-stanična neoplazma koja se pretežno javlja u muškaraca od tridesete do pedesete godine života i na koju otpada 3-5% svih HL (8). Prezentira se kao periferna limfadenopatija cervikalnih, aksilarnih ili ingvinalnih limfnih čvorova, obično bez konstitucionalnih B simptoma, kao što su povišena temperatura, noćno znojenje i gubitak tjelesne mase (3). Mikroskopske karakteristike NLPHL prikazane su na Slici 3.

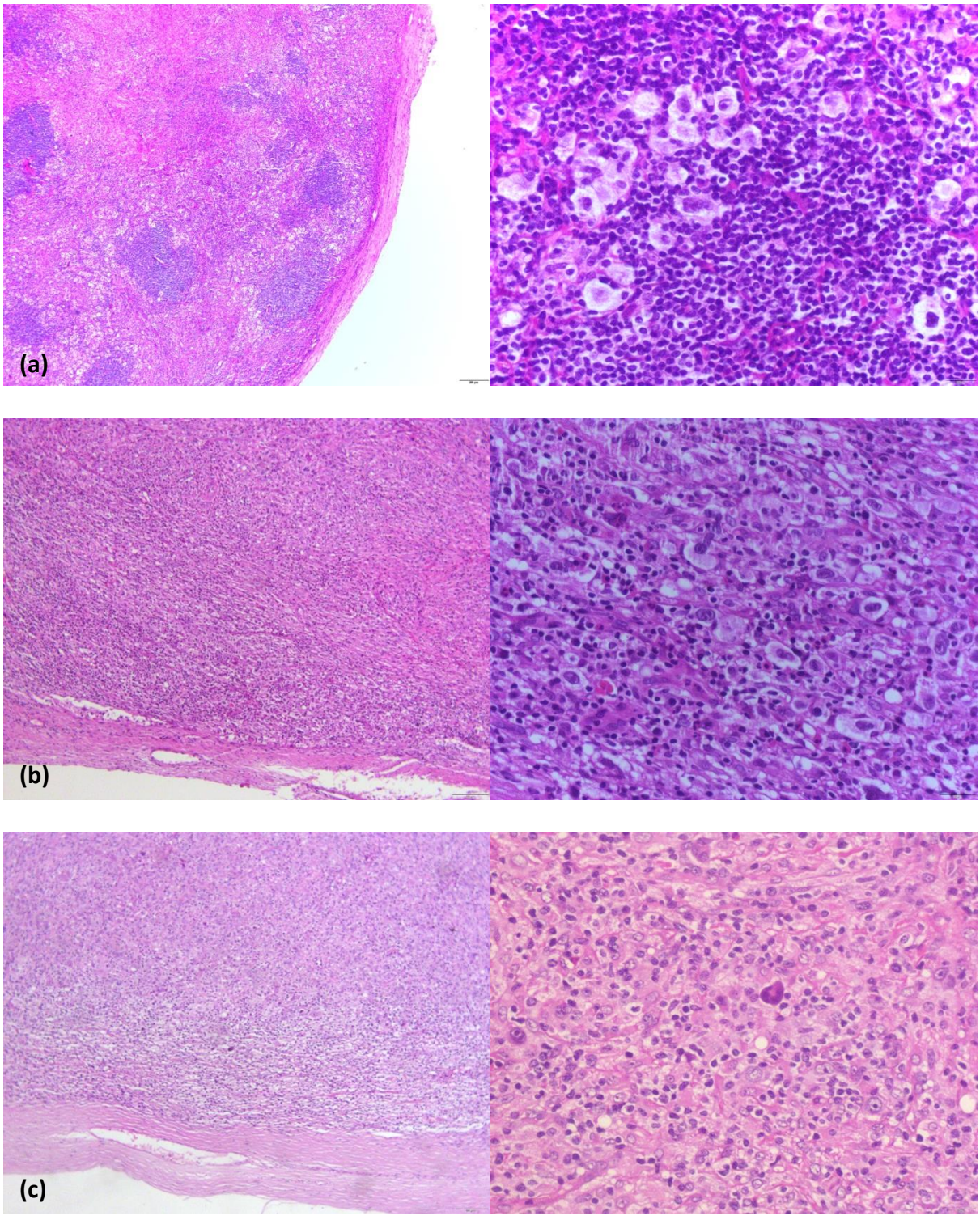


Slika 3. *Nodularna limfocitna predominacija Hodgkinovog limfoma (a) rijetke LP stanice u upalnom mikrookolišu (HE, 200x) imaju karakterističan pozitivni izražaj na (b) CD20, (c) EMA i (d) Oct-2 (HRP, 200x). (izvor: Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Odjel za patologiju, KBC Split)*

U histološkoj slici nalazi se mikrookoliš malih limfocita i epiteloidnih histiocita između kojih su raštrkane zloćudne limfohistiocitne (L/P) stanice B fenotipa (CD20+ CD15-, CD30-, CD40+) s jednom velikom lobuliranom jezgrom nalik kokici (3). Zloćudna stanica izražava Oct2 i BOB1 koji su negativni u kHL (9). NLPHL nije povezan s prisutnošću Epstein-Barr virusog genoma u tumorskim stanicama (10). Bolest ima indolentan, sporo progresivan tijek i dugotrajne remisije uz mogućnost kasnog relapsa, čak deset godina nakon inicijalne terapije i neovisno o početnom stadiju. Unatoč svemu, NLPHL dobro odgovara na terapiju i rijetko je smrtonosna (11). Može progredirati u difuzni B-velikostanični limfom, ali tad ima bolju prognozu nego *de novo* difuzni B-velikostanični limfom (12).

1.2.2. Klasični Hodgkinov limfom

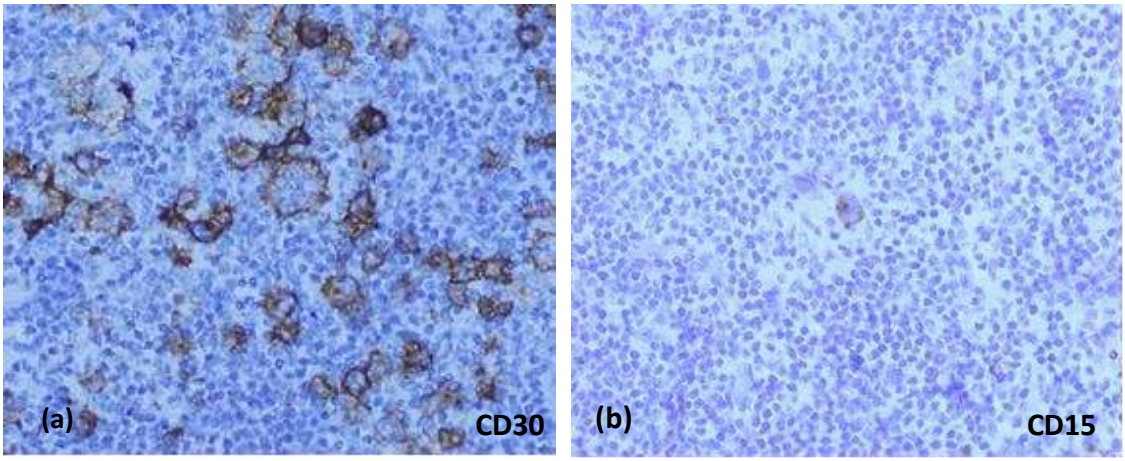
Na klasični Hodgkinov limfom otpada više od 95% HL. U razvijenom svijetu bolest se pojavljuje bimodalno s prvim vrškom incidencije u kasnim dvadesetim godinama i drugim iza sedamdesete godine, dok je u zemljama u razvoju HL bolest dječje dobi (13). Znak bolesti obično je bezbolna oteklina periferno ili centralno smještenog limfnog čvora. Centralno su zahvaćeni medijastinalni limfni čvorovi, a periferno vratni ili aksilarni, a rijetko ingvinalni limfni čvorovi. Limfom se širi iz jedne u drugu regiju limfnih čvorova, što povećava klinički stadij (14). Histološki se nalaze raštrkane malobrojne HRS stanice u mikrookolišu upalnih stanica (3). Opisana su četiri histološka podtipa s dobro definiranom morfologijom: nodularna skleroza (NS), miješana celularnost (MC), limfocitna deplecija (LD) i limfocitima bogati (LR, kratica od engl. lymphocyte rich) (Slika 4). U NS se tračci kolagenog veziva odvajaju od zadebljale čahure, pružaju u parenhim limfnog čvora i odjeljuju nodularne upalne inflitrate u kojima se nalaze raštrkane tipične HRS stanice i njihova varijanta - lakunarne stanice. U MC su klasične HRS stanice okružene eozinofilima, histiocitima, plazma stanicama i epiteloidnim makrofagima. U LR nalaze se klasične HRS stanice i nodularni infiltrati limfocita, a u LD mnoštvo klasičnih i bizarnih HRS stanica, deplecija limfocita, difuzna fibroza i nekroza (3).



Slika 4. *Histološki tipovi klasičnog Hodgkinovog limfoma (a) nodularna skleroza, (b) miješana celularnost, (c) limfocitna deplecija (HE, 40x/200x) (izvor: Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Odjel za patologiju, KBC Split)*

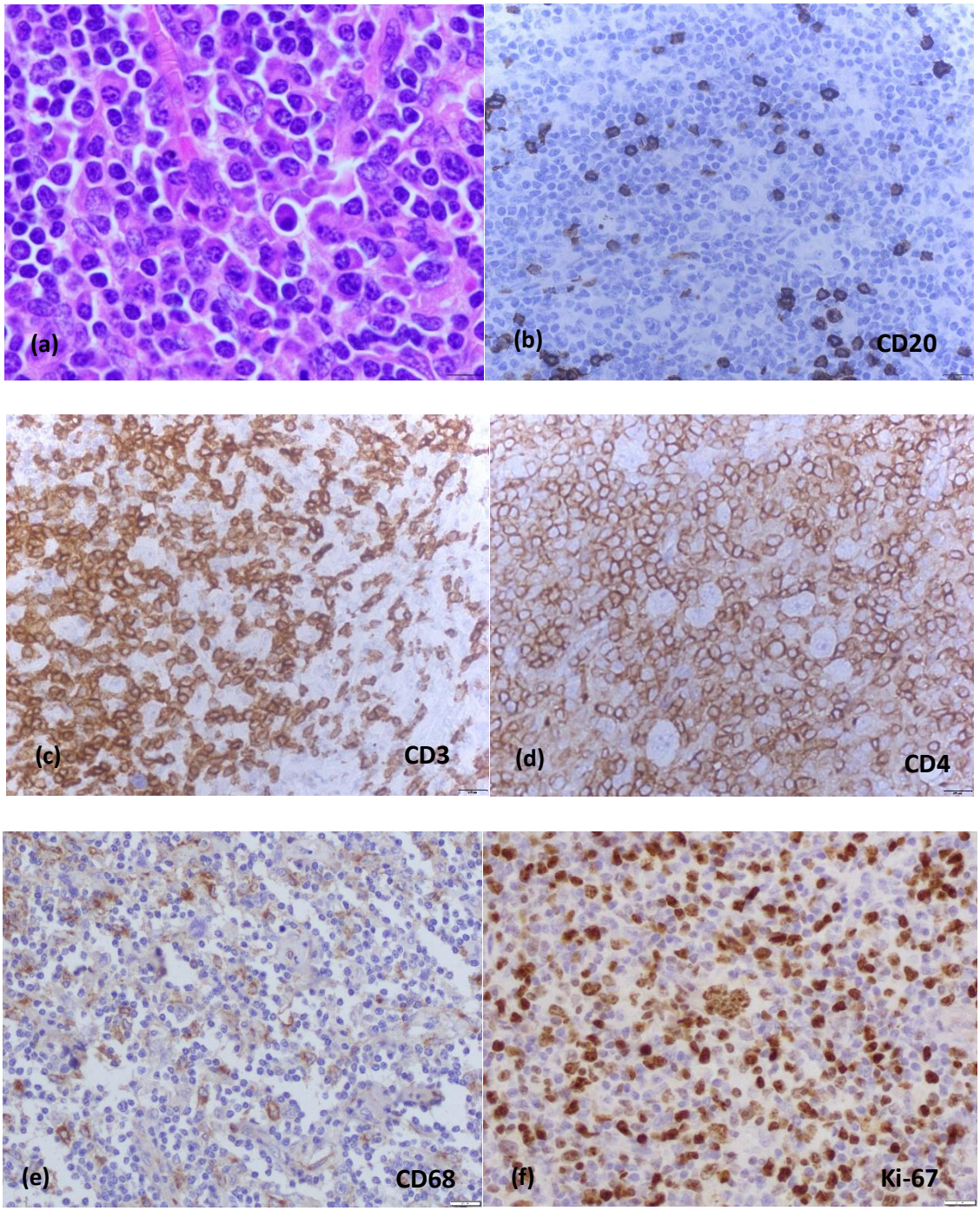
1.3. Etiopatogeneza Hodgkinovog limfoma

HRS stanice ne izražavaju biljege B i T stanica, iako su u 98% slučajeva nastale monoklonalnom proliferacijom B limfocita u germinativnom centru limfnog čvora, a u 2% slučajeva iz T limfocita (15). Najčešće se radi o postgerminalnim B limfocitima koji su izgubili većinu B staničnih diferencijacijskih antigena (CD19, CD20, CD45, CD22, CD79a) i B stanični receptor, ali izražavaju molekule HLA i CD40, bitne za prezentaciju antigena i kostimulaciju. Iako nemaju B stanični membranski receptor, transformirane stanice uspjele su izbjeći smrt apoptozom (5). Karakteristično izražavaju aktivacijski biljeg CD30 i leukocitni zajednički biljeg CD15 (Slika 5).



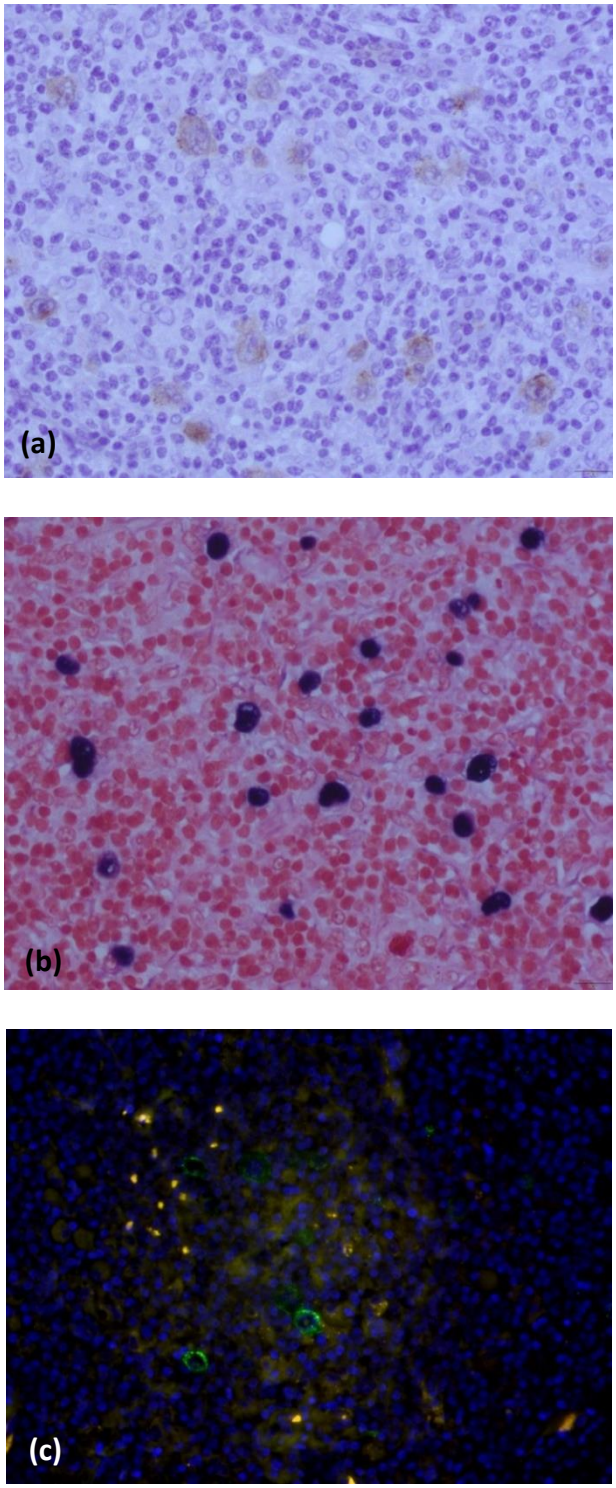
Slika 5. *Karakteristični imunobiljezi zloćudnih stanica u klasičnom Hodgkinovom limfomu. (HRPx400) (a) CD30 i (b) CD15 (izvor: Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Odjel za patologiju, KBC Split)*

Citogenetskom i FISH analizom nisu nađene specifične kromosomske promjene u zloćudnim stanicama (5). HRS stanice luče citokine: TGF-β, TNF-α, FGF, IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10 i IL-13, kojima privlače upalne stanice. U tumorskom mikrookolišu nalaze se plazma stanice, epiteloidni histiociti, eozinofili, rijetke B stanice i brojne T stanice: pomoćnički, citotoksični i imunosupresijski tzv. regulacijski T limfociti (Slika 6) (16).



Slika 6. *Mikrookoliš klasičnog Hodgkinovog limfoma: (a) miješani upalni infiltrat sadržava b) malo B stanica (CD20), c)brojne T stanice (CD3) od kojih su d) većina pomoćnički limfociti (CD4), i e) dosta makrofaga (CD68), uz (f) izraženu proliferacijsku aktivnost (Ki-67) (HE 1000x; HRP 400x). (izvor: Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Odjel za patologiju, KBC Split)*

U kHL je utvrđena prisutnost monoklonalnog EBV genoma u 20% do 80% slučajeva, ovisno o geografskoj regiji i detekcijskoj tehnici (Slika 7).



Slika 7. *Dokazivanje prisutnosti Epstein-Barr virusa u Hodgkinovim i Reed-Sternbergovim (HRS) stanicama klasičnog Hodgkinovog limfoma (a) LMP EBV (DABx400), (b) EBERs (ISH, 400x) i (c) LMP EBV (fluorescein,400x) (izvor: Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Odjel za patologiju, KBC Split)*

U Zapadnom svijetu prisutnost EBV je do 40% u podtipu NS i više od 50% u podtipu MC, a u zemljama u razvoju i do 100% u MC. EBV pozitivan kHL pozitivan je i u relapsu (16).

Bez onkološkog liječenja kHL pokazuje agresivan tijek, a uz moderne protokole izliječi se do 70-80% bolesnika (16).

1.3.1. Molekularna osnova klasičnog Hodgkinovog limfoma

U HRS stanicama aberantno su aktivirane signalne molekule i putovi aktivacije kao što su Notch1, višestruke receptorske tirozin kinaze i MEK/ERK putovi te transkripcijski čimbenici NFkB, STAT i AP1. kHL pokazuje jaki izražaj Notch1 koji povećava otpornost na apoptozu, povećava proliferaciju i pridonosi gubitku izražaja B staničnih receptora (17). Značajnu ulogu u preživljenju RS stanica ima i NF-kB konstitutivni nuklearni faktor (17). Konstitutivna NF-kB aktivacija uzrokuje promjene u izražaju gena uključenih u imunološki odgovor i aktivaciju antiapopotičkih proteina. NF-kB je aktivan u kHL bez obzira na EBV status (5). Aberantne tirozin kinaze poput PDGFRA, DDR2, EPHB1, RON, TRKB i TRK najčešće se nalaze u podtipu NS. Signalni put PI3/AKT je u većini slučajeva aktiviran u HRS stanicama, ali nije jasno njegovo djelovanje na zloćudnu pretvorbu. Signalni put MEK/ERK aktivira druge signalne putove i transkripcijske čimbenike i potiče aktivaciju i proliferaciju tumorskih stanica (17). Mnogi transkripcijski čimbenici iz STAT porodice, ponajprije STAT 3 i STAT6 izraženi su u tumorskom tkivu, a njihova je aktivnost bitna za preživljenje i proliferaciju HRS stanica (17). U kHL c-Jun i JunB iz obitelji AP-1 aktivno djeluju na staničnu proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu. Svi navedeni putovi su složeno isprepleteni i sinergističko djeluju na tumorski rast (17). Tumorski upalni infiltrat omogućava rast i preživljenje HRS stanica tako što suprimira citotoksični imuni odgovor i onemogućava imunološkom sustavu prepoznavanje tumora. Primjerice na T limfocitima je povećan izražaj CTLA4, HRS stanice luče imunosupresivne čimbenike TGF-b, MIF i galektin-1 i povećan je izražaj PD-L1 na RS stanicama i PD-1 na T limfocitima u mikrookolišu (18).

1.3.2. Utjecaj Epstein-Barr virusa na patogenezu klasičnog Hodgkinovog limfoma

Epstein-Barr virus je DNA virus iz porodice Herpesvirusa. Infekcija je ubikvitarna pa je 95% odraslih u svijetu seropozitivno na EBV. Virus se prenosi kapljično preko

orofaringealnog sekreta, a izlučuju ga osobe s asimptomatskom infekcijom. Moguć je prijenos preko transfuzije krvi, presađivanja organa ili koštane srži (19). Nakon infekcije EBV se umnožava u epitelnim stanicama ždrijela i B limfocitima limfatičnog aparata te se širi po organizmu. Većinu inficiranih stanica prepozna i ukloni imunosni sustav, a mali broj latentno inficiranih stanica doživotno perzistira uz povremene supkliničke reaktivacije. EBV uzrokuje infektivnu mononukleozu i povezan je s karcinomom nazofarniksa, Burkittovim limfomom, Hodgkinovim limfomom, više vrsta ne-Hodgkinovih limfoma i s karcinomom želuca. EBV ulazi u B limfocit preko receptora CD21 i episomalno se veže na DNA, uzrokujući latentnu infekciju. Iz inficiranih B limfocita moguće je stvoriti kontinuirane besmrtne B stanične linije (20).

EBV-om zaražene stanice izražavaju četiri različita programa gena, od kojih jedan koristi za produkciju virusa, a sljedeća tri vezana su za latentnu infekciju. *Program rasta* izražava devet latentnih proteina, od kojih je najznačajniji EBNA2 jer aktivira B limfocite u proliferirajuće limfoblaste i blokira njihovu diferencijaciju. *Program latencije* izražava EBNA1 i povremeno LMP2 koji omogućava perzistenciju u memorijskim B stanicama periferne krvi, bez mogućnosti prepoznavanja od strane imunološkog sustava. *Zadani program* izražava tri virusna proteina - EBNA1 osigurava virusnu replikaciju tijekom diobe stanica, a LMP1 i LMP2A funkcioniraju kao konstitutivno aktivni membranski receptori koji ne ovise o ligandu. LMP1 pokazuje funkcionalnu sličnost s CD40 koji je ključni receptor na B limfocitima zametnog centra jer ih spašava od apoptoze i potiče njihovu proliferaciju. LMP2A pokazuje sličnost s B staničnim receptorom jer imitira signal koji omogućava preživljenje B stanica, ali ih ne potiče na proliferaciju (21).

EBV inficira mirujuće naivne B limfocite, aktivira ih slično aktivaciji antigenom i potiče na proliferaciju pa nastaju B stanični blasti. Pri tom je aktivan *program rasta* i EBNA2. Aktivirani B limfoblast prelazi u germinativni centar u kojem preživljenje blasta i njihova buduća diferencijacija u memorijske stanice ovisi o izražaju proteina *zadanog programa*. Da bi se taj program aktivirao, treba isključiti *program rasta* i EBNA2, ali nije jasno što potiče tu promjenu. U odsutnosti EBNA2 budu izraženi LMP1 i LMP2A koji svojim signalima omogućavaju preživljenja inficiranih B limfocita. Naposljetku, stanice prelaze na *program latencije* tako da prestanu izražavati sve virusne latentne proteine, napuštaju folikule kao memorijske stanice i odlaze u perifernu cirkulaciju. Ne izražavaju informacije o virusu niti proliferiraju, a EBV, sakriven i zaštićen od imunološkog sustava, može perzistirati cijeli životni vijek u jezgri B limfocita inficirane osobe. Dugogodišnje preživljenje zaraženih

memorijskih stanica je omogućeno ponovnim izražajem LMP2A kad mirujuće memorijske stanice recirkuliraju kroz tonzile. U memorijskim stanicama moguća je virusna replikacija (21).

Nemogućnost inficiranih stanica da se diferenciraju u memorijske stanice dovodi do stalnog izražaja *programa rasta* i povećava rizik od nastanka tumora. Prva mogućnost za nastanak tumora je kad je B stanica inficirana u „krivom" stadiju razvoja i EBV uključi *program rasta* pa inficirana B stanica nastavi proliferirati. Takve stanice obično prepozna i uništi zdravi imunosni sustav, no u imunokompromitiranih se to ne dogodi i stanice mogu rasti neograničeno. Druga mogućnost za nastanak tumora je mutacija koja dovodi do stalnog izražaja *zadanog programa* te preživljenja i proliferacije mutiranih B stanica uz pomoć EBNA1, LMP1 i LMP2A. Mutacija koja aktivira NFkB zaustavlja diferencijaciju stanice u germinativnom centru, omogućava stalni izražaj virusnih gena *zadanog programa* i staničnu proliferaciju (21).

1.4. Epidemiologija klasičnog Hodgkinovog limfoma

Hodgkinov limfom je znatno rjeđi od ne-Hodgkinovih limfoma, s incidencijom 2 do 5 slučajeva na 100 000 stanovnika prema 14 slučajeva na 100 000 stanovnika godišnje (5). U Zapadnom svijetu je HL bolest mlađe odrasle dobi (15 do 30 godina) i najčešći podtipovi su NS i MC (učestalost 70%, odnosno 25%) (3). Bolest se češće javlja u muškaraca te u mlađoj životnoj dobi (3). U dobi do 14 godina na kHL otpada 5%, a u dobi između 14 i 19 godina 15% svih zloćudnih tumora (22). kHL je češći u djece u zemljama u razvoju nego u razvijenim zemljama (23). U bijeloj rasi je veća incidencija kHL nego u crnoj i žutoj rasi, a u žutoj je najniža (24). Na tablici 1 prikazana je globalna učestalost EBV pozitivnog kHL u nacionalnim studijama.

Tablica 1. *Udio klasičnog Hodginovog limfoma s pozitivnim EBV statusom u svijetu*

Država	Autor	Referenca	EBV pozitivan status kHL	Ukupni broj ispitanika kHL	Ispitanici	Metoda
Hrvatska	Pavlović i sur.	(25)	29%	102	Svi	IHC
BiH	Čičkušić i sur.	(26)	48,1%	81	Svi	ISH
Češka	Macak i sur.	(27)	33%	142	Svi	IHC, ISH
Mađarska	Keresztes i sur.	(28)	56%	109	Svi	PCR
Austrija	Krugmann i sur.	(29)	26%	119	Svi	IHC, ISH
Poljska	Kordek i sur.	(30)	33%	135	Svi	IHC
Italija	Leoncini i sur.	(31)	48%	65	Svi	ISH
Švedska	Axdorph i sur.	(32)	33%	95	Svi	IHC, ISH
Danska	Lauritzen i sur.	(33)	71%	48	Svi	IHC,ISH,PCR
Nizozemska	Diepstra i sur.	(34)	34%	412	Svi	ISH
UK	Jarrett i sur.	(35)	33%	461	Svi	ISH
Španjolska	Morente i sur.	(36)	51%	140	Svi	IHC
Australija	Weinreb i sur.	(37)	70%	16	Djeca	IHC, ISH
SAD	Keegan i sur.	(38)	27%	922	Svi	IHC, ISH
Meksiko	Quintanilla Martínez i sur.	(39)	70%	50	Odrasli	IHC
Brazil	Campos i sur.	(40)	56%	369	Svi	IHC, ISH
Argentina	Preciado i sur.	(41)	71%	46	Djeca	IHC,ISH,PCR
Peru	Chang i sur.	(42)	83%	32	Odrasli	IHC, ISH
Kostarika	Monterroso i sur.	(43)	40%	40	Svi	IHC
Kenija	Kusuda i sur.	(44)	79%	48	Svi	ISH
Egipat	Audouin i sur.	(45)	63%	55	Svi	IHC, ISH
Tunis	Dhiab i sur.	(46)	41,1%	122	Svi	IHC
Turska	Durmaz i sur.	(47)	55%	40	Svi	PCR
Jordan	Almasri i sur.	(48)	47%	64	Svi	IHC, ISH
UAE	Al-Salam i sur.	(49)	38%	45	Svi	IHC, ISH
Irak	Di Napoli i sur.	(50)	86%	51	Djeca	IHC
Kuvajt	Makar i sur.	(51)	56%	107	Svi	IHC, ISH
Pakistan	Fatima i sur.	(52)	60%	100	Svi	IHC
Japan	Kusuda i sur.	(44)	59%	49	Svi	ISH
Kina	Huang i sur.	(53)	39%	157	Svi	ISH
Indija	Naresh i sur.	(54)	78%	110	Svi	IHC, ISH
Koreja	Koh i sur.	(55)	34,5%	159	Svi	ISH
Malezija	Peh i sur.	(56)	61%	100	Svi	IHC, ISH
Tajvan	Liu i sur.	(57)	54,3%	70	Svi	IHC, ISH

EBV– Epstein-Barr virus; kHL – klasični Hodgkinov limfom; IHC – imunohistokemija; ISH – in-situ hibridizacija; PCR – polimerazna lančana reakcija

1.4.1. Javnozdravstveni rizici za nastanak Hodgkinovog limfoma

80-ih godina prošlog stoljeća je dokaz prisutnosti monoklonalnog EBV u kHL ukazao na mogućnost da je onkogeni virus uključen u nastanak ovog limfoma (58). kHL s pozitivnim EBV statusom je češći u ljudi koji su preboljeli infektivnu mononukleozu, što ukazuje na drugačiju etiologiju nego u kHL s negativnim EBV statusom (59). Globalno je kHL s pozitivnim EBV statusom češći u muškog spola, u djece i starijih te u bolesnika s nižim socioekonomskim statusom (60). Imunosupresija je značajan čimbenik rizika za nastanak kHL. U bolesnika s HIV infekcijom je kHL značajno češći nego u ostaloj populaciji i obično podtipa MC i LD (61). Također su kHL skloni bolesnici koji su imunokompromitirani zbog druge stečene ili pak primarne imunodeficijencije. U transplantiranih bolesnika je povećana učestalost kHL u odnosu na opću populaciju (62). U imunokompromitiranih se kHL obično manifestira u uznapredovalom stadiju, češće ekstranodalno i s prisutnim B simptomima (63). kHL je povezan s autoimunim bolestima, najviše s reumatoidnim artrtisom, ali i sistemnim eritematoznim lupusom, sarkoidozom, Sjogrenovim sindromom i idiopatskom trombocitopeničnom purpurom (64). Hodgkinov limfom se češće javlja u nekim obiteljima i u jednojajčanih blizanaca, zbog genetičkog naslijeđa i izloženosti istim rizičnim okolišnim čimbenicima (22). Veći je rizik među braćom i sestrama nego roditeljima i djecom, a u obiteljski povezanim slučajevima kHL se javlja u mlađoj dobi (65). Rizik od nastanka kHL je povećan u pušača (66). Prema javnozdravstvenim studijama, rizik je veći za mlade odrasle osobe koje su u djetinjstvu živjele u malom kućanstvu i za osobe koje u djetinjstvu nisu pohađale vrtić. Navedena zapažanja upućuju da rizik raste s čimbenicima koji smanjuju ili odgađaju izlaganje određenim infektivnim patogenima u okolini koji imaju pozitivan učinak na sazrijevanje imunosnog sustava (67).

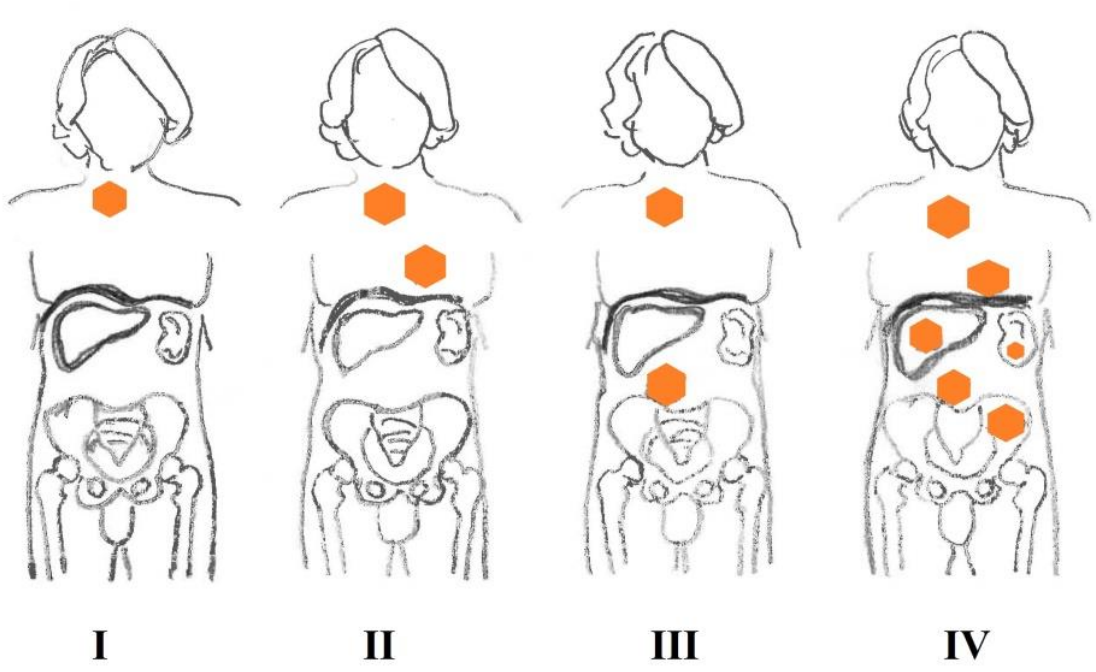
1.5. Klinička slika Hodgkinovog limfoma

Na Hodgkinov limfom treba posumnjati u svakog bolesnika s bezbolnim asimetričnim i jednostranim uvećanjem limfnih čvorova (5). Uvećanje limfnih čvorova može primijetiti sam bolesnik, ili bude slučajno otkriveno kliničkim pregledom/slikovnim pretragama u dijagnostici drugih stanja i nespecifičnih simptoma (68). Povećani limfni čvorovi su pojedinačni ili „slijepljeni u pakete“, gumaste konzistencije i različite veličine, ponekad tako veliki da pritišću okolne strukture (5). Bolest je najčešće lokalizirana iznad ošita (69). U 75% slučajeva zahvaćeni su vratni i supraklavikularni limfni čvorovi, u 20% slučajeva aksilarni, a

u 10% slučajeva ingvinalni limfni čvorovi. Od centralnih limfnih čvorova, u 25% slučajeva zahvaćeni su retroperitonealni, a u 60% medijastinalni limfni čvorovi što može izazvati dugotrajni nadražajni kašalj i zaduhu (5). Obično je kHL ograničen na limfne čvorove, ali se koji put može javiti u izvanlimfatičnim tkivima i organima (69). Tada je važno utvrditi je li ekstranodalna bolest primarna manifestacija kHL ili diseminacija kHL (70). Podtipovi kHL imaju različitu kliničku prezentaciju - u NS su najčešće zahvaćeni medijastinalni, a u MC abdominalni limfni čvorovi. Tumor se širi limfnim žilama na susjedne limfne čvorove i u druge limfatične regije. Hematogeno širenje je rijetko i obično u uznapredovalom stadiju MC i LD (5). Konstitucionalni B simptomi prisutni su u 10% do 25% bolesnika s ograničenom i u 70% bolesnika s proširenom bolešću. B simptomi su posljedica stvaranja proinflamatornih citokina u tumoru, kao što su TNF-alfa, IL-1 i IL-6, a ponekad su jedini znak bolesti. U B simptome spadaju: pojačano noćno znojenje, gubitak tjelesne mase >10% u posljednjih 6 mjeseci i tjelesna temperatura >38°C koja nije uzrokovana infekcijom, a nepravilnog je ili Pel-Ebsteinovog tipa (71, 72). Neki bolesnici navode svrbež kože (72). Iako hepatosplenomegalija obično označava uznapredovali stadij, jetra i slezena normalne veličine također mogu biti zahvaćene bolešću. Anemija se nađe u 10% bolesnika, uglavnom kao mikrocitna hipokromna anemija po tipu kronične bolesti, a rijetko kao mijeloftizična ili autoimuna hemolitička anemija (5). Autoimuna hemolitička anemija može biti prisutna od početka bolesti ili joj prethoditi nekoliko mjeseci i godina (73). Nefrotski sindrom javlja se u manje od 1% bolesnika s Hodgkinovim limfomom, a posljedica je pritiska limfnih žila na renalnu venu ili paraneoplastičnog zbivanja. Najčešći uzrok nefrotskog sindroma je paraneoplastični glomerulonefritis minimalnih promjena (74). Koštana srž zahvaćena je u 5% bolesnika (5). Zahvaćenost koštane srži najčešće se veže za podtip limfocitne deplecije. Prezentira se kao anemija, leukopenija i trombocitpenija. Zahvaćanje koštane srži odgovara stadiju IV, iako nema konzenzusa o važnosti inflitracije koštane srži za prognozu bolesti (75). Kožne promjene uzrokovane tumorskom infiltracijom su vrlo rijetke, u 0,5% slučajeva i prezentiraju se kao papula, plak, čvorić ili ulceracija kože. Rijetko se u sklopu paraneoplastičnog sindroma javlja ekcem, pruritus ili nodozni eritem (76). U bolesnika s kHL herpes zoster je češći nego u općoj populaciji (77). Središnji živčani sustav je vrlo rijetko zahvaćen bolešću, u 0,2 do 0,5% svih slučajeva. Neurološke manifestacije mogu nastati zbog pritiska tumorskog tkiva na kralježničku moždinu, ili na izlazišta živaca te u sklopu paraneoplastičnog sindroma (78). U bolesnika s kHL zbog oslabljenog staničnog imuniteta češće su tuberkuloza, virusne i gljivične infekcije (79).

1.6. Dijagnostika Hodgkinovog limfoma

Anamneza je prvi korak k dijagnozi. Posebnu pozornost treba posvetiti postojanju i trajanju B simptoma, doznati za umor i iscrpljenost ili svrbež kože te ispitati ima li zloćudnih tumora u obitelji. U statusu treba palpirati periferne limfne čvorove svih regija i dalje obraditi sve povećane bezbolne limfne čvorove. Palpacijom će se procijeniti veličinu jetre i slezene, a slikovnom dijagnostikom ustanoviti stvarno uvećanje limfnih čvorova i parenhimnih organa (80). Od laboratorijskih testova potrebno je uraditi sedimentaciju eritrocita, kompletnu krvnu sliku, testove jetrene i bubrežne funkcije i LDH. Nalazi mogu biti uredni, u polovice bolesnika ubrzana je sedimentacija eritrocita, a u nekih postoji leukocitoza s granulocitozom i limfocitopenijom, eozinofilija i monocitoza. U serumu mogu biti povećane koncentracije LDH, bakra, feritina, haptoglobina, fibrinogena i beta-2 mikroglobulina. Imunoelektroforeza seruma je uglavnom normalna. Potrebno je citološki punktirati zahvaćeni limfni čvor, a ako je nalaz suspektan ili pozitivan, uraditi ekstirpaciju cijelog limfnog čvora i patohistološku analizu (5). Mikroskopski se nalazi tumorsko tkivo građeno od klasičnih HRS stanica i njihovih varijanti u upalnom mikrookolišu. Nakon potvrde dijagnoze kHL, određuje se klinički stadij bolesti po Ann Arbour klasifikaciji radi planiranja liječenja (Slika 8) (80).



Slika 8. *Ann Arbour klasifikacija po stadijima Hodgkinovog limfoma*

Ako bolesnik nema B simptome, uz stadij označen rimskim brojem dodaje se oznaka A, a ako ima, oznaka B. Kad je tumorska masa promjera >10 cm/veća od trećine transtorakalnog promjera, označava se sufiksom „X“ (na engl. bulky, ogromna) jer zbog češće ostatne bolesti zahtjeva agresivnije liječenje (81). Od slikovnih pretraga treba učiniti CT vrata, prsnog koša, trbuha i zdjelice. Kombinacija PET-CT sa dijagnostičkim CT-om je vrlo korisna u točnoj evaluaciji početnog stadija, kontroli tijekom terapije („interim PET“) i utvrđivanju remisije (82). PET-CT može utvrditi zahvaćenost slezene i koštane srži pa prema nekim studijama negativan PET-CT isključuje potrebu za biopsijom koštane srži (83). Preporuča se uraditi serološku analizu na viruse hepatitisa B i hepatitisa C (84).

1.6.1. Kliničko-patološka korelacija s obzirom na podtip

Podtipovi kHL razlikuju se na temelju upalnog infiltrata, morfologije HRS stanica i prisutnosti fibroze, a pokazuju različitu zastupljenost po dobi, spolu, rasi i geografskoj pripadnosti (3). Podtip HL ima utjecaja na prognozu i preživljenje bolesnika pa je tako lošija prognoza MC i LD nego NS (85). U Zapadnom svijetu je incidencija NS do 70% (3). NS se uglavnom dijagnosticira u lokaliziranom stadiju, obično u medijastinumu, a tumor može biti masivan. NS zahvaća supraklavikularne, vratne i aksilarne limfne čvorove, najčešće se dijagnosticira u adolescenata i mlađih odraslih, rijetko se javlja ekstranodalno (86). Na MC otpada 25% svih kHL, obično zahvaća abdominalne limfne čvorove, češće vratne i supraklavikularne nego medijastinalne limfne čvorove. Rijetko infiltrira koštanu srži i jetru, češće slezenu (3). Javlja se u bolesnika starije dobi djece, češće dijagnosticira u uznapredovalim stadijima i ima lošiju prognozu (86). LD je dijagnosticiran u 1% do 5% slučajeva, češće u starijih bolesnika, u zemljama u razvoju i u bolesnika s HIV infekcijom (87, 88). Prezentira se kao simptomatska bolest bez periferne limfadenopatije, a u određenom broju slučajeva zahvaća slezenu (86). Ima težak klinički tijek i lošu prognozu, osobito u HIV pozitivnih bolesnika (89). LR podtip uglavnom zahvaća periferne limfne čvorove, a vrlo rijetko medijastinum (3). Bolesnici su obično stariji nego u ostalim podtipovima, uglavnom se dijagnosticira u I i II stadiju; „bulky“ bolest, B simptomi i ekstranodalna lokalizacija su rijetki i rezultati liječenja izvrsni (90).

1.7. Liječenje

Uspješnim onkološkim liječenjem može se postići kompletna remisija - nestanak kliničkih, radioloških i patohistoloških znakova bolesti, ili pak parcijalna remisija, tj. regresija tumorske mase za >50% (91). Relaps označava ponovnu pojavu kHL poslije uspostave kompletne remisije na lokacijama prethodne bolesti, ili novim lokacijama (92). Ukupno preživljenje (kratica OS od engl. overall survival) je vrijeme od postavljanja dijagnoze bolesti do smrti bolesnika, neovisno o tom je li uzrok smrti izravna posljedica bolesti, ili nevezan. Preživljenje bez progresije bolesti (kratica PFS od engl. progresion free survival) je vrijeme od početka liječenja do dokaza napredovanja bolesti ili smrti bolesnika (93).

Liječenje kHL ovisi o kliničkom stadiju, veličini tumorske mase, podtipu i B simptomima, a navedni čimbenici važni su za prognozu. U stadijima I i II negativni prognostički čimbenici su velika medijastinalna masa, ekstranodalna zahvaćenost, zahvaćenost više od tri regije limfnih čvorova, B simptomi i/ili ubrzana sedimentacija eritrocita (>50 mm/h ako bolesnik nema i > 30 mm/h ako bolesnik ima B simptome) (94). Za stadije III i IV postoji prognostički bodovni sustav (kratica IPS od eng. International Prognostic Score – Hasenclever indeks). Rizični prognostički čimbenici su: klinički stadij IV, muški spol, dob >45 godina, apsolutni broj limfocita < 600/μL, leukociti >15x10^9/L, albumin < 40 g/L i hemoglobin < 105 g/L (95).

Radioterapija je rijetko jedini modalitet liječenja, a ukupna doza zračenja po određenoj regiji je 20-30 Gy (5). Nekoć se, u cilju zračenja zahvaćenih i okolnih nepromjenjenih limfnih čvorova, zahvaćalo prošireno polje - vrat, prsa i aksile, ili limfni čvorovi abdominalnog područja, a danas samo ograničeno zahvaćeno polje (IFRT od engl. Involved Field Radio Therapy), tj. limfni čvorovi zauzeti tumorom (96). Za liječenje HL postoje preporučene europske i američke smjernice (ESMO – European Society for Medical Oncology i NCCN – The National Comprehensive Cancer Network), kao i hrvatske smjernice KROHEM-a. Ovisno o kliničkom stadiju bolesti, postojanju nepovoljnih čimbenika i prognostičkom Hasencleverovu indeksu, određuje se intenzitet i vrsta kemoterapije uz eventualnu radioterapiju. Jedna od najčešće korištenih sustavnih polikemoterapija je protokol ABVD (doksorubicin, bleomicin, vinblastin, dakarbazin). U Hrvatskoj se za proširenu bolest sve češće u početnoj terapiji daje eskalirani BEACOPP (bleomicin, etopozid, doksorubicin, ciklofosfamid, vinkristin, prokarbazin i prednizon). U relapsu bolesti ili u primarno rezistentnoj bolesti potrebno je provesti liječenje drugom linijom. Visoke doze kemoterapije praćene transplantacijom autolognih hematopoetskih matičnih stanica koštane srži (ATKS) su

liječenje izbora u bolesnika s refraktornim ili relapsnim Hodgkinovim limfomom. U Hrvatskoj je Brentuximab vedotin (konjugat protutijela na CD30 i antineoplastičkog lijeka) opcija za bolesnike koji su doživjeli relaps nakon autologne transplantacije. Taj lijek se također primjenjuje kao treća linija liječenja za bolesnike koji nisu pogodni za liječenje transplantacijom. Liječenje anti-PD1 protutijelima nivolumabom i pembrolizumabom je opcija za bolesnike koji su refraktorni na liječenje prethodnim linijama uključujući ATKS i Brentuksimab vedotin. Alogenična transplantacija koštane srži moguća je terapijska opcija u mladih bolesnika u kojih je ATKS bila neuspješna i u kemosenzitivnih mladih bolesnika dobrog općeg stanja. u višim linijama i nakon pomne procjene koristi/štete takve terapije (97).

1.8. Prognoza

Što je klinički stadij kHL niži, veći su izgledi za izlječenje. Uz modernu terapiju kompletna remisija i potpuno izlječenje mogu se postići u 80% slučajeva. Prognostičku vrijednost imaju klinički stadij, laboratorijski pokazatelji i B simptomi, dok je prediktivna vrijednost podtipa kHL danas manja (5). U djece s kHL je prognoza također dobra; u ranim stadijima bolesti preživljenje je 95%, a u uznapredovalim preko 70% (22). Zbog onkološkog liječenja moguć je nastanak sekundarnih malignoma - najčešće se javlja sekundarna akutna mijeloična leukemija ili mijelodisplastični sindrom (98). Zračenje medijastinuma može ubrzati nastanak koronarne ateroskleroze i u žena izazavati rak dojke (99, 100). Unatoč tome, terapija Hodgkinovog limfoma se kroz vrijeme unaprijedila te je uz primjenu manje toksičnih kemoterapijskih i radioterapijskih protokola osigurana visoka stopa izlječenja. Smanjena je učestalost recidiva, sekundarnih maligniteta i neplodnosti u odnosu na prošlost, kad je smrtnost od komplikacija liječenja nakon desetak godina bila velika (100).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja je na uzorku biopsija klasičnog Hodgkinovog limfoma u 108 ispitanika dijagnosticiranih u KBC Split od 2008. do 2018. godine

1. analizirati raspodjelu po epidemiološkim (spol, dob), histološkim (podtip, EBV status) i kliničkim pokazateljima (stadij, B simptomi, remisija)
2. utvrditi ima li razlike u dobi, spolu, podtipu i postignuću remisije s obzirom na EBV status

Hipoteza:

Pretpostavljamo da će udio podtipa NS biti veći, a postotak EBV pozitivnih Hodgkinovih limfoma ostati sličan postotku u prethodnim hrvatskim studijama.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

U istraživanje su uključeni oboljeli od klasičnog Hodgkinovog limfoma kojima je tumor susljedno dijagnosticiran na Odjelu za patologiju Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC Split od 1. siječnja 2008. godine do 11. rujna 2018. godine, a liječeni su na Klinici za unutarnje bolesti i Klinici za dječje bolesti KBC Split. Iz računalne baze prikupljeni su patohistološki nalazi s MKB šifrom C81 (Hodgkinov limfom) dijagnosticirani od 1. siječnja 2008. godine do 11. rujna 2018. godine,. iz kojih su uzeti podatci o dobi i spolu ispitanika, patohistološkoj dijagnozi, EBV statusu tumora i datumu uzimanja biopsije. Klinički podaci (stadij bolesti, B simptomi, datum postignuća remisije) iz povijesti bolesti uzeti su iz pismohrane Klinike za unutarnje bolesti i Klinike za dječje bolesti, sve s dozvolom Etičkog povjerenstva KBC Split. Kriterij uključenja bio je patohistološki nalaz, podatak o EBV statusu i klinički podaci. Iz studije su isključeni ispitanici koji nisu imali dostupne kliničke podatke ili parafinski blok za određivanje EBV statusa kHL.

3.2. Metode

Za 24 ispitanika koji u patohistološkom nalazu nisu imali podatak o EBV statusu kHL, trebalo ga je naknadno utvrditi analizom iz parafinskog bloka. Iz arhive Odjela za patologiju prikupljeni su njihovi parafinski blokovi tumorskog tkiva, izrezani preparati debljine 5 mikrometara i montirani na predmetnice. Nakon fiksacije, deparafinirani su u ksilolu (3x5 minuta), standardno rehidrirani u gradijentu etanola (100%, 96%, 70% etanol) i hidrirani u destiliranoj vodi. Za otkrivanje antigena preparati su kuhani u citratnom puferu 12 minuta na 700W i ohlađeni na sobnoj temperaturi 20 minuta. Potom su preparati obrađeni za imunoflorescentnu, odnosno imunohistokemijsku metodu.

U imunoflorescentnoj metodi na preparate je aplicirano primarno mišje protutijelo anti-EBV LMP (klon CS1-4, DAKO, razrjeđenje 1:75) i inkubirano u tamnom i vlažnom prostoru 60 minuta. Nakon ispiranja PBS-om aplicirano je sekundarno protutijelo (Alexa flour 594, Molecular Probes Life Technologies; razrjeđenje 1:400) 60 minuta. Nakon ispiranja, apliciran je DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) u trajanju 2 minute i ispran u PBS. Preparati su poklopljeni medijem i pokrovnicom i analizirani na invertiranom fluoresentnom mikroskopu Olympus IX51, Tokyo, Japan na velikom povećanju. Pozitivan nalaz bio je flourescentno obojenje membrane HRS stanice. Fotografije su slikane uporabom Image J Software for Life Sciences Microscopy .

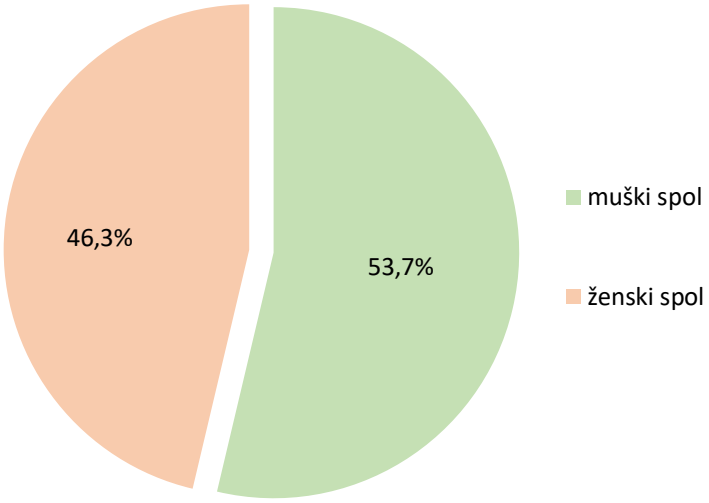
U imunohistokemijskoj metodi su preparati pokriveni vodikovim peroksidom 30 minuta radi blokiranja endogene peroksidazne aktivnosti. Poslije ispiranja u PBS aplicirano je primarno mišje protutijelo anti-EBV LMP (klon CS1-4 DAKO u razrjeđenju 1:75) i inkubirano 60 minuta u tamnom i vlažnom prostoru. Poslije ispiranja aplicirano je sekundarno protutijelo (EnVision, DAKO) 40 minuta. Nakon ispiranja, aplicirana je otopina kromogena DAB i supstrata vodikova peroksida 10 minuta. Nakon ispiranja i rehidracije, preparati su pokriveni pokrovnicom i analizirani na svjetlosnom mikroskopu Olympus BX51, Tokyo, Japan. Pozitivan nalaz bio je smeđe obojenje membrane i Golgijeva tijela HRS stanice.

3.3. Statistička analiza

Podaci su uneseni u Excel i analizirani uporabom programskog paketa GraphPad Prism 8.1 (GraphPad software, La Jolla, CA SAD). Razlike u kontinuiranim varijablama su testirane ANOVA-om popraćenom Fisherovim LSD testom. Razlike između kategorijskih varijabli su testirane χ^2 testom, Fisherovim egzaktnim testom ili χ^2 testom za trend ukoliko se testirane skupine moglo posložiti u logičan slijed. Razina statističke značajnosti je postavljena na $p<0.05$.

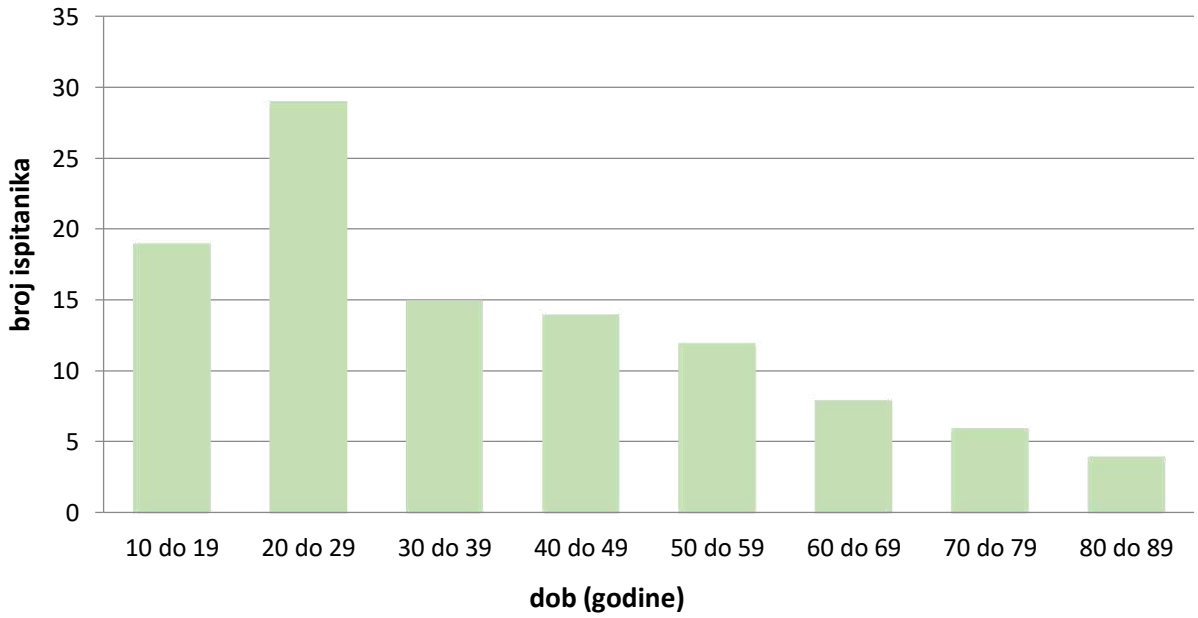
4. REZULTATI

Od 108 ispitanika s kHL, 58 (53,7%) su muškog, a 50 (46,3%) ženskog spola, u omjeru 1,16:1 (Slika 9).



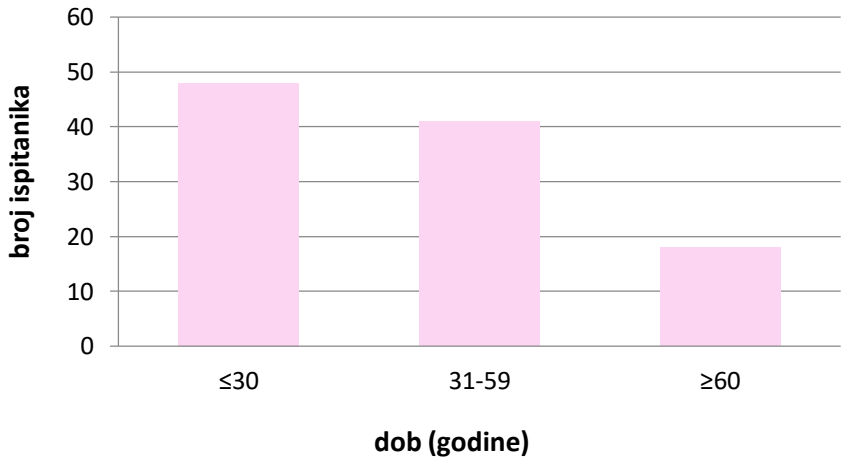
Slika 9. *Raspodjela ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom po spolu*

Raspon godina je 11 do 86 godina, medijan 32 godine i srednja dob 37,95 ± 19,56 godina. Srednja dob ispitanika muškog spola je 37,36 godina ± 18,45, a ženskog spola 38,65 godina ± 20,97 (Slika 10).



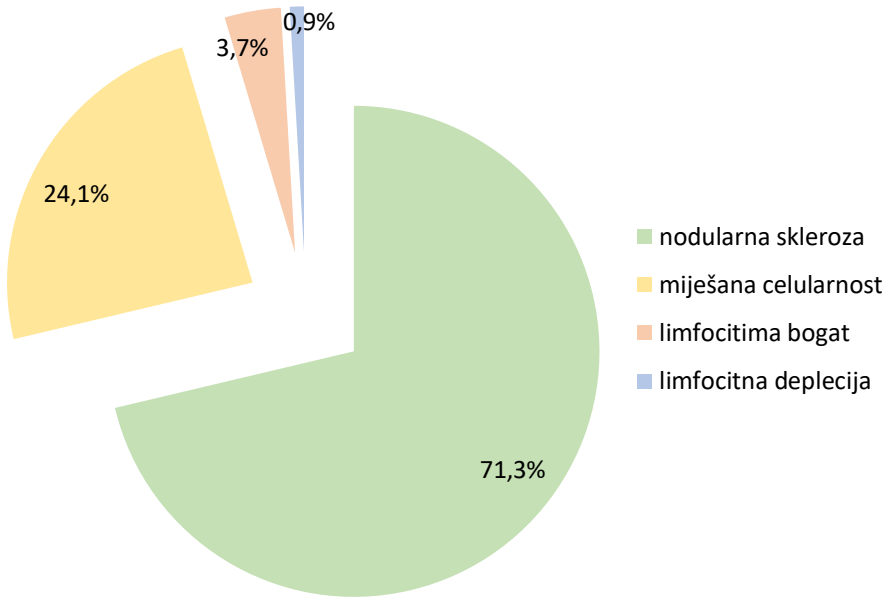
Slika 10. *Raspodjela ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom po dobi*

Ispitanika do 30 godina je 48 (44,86%), između 31 i 59 godina 41 (38,32%), a starijih od 60 godina 18 (16,82%). U uzorku je 17 (15,89%) ispitanika mlađih od 18 godina. Naznačena je bimodalnost u raspodjeli po dobi (Slika 11).



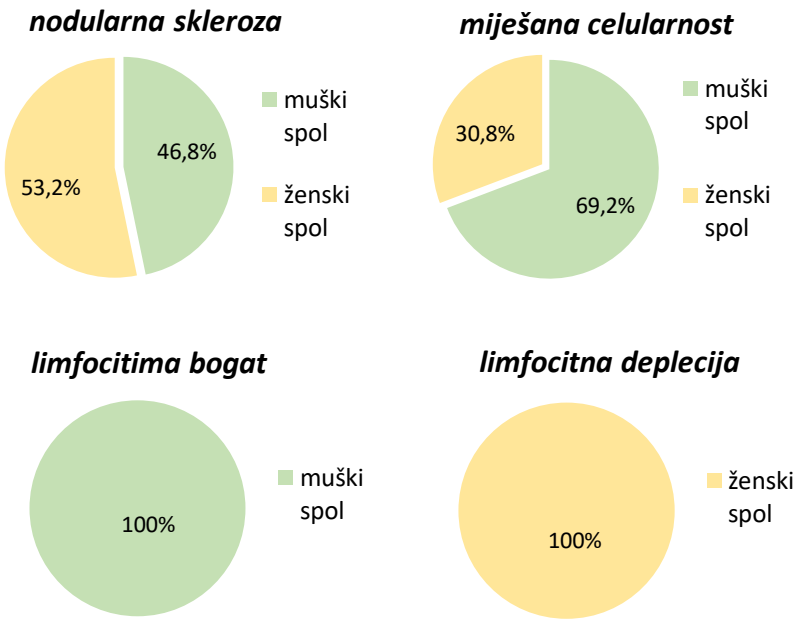
Slika 11. *Raspodjela ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom po dobi*

S obzirom na histološki podtip, većina ispitanika, njih 77 (71,3%) imala je NS, 26 (24,1%) MC, četvero (3,7%) LR, a jedna ispitanica (0,9%) LD (Slika 12). NS je statistički značajno češće zastupljen od drugih podtipova (P<0.0001, χ^2 test).



Slika 12. *Raspodjela ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom po podtipu*

U MC je bio veći udio muškog spola, 69,2%, a u NS udio ženskog spola, 53,2%, sva četiri ispitanika s LR bili su muškog spola, a jedina ispitanica s LD ženskog spola (Slika 13).



Slika 13. *Udio muškog i ženskog spola u odnosu na podtip klasičnog Hodgkinovog limfoma*

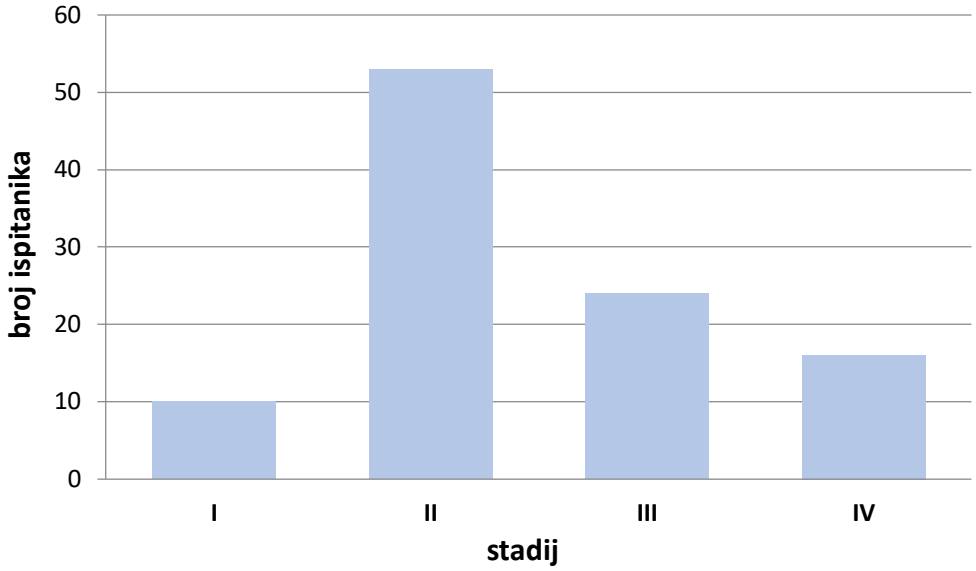
Srednja životna dob po podtipu kHL prikazana je na tablici 2. Ispitanici s NS su 10,9 ± 4,3 godine mlađi od ispitanika s MC (P=0.0126, Fisherov LSD test).

Tablica 2. *Srednja životna dob ispitanika prema podtipu klasičnog Hodgkinovog limfoma*

PODTIP	SREDNJA ŽIVOTNA DOB (GODINE)	P
Nodularna skleroza	34,66 ± 18,88	0.0126
Miješana celularnost	45,62 ±19,75	
Limfocitima bogat	44 ±16,81	
Limfocitna deplecija	65	

Fisherov LSD test

U času postavljanja dijagnoze 10 (9,7%) ispitanika bilo je u prvom stadiju bolesti, 53 (51,45%) u drugom, 24 (23,3%) u trećem i 16 (15,53%) u četvrtom stadiju bolesti. Za pet ispitanika nije pronađen podatak o stadiju bolesti. Najviše je ispitanika dijagnosticirano u drugom stadiju bolesti (Slika 14).



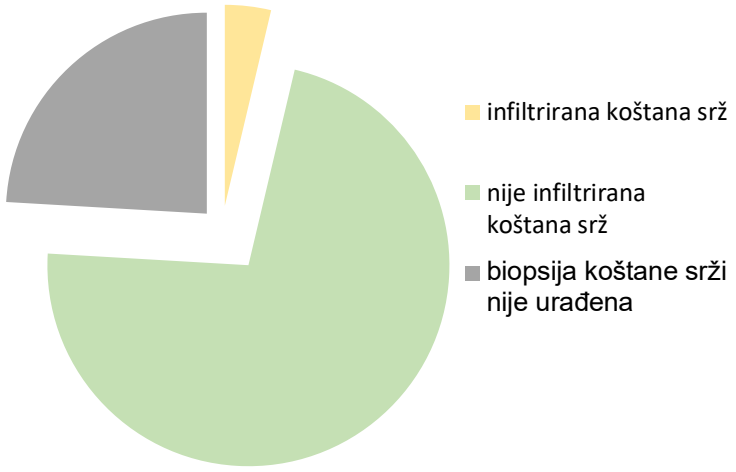
Slika 14. *Raspodjela ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom po kliničkom stadiju*

Većina ispitanika s NS i LR bili su dijagnosticirani u drugom stadiju bolesti, 58,33% odnosno 75%. Većina ispitanika s MC, njih 34,62% i jedina ispitanica s LD bili su dijagnosticirani u trećem stadiju bolesti (Tablica 3).

Tablica 3. *Raspodjela podtipova klasičnog Hodgkinovog limfoma po kliničkom stadiju*

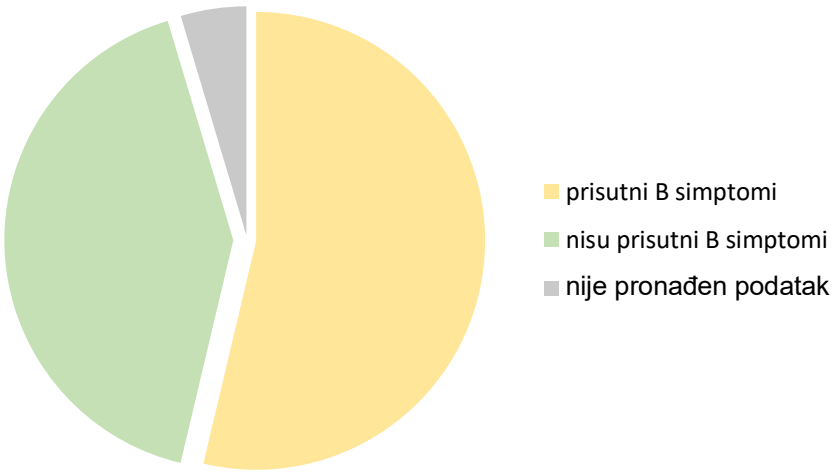
PODTIP	**STADIJ (%)**			
	I.	II.	III.	IV.
Nodularna skleroza	6,94	58,33	19,44	15,28
Miješana celularnost	15,38	30,77	34,62	19,23
Limfocitima bogat	25	75	0	0
Limfocitna deplecija	0	0	100	0

U 82 ispitanika je u sklopu dijagnostičke obrade bila urađena biopsija koštane srži. Infiltraciju koštane srži imala su četiri (4,88%) ispitanika, dva s NS i dva s MC (Slika 15).



Slika 15. *Inflitracija koštane srži u ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom*

58 (56,3%) ispitanika je imalo B simptome, 45 (43,7%) je bilo bez B simptoma, a za pet ispitanika nije nađen taj podatak (Slika 16). B simptome je imalo 51% ispitanika ženskog i 61% muškog spola.



Slika 16. *Prisutnost B simptoma u ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom*

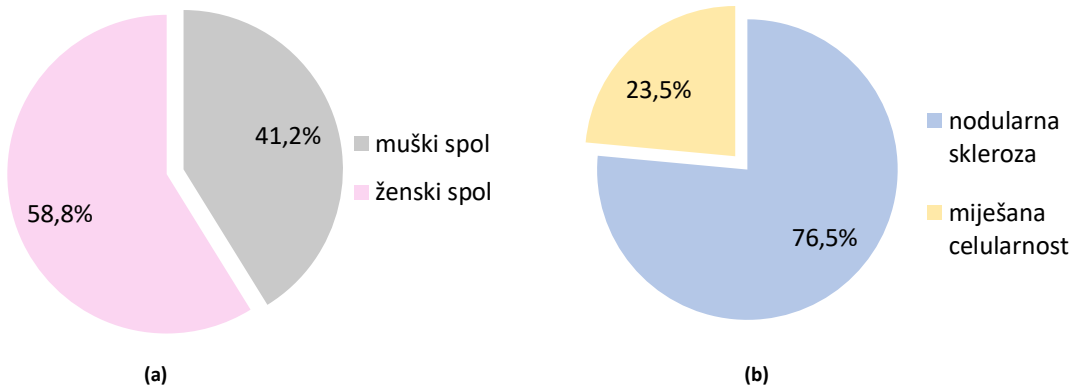
B simptome imalo je 45 (62,5%) ispitanika s NS, 11 (42,3%) s MC, 1 (25%) s LR i 1 (100%) s LD (Tablica 4). Nije dokazana razlika u zastupljenosti B simptoma po podtipovima (P=0.1768, Fisherov egzaktni test).

Tablica 4. *Pristutnost B simptoma u histološkim podtipovima klasičnog Hodgkinovog limfoma*

PODTIP	**B simptomi (%)**		**P**
	Prisutni B simptomi	Nisu prisutni B simptomi	
Nodularna skleroza	62,5	37,5	0.1768
Miješana celularnost	42,3	57,7	
Limfocitima bogat	25	75	
Limfocitna deplecija	100	0	

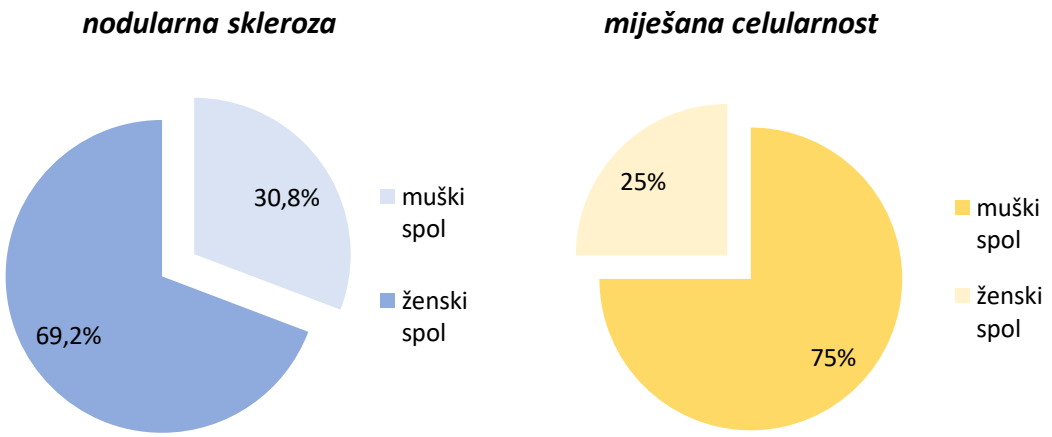
Fisherov egzaktni test

U ispitanika mlađih od 18 godina 7 (41,2%) je muškog i 10 (58,8%) ženskog spola. Dijagnosticirani podtipovi su NS s 13 (76,5%) ispitanika i MC s 4 (23,5%) ispitanika (Slika 17).



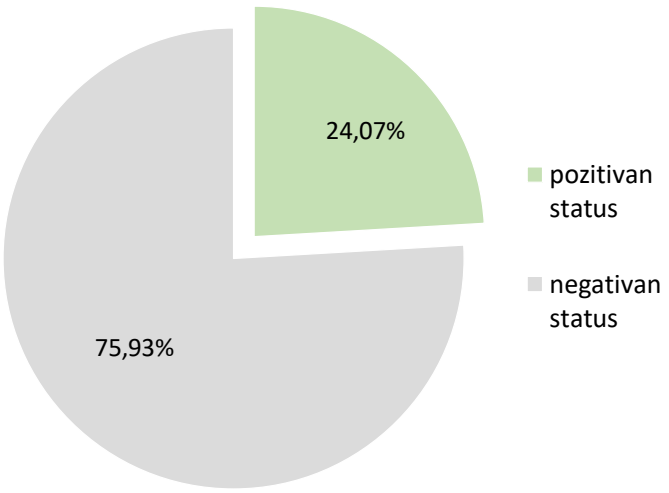
Slika 17. *Raspodjela ispitanika mlađih od 18 godina po spolu (a) i podtipu (b) klasičnog Hodgkinovog limfoma*

U mlađih od 18 godina u podtipu NS bilo je 9 (69,2%) ispitanika ženskog i 4 (30,8%) muškog spola, a u podtipu MC 3 (75%) muškog i jedan (25%) ženskog spola (Slika 18).



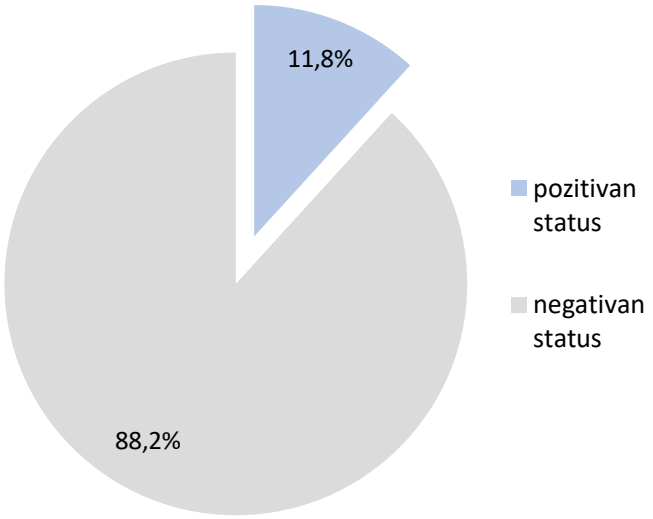
Slika 18. *Raspodjela po spolu u podtipovima nodularne skleroze i miješane celularnosti klasičnog Hodgkinovog limfoma u ispitanika mlađih od 18 godina*

Pozitivan EBV status utvrđen je u 26 (24,07%) ispitanika, a u 82 (75,93%) ispitanika nalaz je bio negativan (Slika 19).



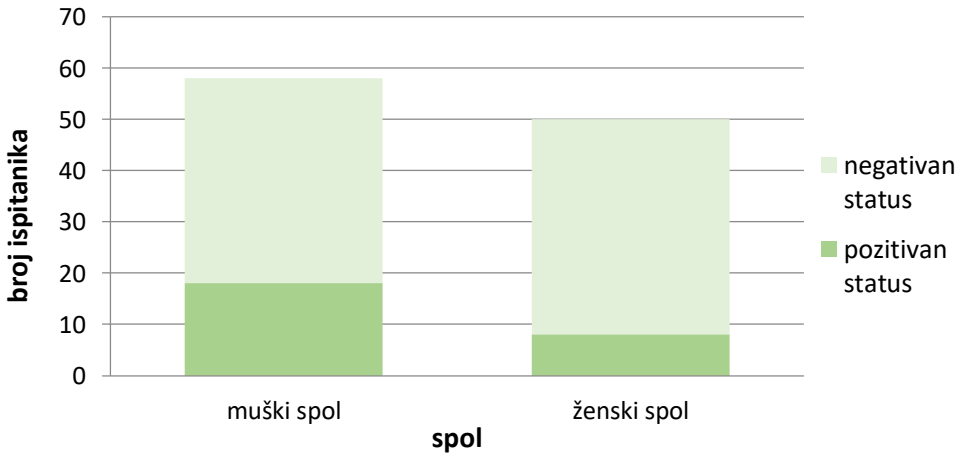
Slika 19. *Epstein-Barr virusni status u ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom*

U 17 ispitanika mlađih od 18 godina, samo dvoje (11,8%) je imalo pozitivan EBV status kHL (Slika 20).



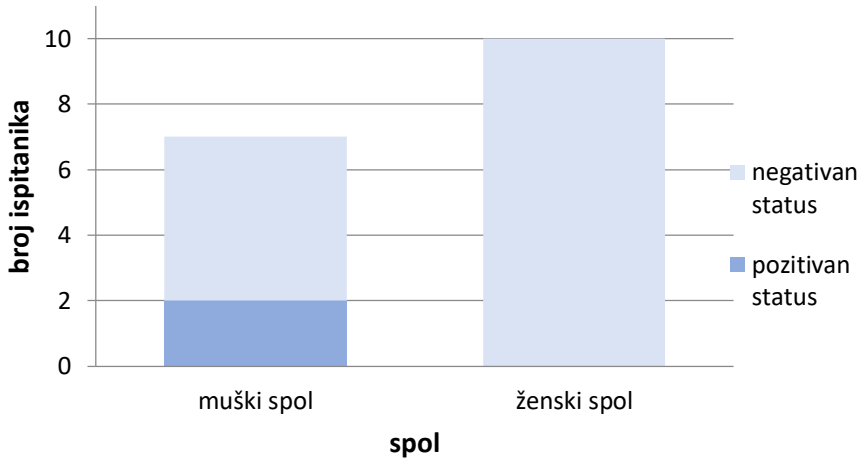
Slika 20. *Epstein-Barr virusni status klasičnog Hodgkinovog limfoma u ispitanika mlađih od 18 godina*

EBV pozitivan status kHL utvrđen je u 8 (16%) ispitanika ženskog i 18 (31%) ispitanika muškog spola (Slika 21). Razlika u učestalosti EBV pozitivnog statusa po spolu nije dosegla razinu značajnosti (P=0.076, Fisherov egzaktni test).



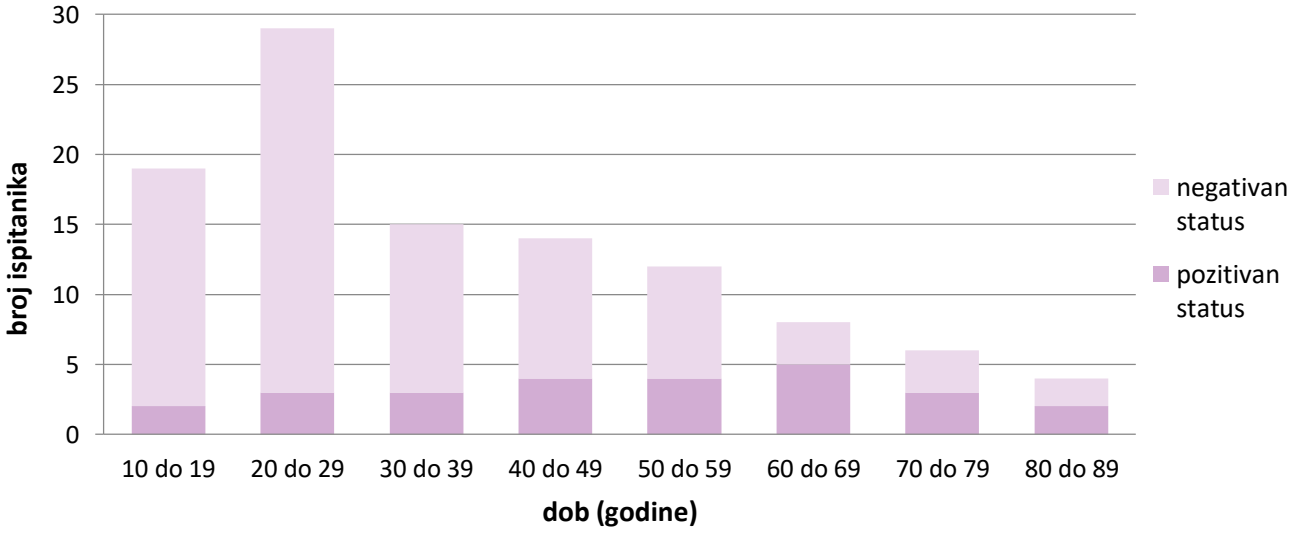
Slika 21. *Epstein-Barr virusni status klasičnog Hodgkinovog limfoma po spolu*

U ispitanika mlađih od 18 godina pozitivan EBV status utvrđen je u dva ispitanika muškog spola (Slika 22).



Slika 22. *Epstein-Barr virusni status klasičnog Hodgkinovog limfoma po spolu u ispitanika mlađih od 18 godina*

Među mlađima od 30 godina, 5 (10,42%) ispitanika ima pozitivan EBV status, u ispitanika između 31 i 59 godina 11 (26,82%), a u skupini ≥60 godina 10 (55,56%) ispitanika (Slika 23). Utvrđeno je da učestalost EBV pozitivnog statusa kHL raste sa životnom dobi ispitanika (P=0.0002, χ^2 test za trend).



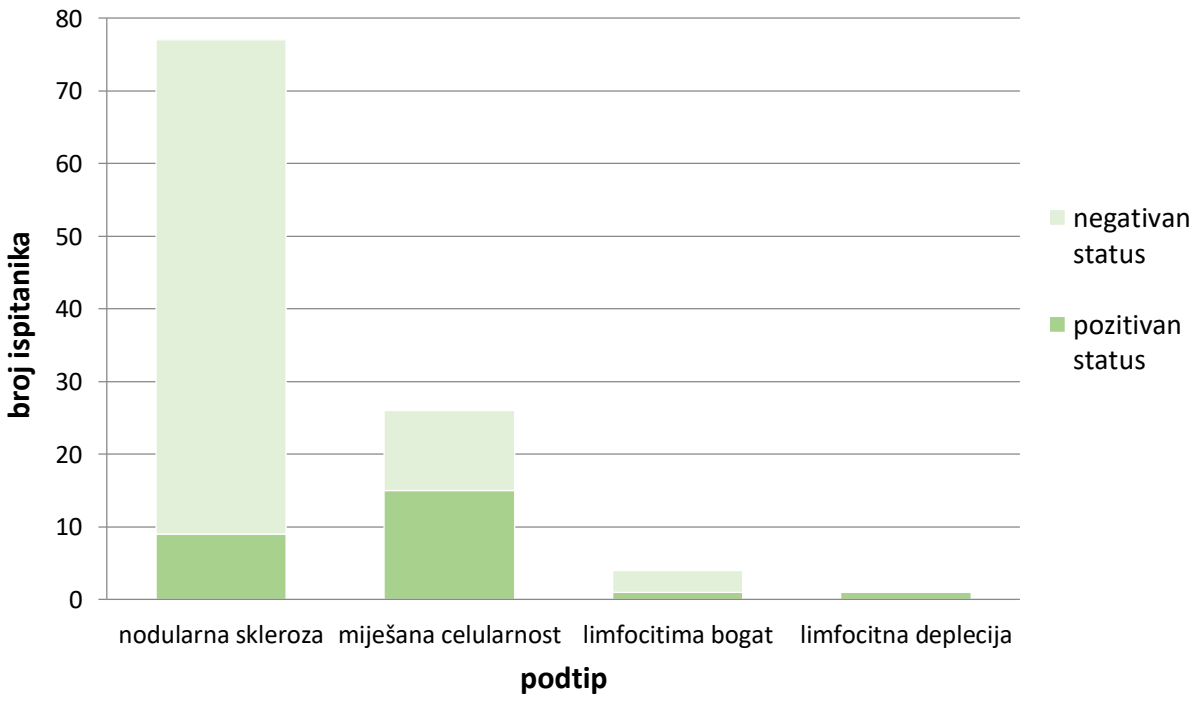
Slika 23. *Epstein-Barr virusni status klasičnog Hodgkinovog limfoma po dobnim skupinama*

EBV pozitivan status utvrđen je u 9 (11,7%) ispitanika s NS, 15 (57,7%) ispitanika s MC, 1 (25%) ispitanika s LR i 1 (100%) s LD (Tablica 5). Utvrđena je statistički značajna razlika u učestalosti EBV pozitivnog statusa između NS i MC podtipa (P<0.0001, Fisherov egzaktni test) (Slika 24).

Tablica 5. *Epstein-Barr virusni status prema podtipu klasičnog Hodgkinovog limfoma*

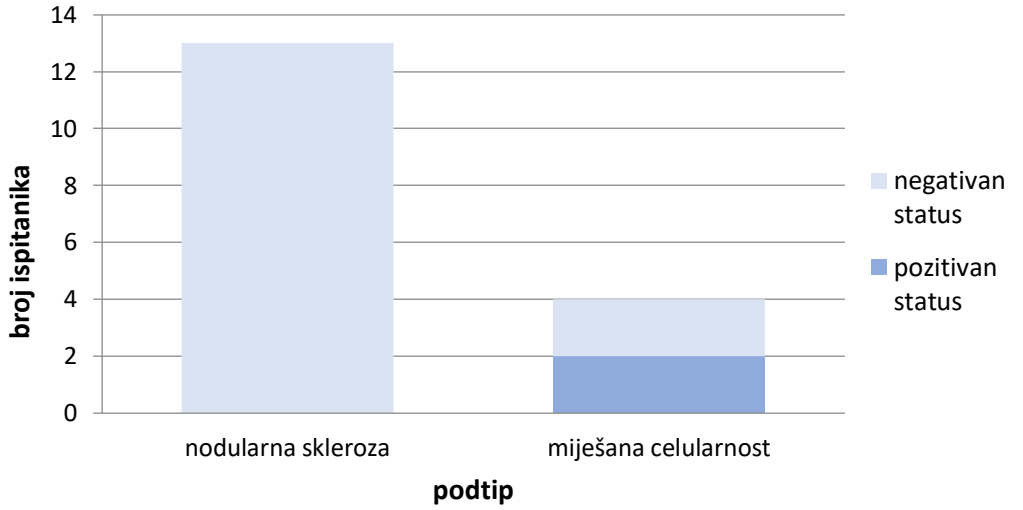
PODTIP	**BROJ ISPITANIKA (N)**	**Epstein-Barr virusni status (%)**		**P**
		Pozitivan status	Negativan status	
Nodularna skleroza	77	11,7	88,3	P<0.0001
Miješana celularnost	26	57,7	42,3	
Limfocitima bogat	4	25	75	
Limfocitna deplecija	1	100	0	

Fisherov egzaktni test



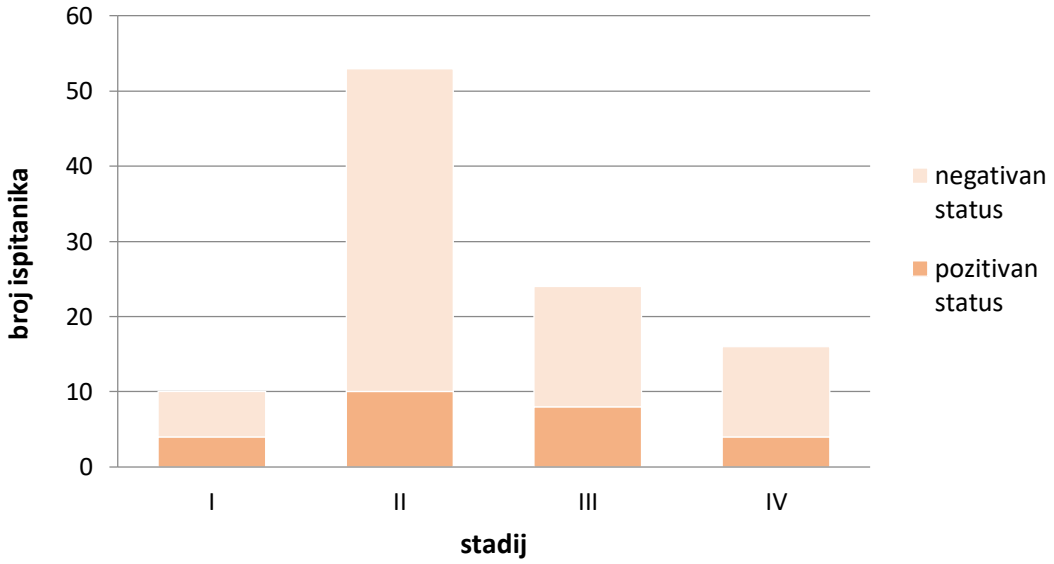
Slika 24. *Epstein-Barr virusni status prema podtipu klasičnog Hodgkinovog limfoma*

U 17 ispitanika mlađih od 18 godina oba pozitivna ispitanika imala su podtip MC (Slika 25).



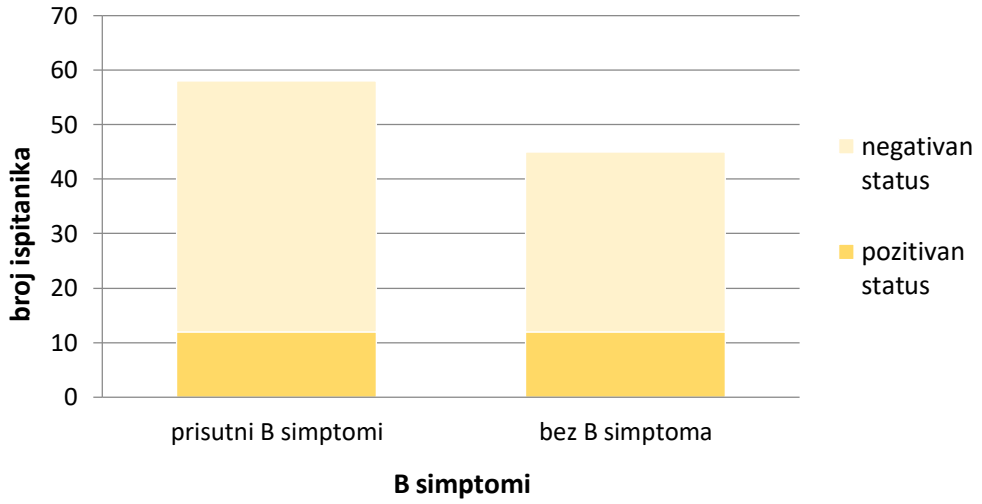
Slika 25. *Epstein-Barr virusni status prema podtipu klasičnog Hodgkinovog limfoma u ispitanika mlađih od 18 godina*

Pozitivan EBV status kHL utvrđen je u 4 (40%) ispitanika u prvom kliničkom stadiju, 10 (18,87%) u drugom, 8 (33,3%) u trećem i 4 (25%) ispitanika u četvrtom kliničkom stadiju (Slika 26).



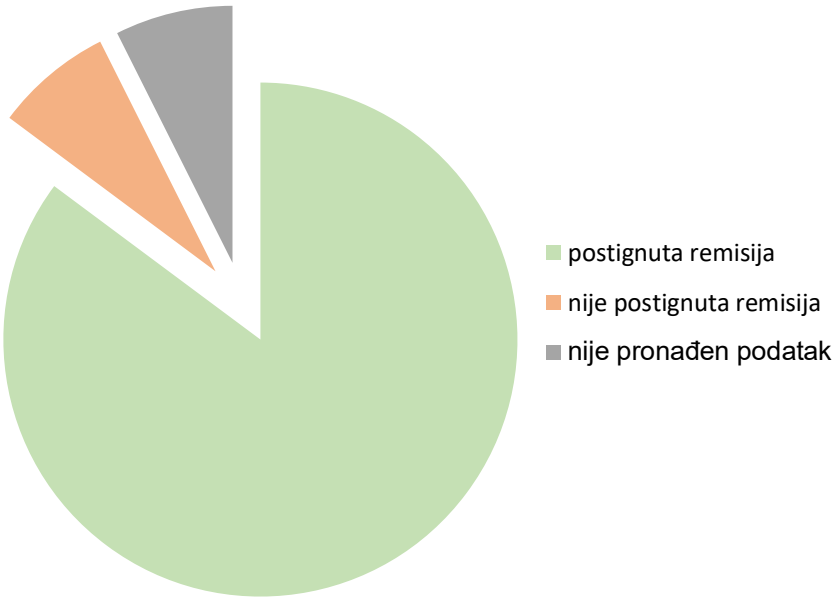
Slika 26. *Epstein-Barr virusni status klasičnog Hodgkinovog limfoma prema kliničkom stadiju*

EBV pozitivan status kHL imalo je 12 (20,7%) ispitanika s B simptomima i 12 (26,6%) ispitanika bez B simptoma (Slika 27).



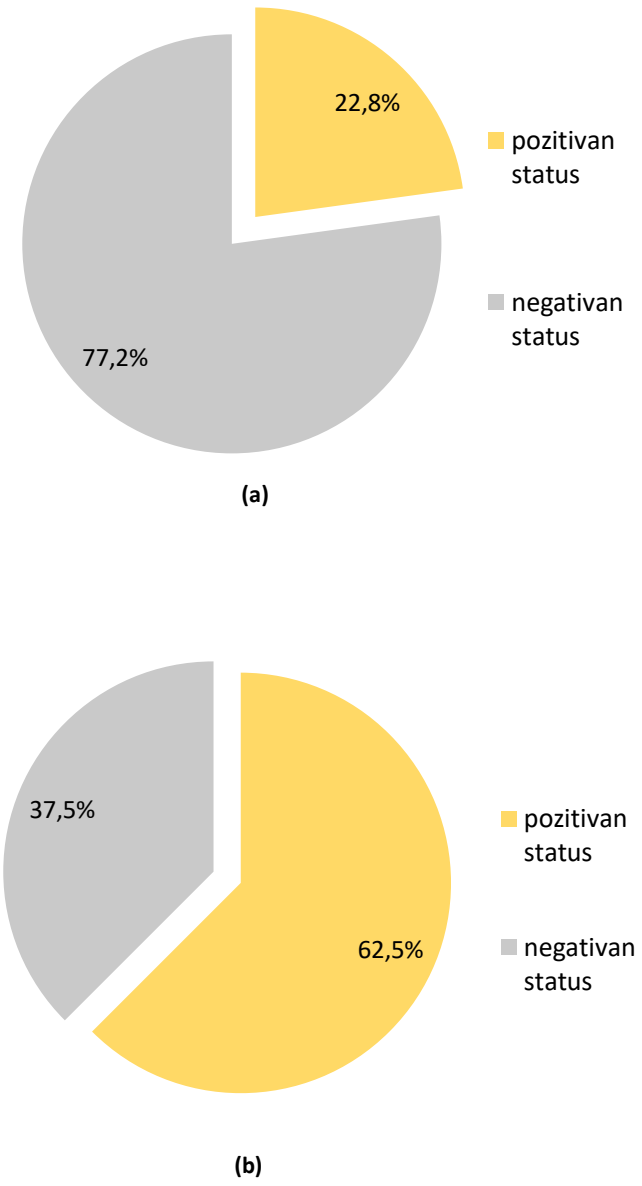
Slika 27. *Epstein-Barr virusni status u odnosu na B simptome u klasičnom Hodgkinovopm limfomu*

Osam ispitanika (8%) nije postiglo, a 92 (92%) je postiglo remisiju; za 8 ispitanika podatak o remisiji nije pronađen (Slika 28). Od ispitanika koji nisu postigli remisiju, dvoje je mlađih od 30 godina, a petero ≥60 godina.



Slika 28. *Postignuće remisije u ispitanika s klasičnim Hodgkinovim limfomom*

Od osam ispitanika koji nisu postigli remisiju, pet (62,5%) je imalo EBV pozitivan status kHL, a tri (37,5%) EBV negativan status, dok u je u ispitanika koji su postigli remisiju EBV pozitivan status imao je 21 (22,8%) ispitanik, a negativan status kHL 71 (77,2%) ispitanik (Slika 29). U skupini koja nije postigla remisiju, značajno je veći udio ispitanika s EBV pozitivnim statusom kHL (P=0.0265, Fisherov egzaktni test).



Slika 29. *Epstein-Barr virusni status klasičnog Hodgkinovog limfoma u ispitanika koji jesu (a) ili nisu (b) postigli remisiju*

5. RASPRAVA

Onkogeni potencijal Epstein-Barr virusa najprije je otkriven u Burkitovom limfomu, 1964. godine (101). Sposobnost virusa da u zaraženim B stanicama *in vitro* izazove proliferaciju u besmrtne B stanične linije iskorištena je u proučavanju virusnih gena i transformacije B stanica. Pozitivan izražaj latentnog membranskog proteina LMP1 EBV u HRS stanicama potvrdio je latentnu prisutnost EBV u Hodgkinovom limfomu, a in situ hibridizacija EBERs, malenih nekodirajućih virusnih RNA, dokazala virusni genom u jezgri tumorskih stanica. Ovim relativno jednostavnim tehnikama otvorila se šansa istraživanju zastupljenosti tog onkogenog virusa u histološkim preparatima drugih tumora, tako da se s godinama proširio spektar EBV pozitivnih tumora i proliferacija (7, 58). EBV status kHL istražen je u kohortnim studijama u mnogim zemljama svijeta, kao i njegova povezanost s morfološkim, kliničkim i prognostičkim pokazateljima kHL (102).

U studiji Glavina-Durdov i suradnika iz 2001. godine, od 100 ispitanika s kHL dijagnosticiranih od 1980.-1990. godine, 26% je imalo EBV pozitivan status (103). U studiji Pavlović i suradnika sa 102 ispitanika iz razdoblja 1997.-2009. njih 29% imalo je pozitivan EBV status. U diplomskom radu Maslov iz 2004. i ovom diplomskom radu, kojima je obuhvaćeno razdoblje 1978.-2004. odnosno 2008. do 2018., postotak EBV pozitivnih je 21% odnosno 24,07% (25, 104). Može se zaključiti da je postotak EBV pozitivnog kHL u našoj populaciji stabilan kroz godine, unatoč tome što se raspodjela po podtipu promijenila. Za razliku od toga, Campos i suradnici u Brazilu i Dhiab i suradnici u Tunisu u svojim studijama uočavaju pad udjela EBV pozitivnih ispitanika (40, 46).

Prema objavljenim radovima, u susjednim zemljama je veća učestalost EBV pozitivnog kHL nego u Hrvatskoj. Tako u BiH Čičkušić i suradnici izvještavaju o 48,1%, a u Mađarskoj Keresztes i suradnici o 56% ispitanika s kHL koji imaju pozitivan EBV status (26, 28). U Zapadnim zemljama i SAD-u nađen je sličan udio EBV pozitivnog kHL kao u našoj studiji: u Austriji 26%, u Engleskoj 33%, a u SAD 27% EBV pozitivnih ispitanika s kHL (29, 35, 38). Nasuprot tome, u zemljama s mnogo siromašnih, veći je udio bolesnika s EBV pozitivnim nego s EBV negativnim statusom: u Indiji 78%, u Keniji 79%, u Egiptu 63% i u Meksiku 70% (39, 44, 45, 54).

U prethodnim hrvatskim studijama je EBV pozitivni status kHL značajno češće utvrđen u MC, a negativni status u NS (25, 103, 104), što je u ovom radu potvrđeno. Slični rezultati su u švedskoj i engleskoj studiji, u kojima je MC bio češće pozitivan u odnosu na druge podtipove (32, 35). Međutim, u literaturi postoje i drugačiji podaci. U studiji iz BiH je 45% ispitanika s NS i 58% ispitanika s MC imalo pozitivan EBV status (26). U studiji s

Tajvana autori navode visoki izražaj EBV u MC, 69,2%, ali i u NS podtipu, 63,9% (57). U Turskoj je pak u jednoj studiji utvrđena veća učestalost EBV pozitivnih ispitanika u NS, 62,5%, nego u MC, 40%, što je suprotno našim nalazima (47).

Nismo našli značajnu povezanost EBV statusa s B simptomima, što je u suglasju s rezultatima prethodne hrvatske studije (103). Jarret i suradnici u UK također ne navode značajnu povezanost EBV pozitivnog statusa i B simptoma (105). Nasuprot tome, Koh i suradnici u Koreji utvrdili su značajno veći udio EBV pozitivnog statusa u ispitanika s prisutnim B simptomima (55).

U našoj studiji, kao ni u prethodnoj hrvatskoj studiji i radovima iz BiH i Mađarske, nije utvrđena statistički značajna razlika između EBV pozitivnog i negativnog statusa s obzirom na spol (25, 26, 28). Međutim, u studijama iz Kine, Koreje i Tunisa uočena je značajna povezanost muškog spola s EBV pozitivnim statusom (53, 55, 106).

U našoj studiji je 55,56% ispitanika starijih od 60 godina imalo pozitivan EBV status, što je u suglasju s hrvatskom studijom iz 2016. (25). Enblad i suradnici u švedskoj studiji i Jarret i suradnici u engleskoj studiji izvještavaju da su ispitanici s kHL i EBV pozitivnim statusom bili značajno stariji (35, 107). Najmanje ispitanika s EBV pozitivnim statusom bilo je u skupini do 30 godina, što odgovara podatcima iz Zapadnih zemalja (108). Nasuprot tome, u studiji iz Kenije utvrđena je značajna povezanost EBV pozitivnog statusa i dječje dobi (109).

U 17 ispitanika mlađih od 18 godina samo dvoje (11,8%) je imalo EBV pozitivan status, a u studiji iz 2004. godine 19% (104). U dostupnim studijama iz svijeta, EBV pozitivan status kHL u ispitanika mlađih od 18 godina pokazuje znatne varijacije, a udio pozitivnih je konstantno viši nego u našoj studiji. Tako su Andriko i suradnici u SAD-u utvrdili pozitivan EBV status u 38,6% djece s kHL, Preciado i suradnici u Argentini u 71%, Almasri i suradnici u Jordanu 73%, Araujo i suradnici u Brazilu u 86,7%, a Dinand i suradnici u Indiji u čak 96,6% (41, 48, 110-112). U međunarodnoj studiji Weinreb i suradnika pozitivan EBV status kHL imalo je 50% djece u UK, 50% u Egiptu, 60% u UAE, 70% u Australiji, 90% u Grčkoj i 100% u Keniji (37).

U našoj studiji oba ispitanika u dobi do 18 godina i s EBV pozitivnim statusom bili su muškog spola i s MC podtipom. U pedijatrijskoj studiji HL iz SAD-a dokazana je povezanost EBV pozitivnog statusa s muškim spolom i MC podtipom (110).

Prema literaturi, remisiju postiže 80% bolesnika s kHL (5). U našoj studiji imali smo podatak o remisiji za 100 bolesnika, od kojih je 92% postiglo remisiju. U hrvatskoj studiji iz 2001. godine 26% ispitanika nije postiglo remisiju. Prema tom radu, ispitanici do 30 godina s pozitivnim EBV statusom su češće postizali remisiju (103). U našem radu, od osam ispitanika koji nisu postigli remisiju, 62,5% je imalo pozitivan EBV status, a od 92 koji su postigli remisiju, njih 22,8% te je dokazana negativna povezanost između EBV statusa i postignuća remisije. U Švedskoj na uzorku djece i odraslih nije uočena povezanost EBV pozitivnog statusa i postizanja remisije (32).

U našoj studiji je omjer muškog i ženskog spola 1,16:1, slično rezultatima prethodne hrvatske studije, kao i češke, austrijske i meksičke studije (27, 29, 104, 113). Značajno veći udio muškog spola utvrđen je u pakistanskoj, turskoj i korejskoj studiji (47, 52, 114). U ispitanika mlađih od 18 godina omjer muškog i ženskog spola bio je 0,7:1. Suprotno tome, u argentinskoj i američkoj pedijatrijskoj studiji omjer je 3,2:1, odnosno 10:1 (41, 110).

U ovoj, kao i prethodnim hrvatskim studijama naznačen je bimodalni raspored po dobi, s 44,86% ispitanika do 30 godina i 16,82% ispitanika starijih od 60 godina (25, 104). Takav bimodalni raspored karakterističan je za razvijene zemlje (24, 34, 35). Nasuprot tome, u zemljama s puno siromašnih je značajno veća učestalost HL u mlađoj životnoj dobi pa je tako u Brazilu 85% bolesnika s HL mlađe od 45 godina, a u Nigeriji 85% mlađe od 35 godina (40, 115).

U naših ispitanika najčešći podtip je NS, s udjelom od 71,3%, a slijedi MS s 24,1%; dok su LR i LD vrlo rijetki. Takva raspodjela nađena je u mnogim studijama u kojima je NS bio najčešći podtip (26, 34, 104, 116). S druge strane, u zemljama s velikim brojem siromašnih najčešći je MC podtip, a NS drugi po učestalosti (44, 115, 117).

U tri sukcesivno rađene hrvatske studije uočen je trend povećanja učestalosti NS, s 48%, na 62% i sada 71,3% i smanjenje učestalosti MC s 37% na 24,1% (25, 103, 104). U radu Glaser i suradnika iz 2015. godine u SAD-u je uočen pad učestalosti NS (87).

U našem radu udio muškog spola u MC bio je 69,2%, a u LR 100%. U španjolskoj i iranskoj studiji također je utvrđen veći udio muškog spola u MC i u LR. Za razliku od naše studije u kojoj je u NS više žena, 53,2%, u iranskoj studiji jednaka je zastupljenost oba spola u NS, a u španjolskoj studiji više je muškaraca, 53,7% (118, 119). Obrnuto, u egipatskoj studiji 100% ispitanika s MC je ženskog spola, a 65,8% ispitanika s NS muškog spola (45).

Od 17 ispitanika mlađih od 18 godina bilo je 13 NS, 76,5% i 4 MC, 23,5%, slično rezultatima pedijatrijske brazilske i švedske studije u kojima je NS bio prevladavajući podtip (120, 121). Nasuprot tome, u Indiji je MC je najčešći podtip u djece, s 72% (112). U našem uzorku nije bilo djece s LR i LD podtipom. Nasuprot tome, u kenijskoj studiji LD je zastupljen s čak 9,8%, a u egipatskoj studiji LR s 18,6% (109, 122).

U mlađih od 18 godina u NS je bila veća zastupljenost ženskog spola, 69,2%, a u MC muškog spola. 75%. Slične rezultate dobili su Englund i suradnici u švedskoj studiji, dok je u južnoafričkoj studiji i u NS prevladavao muški spol (121, 123).

Srednja dob ispitanika s NS bila je za desetak godina niža nego u ostalim podtipovima. Slično tome, u studiji provedenoj u Keniji i Japanu, srednja dob ispitanika s NS je niža od srednje dobi u ostalim podtipovimaa (44). Uz to, u Iranu je srednja dob ispitanika s MC niža nego u naših ispitanika, 31,68 godina prema 45,62 godina (118). Jedina ispitanica s LD bila je u dobi od 65 godina. U prethodnim hrvatskim studijama bilo je više ispitanika s LD, 7 u studiji iz 2001. godine, a 12 ispitanika u studiji iz 2004. godine i svi su bili značajno stariji od ispitanika u ostalim podtipovima (103, 104).

U prethodnoj i ovoj hrvatskoj studiji preko polovine ispitanika bilo je u drugom stadiju bolesti (104). Takav podatak nalazi se također u švedskoj i španjolskoj studiji (32, 119). Suprotno tome, u zemljama s velikim brojem siromašnih kHL je mahom dijagnosticiran u uznapredovalom stadiju. Prema Olu-Eddo i suradnicima u Nigeriji je 66,1% ispitanika s kHL dijagnosticirano u III i IV stadiju, a prema Maddi i suradnicima u Indiji 64,7%. (115, 117).

Gomez-Almaguer i suradnici utvrdili su zahvaćenost koštane srži u 3,3% ispitanika iz Meksika (124). U našem uzorku 4,88% ispitanika imalo je infiltriranu koštanu srž, a nasuprot tome, u južnoafričkoj studiji Naidoo i suradnici utvrdili su infiltraciju koštane srži u 23,7% ispitanika (125).

56,3% naših ispitanika imalo je prisutne B simptome, slično prethodnoj hrvatskoj kao i španjolskoj studiji (36, 104). U literaturi udio ispitanika s prisutnim B simptomima značajno varira od 25% u Kini do 75% u Indiji (117, 126). U našoj studiji B simptomi su najčešće bili prisutni u NS (104). U indijskoj studiji, B simptome je imalo više od pola ispitanika s MC i NS (112).

Ograničenja ove studije vezana su uz nepotpune kliničke podatke o remisiji iz prikupljenih povijesti bolesti za 8 ispitanika, vjerojatno jer je taj podatak bio evidentiran u kontrolnom hematološkom nalazu izvan hospitalizacije.

U hipotezi ovog rada pretpostavili smo da će udio podtipa NS biti veći, a postotak EBV pozitivnih Hodgkinovih limfoma ostati sličan postotku u prethodnim hrvatskim studijama, što smo u rezultatima potvrdili. U raspodjeli po podtipu, u ispitanika do 30 godina je 43 ispitanika s NS prema 4 s MC, a u starijih od 30 godina je 33 ispitanika s NS prema 22 s MC. Smatramo da se u tom različitom omjeru nalazi uzrok stabilnog postotka EBV pozitivnog kHL. Pretpostavljamo da bi se postotak EBV pozitivnih kHL značajno smanjio kad bi u ispitanika starijih od 30 godina bilo manje MC, ili značajno porastao kad bi ispitanici do 30 godina češće imali MC, ali na to utječu kompleksni imunološki pa i socioekonomski uvjeti.

U zaključku, EBV pozitivan status kHL našli smo u 24,07% slučajeva i potvrdili da su NS i MC najčešći podtipovi, a MC najčešće povezan s EBV. Udio ispitanika s EBV pozitivnim statusom kHL raste sa životnom dobi, te je najniži u dječjoj i mladoj odrasloj dobi (10,42%), a najveći u starijih od 60 godina (55,56%). Unatoč trendu porasta učestalosti NS, stabilan je postotak EBV pozitivnog kHL u usporedbi s prijašnjim hrvatskim studijama.

6. ZAKLJUČCI

1. Omjer po spolu ispitanika s kHL je M:Ž=1,16:1.
2. 44,86% ispitanika s kHL je mlađe od 30 godina, a 16,82% starije od 60 godina.
3. Podtip NS utvrđen je u 71,3% ispitanika, MC u 24,1% ispitanika, LR u 3,7% i LD u 0,9% ispitanika.
4. EBV pozitivan status kHL utvrđen je u 26/108 (24,07%) ispitanika.
5. U I stadiju dijagnosticirano je 10 (9,7%), u II stadiju 53 (51,45%), u III stadiju 24 (23,3%) i u IV stadiju 16 (15,53%) ispitanika.
6. 56,3% ispitanika imalo je B simptome.
7. Udio ispitanika s EBV pozitivnim statusom kHL raste sa životnom dobi te je najniži u dječjoj i mladoj odrasloj dobi (10,42%), a najveći u starijih od 60 godina (55,56%).
8. Nije utvrđena razlika po spolu s obzirom na EBV status kHL.
9. EBV pozitivan status kHL značajno je češći u MC nego u NS, 57,7% prema 11,7%.
10. Među ispitanicima koji nisu postigli remisiju bilo je više onih koji su imali pozitivan EBV status kHL nego među ispitanicima koji su postigli remisiju, 62,5% prema 22,8%.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Willard-Mack CL. Normal structure, function, and histology of lymph nodes. Toxicol Pathol. 2006;34:409-24.

2. Krmpotić Nemanić J, Marušić A. Limfni sustav. U: Krmpotić Nemanić J, Marušić A, ur. Anatomija čovjeka. 2. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2007. str. 264-5.

3. Gašparov S, Škrtić A, Dotlić S, Ilić I, Torlaković EE. Bolesti krvotvornih organa i limfnih čvorova. U: Damjanov I, Seiwerth S, Nola M, ur. Patologija. 4. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2014. str. 348-50.

4. Čulo F, Batinić D. Stanice, tkiva i organi imunosnog sustava. U: Taradi M, ur. Imunologija. 7. izdanje. Zagreb: Medicnska naklada; 2010. str. 52-4.

5. Pejša V, Minigo H. Hodgkinov limfom. U: Vrhovac B, ur. Interna Medicina.4. izdanje. Zagreb: Naklada Ljevak; 2008. str. 1022-5.

6. Stone MJ. Thomas Hodgkin: medical immortal and uncompromising idealist. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2005;18:368-75.

7. Swerdlo S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H, et al. WHO Classification of Tumors of Haematopoetic and Lymphoid Tissues. Bosman F, Jaffe E, Lakhani S, Ohgaki H, editors: International Agency for Research on Cancer 2008. 380 p.

8. Strobbe L, Valke LL, Diets IJ, van den Brand M, Aben K, Raemaekers JM, et al. A 20-year population-based study on the epidemiology, clinical features, treatment, and outcome of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma. Ann Hematol. 2016;95:417-23.

9. Stein H, Marafioti T, Foss HD, Laumen H, Hummel M, Anagnostopoulos I, et al. Down-regulation of BOB.1/OBF.1 and Oct2 in classical Hodgkin disease but not in lymphocyte predominant Hodgkin disease correlates with immunoglobulin transcription. Blood. 2001;97:496-501.

10. Massini G, Siemer D, Hohaus S. EBV in Hodgkin Lymphoma. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2009; 1:e2009013.

11. Regula DP, Jr., Hoppe RT, Weiss LM. Nodular and diffuse types of lymphocyte predominance Hodgkin's disease. N Engl J Med. 1988;318:214-9.

12. Biasoli I, Stamatoullas A, Meignin V, Delmer A, Reman O, Morschhauser F, et al. Nodular, lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma: a long-term study and analysis of transformation to diffuse large B-cell lymphoma in a cohort of 164 patients from the Adult Lymphoma Study Group. Cancer. 2010;116:631-9.

13. Grotmol T, Bray F, Holte H, Haugen M, Kunz L, Tretli S, et al. Frailty modeling of the bimodal age-incidence of Hodgkin lymphoma in the Nordic countries. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2011;20:1350-7.

14. Laurent C, Do C, Gourraud PA, de Paiva GR, Valmary S, Brousset P. Prevalence of Common Non-Hodgkin Lymphomas and Subtypes of Hodgkin Lymphoma by Nodal Site of Involvement: A Systematic Retrospective Review of 938 Cases. Medicine (Baltimore). 2015;94:e987.

15. Seitz V, Hummel M, Marafioti T, Anagnostopoulos I, Assaf C, Stein H. Detection of clonal T-cell receptor gamma-chain gene rearrangements in Reed-Sternberg cells of classic Hodgkin disease. Blood. 2000;95:3020-4.

16. Pileri SA, Ascani S, Leoncini L, Sabattini E, Zinzani PL, Piccaluga PP, et al. Hodgkin's lymphoma: the pathologist's viewpoint. J Clin Pathol. 2002;55:162-76.

17. Brauninger A, Schmitz R, Bechtel D, Renne C, Hansmann ML, Kuppers R. Molecular biology of Hodgkin's and Reed/Sternberg cells in Hodgkin's lymphoma. Int J Cancer. 2006;118:1853-61.

18. Wein F, Kuppers R. The role of T cells in the microenvironment of Hodgkin lymphoma. J Leukoc Biol. 2016;99:45-50.

19. Southwick F. Ozbiljne virusne bolesti u odraslih ljudi. U: Southwick F, ur. Infektivne bolesti (kratki klinički tečaj). 1. izdanje. Split: Placebo; 2017. str. 369-72.

20. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Herpesvirusi. U: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA, ur. Medicinska mikrobiologija. 1. izdanje. Split: Placebo; 2015. str. 484-7.

21. Thorley-Lawson DA. Epstein-Barr virus: exploiting the immune system. Nat Rev Immunol. 2001;1:75-82.

22. Bilić E. Bolesti krvi, krvotvornih organa i solidni tumori dječje dobi. U: Mardešić D, ur. Pedijatrija. 8. izdanje. Zagreb: Školska knjiga; 2016. str. 682-3.

23. Macfarlane GJ, Evstifeeva T, Boyle P, Grufferman S. International patterns in the occurrence of Hodgkin's disease in children and young adult males. Int J Cancer. 1995;61:165-9.

24. Shenoy P, Maggioncalda A, Malik N, Flowers CR. Incidence patterns and outcomes for hodgkin lymphoma patients in the United States. Adv Hematol. 2011;2011:725219.

25. Pavlovic A, Glavina Durdov M, Capkun V, Jakelic Pitesa J, Bozic Sakic M. Classical Hodgkin Lymphoma with Positive Epstein-Barr Virus Status is Associated with More FOXP3 Regulatory T Cells. Med Sci Monit. 2016;22:2340-6.

26. Cickusic E, Mustedanagic-Mujanovic J, Iljazovic E, Karasalihovic Z, Skaljic I. Association of Hodgkin's lymphoma with Epstein Barr virus infection. Bosn J Basic Med Sci. 2007;7:58-65.

27. Macak J, Habanec B, Fabian P. Detection of Epstein-Barr virus in Hodgkin's lymphoma (patients in the Czech Republic). Neoplasma. 2000;47:156-61.

28. Keresztes K, Bessenyei B, Szollosi Z, Beck Z, Miltenyi Z, Nemes Z, et al. [Association of Hodgkin lymphoma with Epstein-Barr virus in Hungary]. Orv Hetil. 2005;146:1575-82.

29. Krugmann J, Tzankov A, Gschwendtner A, Fischhofer M, Greil R, Fend F, et al. Longer failure-free survival interval of Epstein-Barr virus-associated classical Hodgkin's lymphoma: a single-institution study. Mod Pathol. 2003;16:566-73.

30. Kordek R, Jesionek-Kupnicka D, Biernat W, Wozniak L. Expression of the latent membrane protein of Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease. Age and subtype distribution in Polish patients. Acta Haematol Pol. 1996;27:15-20.

31. Leoncini L, Spina D, Nyong'o A, Abinya O, Minacci C, Disanto A, et al. Neoplastic cells of Hodgkin's disease show differences in EBV expression between Kenya and Italy. Int J Cancer. 1996;65:781-4.

32. Axdorph U, Porwit-MacDonald A, Sjoberg J, Grimfors G, Ekman M, Wang W, et al. Epstein-Barr virus expression in Hodgkin's disease in relation to patient characteristics, serum factors and blood lymphocyte function. Br J Cancer. 1999;81:1182-7.

33. Lauritzen AF, Hording U, Nielsen HW. Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease: a comparative immunological, in situ hybridization, and polymerase chain reaction study. APMIS. 1994;102:495-500.

34. Diepstra A, van Imhoff GW, Schaapveld M, Karim-Kos H, van den Berg A, Vellenga E, et al. Latent Epstein-Barr virus infection of tumor cells in classical Hodgkin's lymphoma predicts adverse outcome in older adult patients. J Clin Oncol. 2009;27:3815-21.

35. Jarrett RF, Krajewski AS, Angus B, Freeland J, Taylor PR, Taylor GM, et al. The Scotland and Newcastle epidemiological study of Hodgkin's disease: impact of histopathological review and EBV status on incidence estimates. J Clin Pathol. 2003;56:811-6.

36. Morente MM, Piris MA, Abraira V, Acevedo A, Aguilera B, Bellas C, et al. Adverse clinical outcome in Hodgkin's disease is associated with loss of retinoblastoma protein expression, high Ki67 proliferation index, and absence of Epstein-Barr virus-latent membrane protein 1 expression. Blood. 1997;90:2429-36.

37. Weinreb M, Day PJ, Niggli F, Powell JE, Raafat F, Hesseling PB, et al. The role of Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease from different geographical areas. Arch Dis Child. 1996;74:27-31.

38. Keegan TH, Glaser SL, Clarke CA, Gulley ML, Craig FE, Digiuseppe JA, et al. Epstein-Barr virus as a marker of survival after Hodgkin's lymphoma: a population-based study. J Clin Oncol. 2005;23:7604-13.

39. Quintanilla-Martinez L, Gamboa-Domnquez A, Gamez-Ledesma I, Angeles-Angeles A, Mohar A. Association of Epstein-Barr virus latent membrane protein and Hodgkin's disease in Mexico. Mod Pathol. 1995;8:675-9.

40. Campos A, Moreira A, Ribeiro KB, Paes RP, Zerbini MC, Aldred V, et al. Frequency of EBV associated classical Hodgkin lymphoma decreases over a 54-year period in a Brazilian population. Sci Rep. 2018;8:1849.

41. Preciado MV, Diez B, Grinstein S. Epstein Barr virus in Argentine pediatric Hodgkin's disease. Leuk Lymphoma. 1997;24:283-90.

42. Chang KL, Albujar PF, Chen YY, Johnson RM, Weiss LM. High prevalence of Epstein-Barr virus in the Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease occurring in Peru. Blood. 1993;81:496-501.

43. Monterroso V, Zhou Y, Koo S, Glackin C, Bujan W, Medeiros LJ. Hodgkin's disease in Costa Rica: a report of 40 cases analyzed for Epstein-Barr virus. Am J Clin Pathol. 1998;109:618-24.

44. Kusuda M, Toriyama K, Kamidigo NO, Itakura H. A comparison of epidemiologic, histologic, and virologic studies on Hodgkin's disease in western Kenya and Nagasaki, Japan. Am J Trop Med Hyg. 1998;59:801-7.

45. Audouin J, Diebold J, Nathwani B, Ishak E, Maclennan K, Mueller-Hermelink HK, et al. Epstein-Barr virus and Hodgkin's lymphoma in Cairo, Egypt. J Hematop. 2010;3:11-8.

46. Dhiab MB, Ziadi S, Saad H, Louhichi T, Trimeche M. Changing patterns in the Epstein-Barr virus (EBV)and Hodgkin lymphoma association in Tunisia. Ann Hematol. 2016;95:1537-43.

47. Durmaz R, Aydin A, Koroglu M, Aker H, Ozercan IH, Atik E, et al. Detection and genotyping of Epstein-Barr virus by polymerase chain reaction in tissues obtained from cases with Hodgkin's disease in Turkey. Acta Virol. 1998;42:375-81.

48. Almasri NM, Khalidi HS. Epstein-Barr virus expression in Hodgkin's disease in Jordan. Saudi Med J. 2004;25:770-5.

49. Al-Salam S, John A, Daoud S, Chong SM, Castella A. Expression of Epstein-Barr virus in Hodgkin lymphoma in a population of United Arab Emirates nationals. Leuk Lymphoma. 2008;49:1769-77.

50. Di Napoli A, Al-Jadiri MF, Talerico C, Duranti E, Pilozzi E, Trivedi P, et al. Epstein-Barr virus (EBV) positive classical Hodgkin lymphoma of Iraqi children: an immunophenotypic and molecular characterization of Hodgkin/Reed-Sternberg cells. Pediatr Blood Cancer. 2013;60:2068-72.

51. Makar RR, Saji T, Junaid TA. Epstein-Barr virus expression in Hodgkin's lymphoma in Kuwait. Pathol Oncol Res. 2003;9:159-65.

52. Fatima S, Ahmed R, Ahmed A. Hodgkin lymphoma in Pakistan: an analysis of subtypes and their correlation with Epstein Barr virus. Asian Pac J Cancer Prev. 2011;12:1385-8.

53. Huang X, Nolte I, Gao Z, Vos H, Hepkema B, Poppema S, et al. Epidemiology of classical Hodgkin lymphoma and its association with Epstein Barr virus in Northern China. PLoS One. 2011;6:e21152.

54. Naresh KN, Johnson J, Srinivas V, Soman CS, Saikia T, Advani SH, et al. Epstein-Barr virus association in classical Hodgkin's disease provides survival advantage to patients and correlates with higher expression of proliferation markers in Reed-Sternberg cells. Ann Oncol. 2000;11:91-6.

55. Koh YW, Yoon DH, Suh C, Huh J. Impact of the Epstein-Barr virus positivity on Hodgkin's lymphoma in a large cohort from a single institute in Korea. Ann Hematol. 2012;91:1403-12.

56. Peh SC, Looi LM, Pallesen G. Epstein-Barr virus (EBV) and Hodgkin's disease in a multi-ethnic population in Malaysia. Histopathology. 1997;30:227-33.

57. Liu SM, Chow KC, Chiu CF, Tzeng CH. Expression of Epstein-Barr virus in patients with Hodgkin's disease in Taiwan. Cancer. 1998;83:367-71.

58. Weiss LM, Movahed LA, Warnke RA, Sklar J. Detection of Epstein-Barr viral genomes in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. N Engl J Med. 1989;320:502-6.

59. Hjalgrim H, Smedby KE, Rostgaard K, Molin D, Hamilton-Dutoit S, Chang ET, et al. Infectious mononucleosis, childhood social environment, and risk of Hodgkin lymphoma. Cancer Res. 2007;67:2382-8.

60. Jarrett AF, Armstrong AA, Alexander E. Epidemiology of EBV and Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol. 1996;7 Suppl 4:5-10.

61. Frisch M, Biggar RJ, Engels EA, Goedert JJ, Group AI-CMRS. Association of cancer with AIDS-related immunosuppression in adults. JAMA. 2001;285:1736-45.

62. Quinlan SC, Landgren O, Morton LM, Engels EA. Hodgkin lymphoma among US solid organ transplant recipients. Transplantation. 2010;90:1011-5.

63. Shiels MS, Koritzinsky EH, Clarke CA, Suneja G, Morton LM, Engels EA. Prevalence of HIV Infection among U.S. Hodgkin lymphoma cases. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2014;23:274-81.

64. Kristinsson SY, Landgren O, Sjoberg J, Turesson I, Bjorkholm M, Goldin LR. Autoimmunity and risk for Hodgkin's lymphoma by subtype. Haematologica. 2009;94:1468-9.

65. Mack TM, Cozen W, Shibata DK, Weiss LM, Nathwani BN, Hernandez AM, et al. Concordance for Hodgkin's disease in identical twins suggesting genetic susceptibility to the young-adult form of the disease. N Engl J Med. 1995;332:413-8.

66. Kamper-Jorgensen M, Rostgaard K, Glaser SL, Zahm SH, Cozen W, Smedby KE, et al. Cigarette smoking and risk of Hodgkin lymphoma and its subtypes: a pooled analysis from the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). Ann Oncol. 2013;24:2245-55.

67. Gutensohn N, Cole P. Childhood social environment and Hodgkin's disease. N Engl J Med. 1981;304:135-40.

68. Connors JM. Clinical manifestations and natural history of Hodgkin's lymphoma. Cancer J. 2009;15:124-8.

69. Gaudio F, Pedote P, Niccoli Asabella A, Ingravallo G, Sindaco P, Alberotanza V, et al. Bone Involvement in Hodgkin's Lymphoma: Clinical Features and Outcome. Acta Haematol. 2018;140:178-82.

70. Guermazi A, Brice P, de Kerviler EE, Ferme C, Hennequin C, Meignin V, et al. Extranodal Hodgkin disease: spectrum of disease. Radiographics. 2001;21:161-79.

71. Cuccaro A, Bartolomei F, Cupelli E, Galli E, Giachelia M, Hohaus S. Prognostic factors in hodgkin lymphoma. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2014;6:e2014053.

72. Hurtado-Cordovi JM, Verma V, Gotlieb V, Frieri M. Lymphocyte Rich Hodgkin's Lymphoma Presented with Warm Hemolytic Anemia: A Case Report and Literature Review. Case Rep Hematol. 2011;2011:385408.
73. Gomes MM, Oliva T, Pinto A. Autoimmune Hemolytic Anemia and Hodgkin's Disease: An Unusual Pediatric Association. Case Rep Pediatr. 2016;2016:4598587.
74. Audard V, Larousserie F, Grimbert P, Abtahi M, Sotto JJ, Delmer A, et al. Minimal change nephrotic syndrome and classical Hodgkin's lymphoma: report of 21 cases and review of the literature. Kidney Int. 2006;69:2251-60.
75. Franco V, Tripodo C, Rizzo A, Stella M, Florena AM. Bone marrow biopsy in Hodgkin's lymphoma. Eur J Haematol. 2004;73:149-55.
76. Rubenstein M, Duvic M. Cutaneous manifestations of Hodgkin's disease. Int J Dermatol. 2006;45:251-6.
77. Yenikomshian MA, Guignard AP, Haguinet F, LaCasce AS, Skarin AT, Trahey A, et al. The epidemiology of herpes zoster and its complications in Medicare cancer patients. BMC Infect Dis. 2015;15:106.
78. Grimm S, Chamberlain M. Hodgkin's Lymphoma: A Review of Neurologic Complications. Adv Hematol. 2011;2011:624578.
79. Kennedy-Nasser AA, Hanley P, Bollard CM. Hodgkin disease and the role of the immune system. Pediatr Hematol Oncol. 2011;28:176-86.
80. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. J Clin Oncol. 2014;32:3059-68.
81. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos GP, Young RC, et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. J Clin Oncol. 1989;7:1630-6.
82. Cheson BD. Role of functional imaging in the management of lymphoma. J Clin Oncol. 2011;29:1844-54.
83. Voltin CA, Goergen H, Baues C, Fuchs M, Mettler J, Kreissl S, et al. Value of bone marrow biopsy in Hodgkin lymphoma patients staged by FDG PET: results from the German Hodgkin Study Group trials HD16, HD17, and HD18. Ann Oncol. 2018;29:1926-31.
84. Ramirez J, Duddempudi AT, Sana MM, Hasan SS, de Los Santos M, Song J, et al. Screening for hepatitis B in patients with lymphoma. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2015;28:438-42.

85. Allemani C, Sant M, De Angelis R, Marcos-Gragera R, Coebergh JW, Group EW. Hodgkin disease survival in Europe and the U.S.: prognostic significance of morphologic groups. Cancer. 2006;107:352-60.
86. Ansell SM. Hodgkin lymphoma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification, and management. Am J Hematol. 2018;93:704-15.
87. Glaser SL, Clarke CA, Keegan TH, Chang ET, Weisenburger DD. Time Trends in Rates of Hodgkin Lymphoma Histologic Subtypes: True Incidence Changes or Evolving Diagnostic Practice? Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2015;24:1474-88.
88. Grogg KL, Miller RF, Dogan A. HIV infection and lymphoma. J Clin Pathol. 2007;60:1365-72.
89. Ali S, Olszewski AJ. Disparate survival and risk of secondary non-Hodgkin lymphoma in histologic subtypes of Hodgkin lymphoma: a population-based study. Leuk Lymphoma. 2014;55:1570-7.
90. Shimabukuro-Vornhagen A, Haverkamp H, Engert A, Balleisen L, Majunke P, Heil G, et al. Lymphocyte-rich classical Hodgkin's lymphoma: clinical presentation and treatment outcome in 100 patients treated within German Hodgkin's Study Group trials. J Clin Oncol. 2005;23:5739-45.
91. Lerner RE, Thomas W, Defor TE, Weisdorf DJ, Burns LJ. The International Prognostic Index assessed at relapse predicts outcomes of autologous transplantation for diffuse large-cell non-Hodgkin's lymphoma in second complete or partial remission. Biol Blood Marrow Transplant. 2007;13:486-92.
92. Canellos GP. Relapsed and refractory Hodgkin's lymphoma: new avenues? Hematol Oncol Clin North Am. 2007;21:929-41.
93. Vrdoljak E, Belac Lovasić I, Kusić Z G, Zvonko, Juretić A. Terapija u onkologiji. U: Vrdoljak E, Belac Lovasić I, Kusić Z G, Zvonko, Juretić A, ur. Klinička onkologija.3. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. str. 48.
94. Adult Hodgkin Lymphoma Treatment (PDQ(R)): Health Professional Version. PDQ Cancer Information Summaries. Bethesda (MD)2002.
95. Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. N Engl J Med. 1998;339:1506-14.

96. Koh ES, Tran TH, Heydarian M, Sachs RK, Tsang RW, Brenner DJ, et al. A comparison of mantle versus involved-field radiotherapy for Hodgkin's lymphoma: reduction in normal tissue dose and second cancer risk. Radiat Oncol. 2007;2:13.

97. Eichenauer DA, Aleman BMP, Andre M, Federico M, Hutchings M, Illidge T, et al. Hodgkin lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2018;29(Supplement_4):iv19-iv29.

98. Brusamolino E, Gotti M, Fiaccadori V. The Risk of Therapy-Related Myelodysplasia/Acute Myeloid Leukemia in Hodgkin Lymphoma has Substantially Decreased in the ABVD Era Abolishing Mechlorethamine and Procarbazine and Limiting Volumes and Doses of Radiotherapy. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2012;4:e2012022.

99. Kupeli S. Risks and diagnosis of coronary artery disease in Hodgkin lymphoma survivors. World J Cardiol. 2014;6:555-61.

100. Shanbhag S, Ambinder RF. Hodgkin lymphoma: A review and update on recent progress. CA Cancer J Clin. 2018;68:116-32.

101. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus Particles in Cultured Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma. Lancet. 1964;1:702-3.

102. Hashmi AA, Hussain ZF, Hashmi KA, Zafar MI, Edhi MM, Faridi N, et al. Latent membrane protein 1 (LMP1) expression in Hodgkin lymphoma and its correlation with clinical and histologic parameters. World J Surg Oncol. 2017;15:89.

103. Glavina-Durdov M, Jakic-Razumovic J, Capkun V, Murray P. Assessment of the prognostic impact of the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein-1 expression in Hodgkin's disease. Br J Cancer. 2001;84:1227-34.

104. Maslov S. Učestalost nalaza Epstein-Barr virusa u bolesnika s Hodgkinovom bolesti. Medicinski fakultet Split: Sveučilište u Splitu; 2004. str. 18-22.

105. Jarrett RF, Stark GL, White J, Angus B, Alexander FE, Krajewski AS, et al. Impact of tumor Epstein-Barr virus status on presenting features and outcome in age-defined subgroups of patients with classic Hodgkin lymphoma: a population-based study. Blood. 2005;10:2444-51.

106. Myriam BD, Sonia Z, Hanene S, Teheni L, Mounir T. Prognostic significance of Epstein-Barr virus (EBV) infection in Hodgkin lymphoma patients. J Infect Chemother. 2017;23:121-30.

107. Enblad G, Sandvej K, Sundstrom C, Pallesen G, Glimelius B. Epstein-Barr virus distribution in Hodgkin's disease in an unselected Swedish population. Acta Oncol. 1999;38:425-9.
108. Ambinder RF. Epstein-barr virus and hodgkin lymphoma. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2007:204-9.
109. Weinreb M, Day PJ, Niggli F, Green EK, Nyong'o AO, Othieno-Abinya NA, et al. The consistent association between Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease in children in Kenya. Blood. 1996;87:3828-36.
110. Andriko JA, Aguilera NS, Nandedkar MA, Abbondanzo SL. Childhood Hodgkin's disease in the United States: an analysis of histologic subtypes and association with Epstein-Barr virus. Mod Pathol. 1997;10:366-71.
111. Araujo I, Bittencourt AL, Barbosa HS, Netto EM, Mendonca N, Foss HD, et al. The high frequency of EBV infection in pediatric Hodgkin lymphoma is related to the classical type in Bahia, Brazil. Virchows Arch. 2006;449:315-9.
112. Dinand V, Dawar R, Arya LS, Unni R, Mohanty B, Singh R. Hodgkin's lymphoma in Indian children: prevalence and significance of Epstein-Barr virus detection in Hodgkin's and Reed-Sternberg cells. Eur J Cancer. 2007;43:161-8.
113. Jaime-Perez JC, Gamboa-Alonso CM, Padilla-Medina JR, Jimenez-Castillo RA, Olguin-Ramirez LA, Gutierrez-Aguirre CH, et al. High frequency of primary refractory disease and low progression-free survival rate of Hodgkin's lymphoma: a decade of experience in a Latin American center. Rev Bras Hematol Hemoter. 2017;39:325-30.
114. Huh J, Park C, Juhng S, Kim CE, Poppema S, Kim C. A pathologic study of Hodgkin's disease in Korea and its association with Epstein-Barr virus infection. Cancer. 1996;77:949-55.
115. Olu-Eddo AN, Omoti CE. Hodgkin lymphoma: clinicopathologic features in Benin City, Nigeria and update on its biology and classification. Niger J Clin Pract. 2011;14:440-4.
116. Engert A, Ballova V, Haverkamp H, Pfistner B, Josting A, Duhmke E, et al. Hodgkin's lymphoma in elderly patients: a comprehensive retrospective analysis from the German Hodgkin's Study Group. J Clin Oncol. 2005;23:5052-60.
117. Maddi RN, Linga VG, Iyer KK, Chowdary JS, Gundeti S, Digumarti R, et al. Clinical profile and outcome of adult Hodgkin lymphoma: Experience from a tertiary care institution. Indian J Med Paediatr Oncol. 2015;36:255-60.

118. Monabati A, Safaei A, Noori S, Mokhtari M, Vahedi A. Subtype distribution of lymphomas in South of Iran, analysis of 1085 cases based on World Health Organization classification. Ann Hematol. 2016;95:613-8.
119. Solans M, Serra L, Renart G, Osca-Gelis G, Comas R, Vilardell L, et al. Incidence and survival of Hodgkin lymphoma patients in Girona (Spain) over three decades: a population-based study. Eur J Cancer Prev. 2017;26 Joining forces for better cancer registration in Europe:S164-S9.
120. Gualco G, Klumb CE, Barber GN, Weiss LM, Bacchi CE. Pediatric lymphomas in Brazil. Clinics (Sao Paulo). 2010;65:1267-77.
121. Englund A, Hopstadius C, Enblad G, Gustafsson G, Ljungman G. Hodgkin lymphoma--a survey of children and adolescents treated in Sweden 1985-2009. Acta Oncol. 2015;54:41-8.
122. Sherief LM, Elsafy UR, Abdelkhalek ER, Kamal NM, Elbehedy R, Hassan TH, et al. Hodgkin lymphoma in childhood: clinicopathological features and therapy outcome at 2 centers from a developing country. Medicine (Baltimore). 2015;94:e670.
123. Engel M, Essop MF, Close P, Hartley P, Pallesen G, Sinclair-Smith C. Improved prognosis of Epstein-Barr virus associated childhood Hodgkin's lymphoma: study of 47 South African cases. J Clin Pathol. 2000;53:182-6.
124. Gomez-Almaguer D, Ruiz-Arguelles GJ, Lopez-MartInez B, Estrada E, Lobato-Mendizabal E, Jaime-Perez JC. Role of bone marrow examination in staging Hodgkin's disease: experience in Mexico. Clin Lab Haematol. 2002;24:221-3.
125. Naidoo N, Abayomi A, Locketz C, Musaigwa F, Grewal R. Incidence of Hodgkin lymphoma in HIV-positive and HIV-negative patients at a tertiary hospital in South Africa (2005 - 2016) and comparison with other African countries. S Afr Med J. 2018;108:653-567.
126. Law MF, Ng TY, Chan HN, Lai HK, Ha CY, Leung C, et al. Clinical features and treatment outcomes of Hodgkin's lymphoma in Hong Kong Chinese. Arch Med Sci. 2014;10:498-504.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: EBV pozitivan status kHL analiziran je u više hrvatskih studija. Cilj ovog istraživanja je ispitati epidemiološke, histološke i kliničke pokazatelje na uzroku ispitanika s kHL i utvrditi ima li razlike u dobi, spolu, podtipu i remisiji s obzirom na EBV status i prethodne hrvatske studije i literaturu.

Ispitanici i metode: U istraživanje je uključeno 108 ispitanika kojima je dijagnosticiran kHL u KBC Split u periodu od 1. siječnja 2008. godine do 11. rujna 2018. godine. Podatci o dobi i spolu ispitanika, patohistološkoj dijagnozi i EBV statusu kHL prikupljeni su iz računalne baze Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split, a klinički podatci iz pismohrane Klinike za unutarnje bolesti i Klinike za dječje bolesti KBC-a Split. Za 24 ispitanika koji nisu imali podatak o EBV statusu kHL, urađena je imunohistokemijska analiza iz parafinskog bloka tumorskog tkiva, uporabom primarnog protutijela na latentni membranski protein (LMP EBV, DAKO, Danska).

Rezultati: Od 108 ispitanika**,** 58 (53,7%) su muškog, a 50 (46,3%) ženskog spola. Srednja dob ispitanika je 37,95 ± 19,56 godina, raspon 11 do 86 godina, a medijan 32 godine. 44,86% ispitanika mlađe je od 30 godina, a 16,82% ispitanika starije je od 60. 15,89% ispitanika je mlađe od 18 godina. Najčešće zastupljen podtip je NS s 71,3% (P<0.0001). MC je zastupljen s 24,1%, a LR i LD podtipovi su rjeđe zastupljeni, s 3,7% odnosno 0,9%. U I stadiju dijagnosticirano je 10 (9,7%), u II 53 (51,45%), u III 24 (23,3%) i u IV stadiju 16 (15,53%) ispitanika. 56,3% ispitanika imalo je B simptome. EBV pozitivan status utvrđen je u 26 od 108 (24,07%) ispitanika. Od 17 ispitanika mlađih od 18 godina dvoje (11,8%) je imalo EBV pozitivan status. Udio ispitanika s EBV pozitivnim statusom kHL raste sa životnom dobi te je najniži u dječjoj i mladoj odrasloj dobi (10,42%), a najveći u starijih od 60 godina (55,56%) (P=0.0002). Nije utvrđena razlika po spolu s obzirom na EBV status (P=0.076). EBV pozitivan status kHL značajno je češći u MC nego u NS, 57,7% prema 11,7% (P<0.0001). Među ispitanicima koji nisu postigli remisiju više je onih koji su imali pozitivan EBV status kHL nego među ispitanicima koji su postigli remisiju, 62,5% prema 22,8% (P=0.0265).

Zaključci: Iako je u našoj studiji opažen veći udio NS nego u prethodnim hrvatskim studijama, postotak EBV pozitivnog kHL nije se bitno mijenjao. Udio ispitanika s EBV pozitivnim statusom kHL ima značajan trend rasta sa životnom dobi, slično izvješćima iz razvijenih zemalja. U skupini koja nije postigla remisiju, značajno je više ispitanika s pozitivnim EBV statusom kHL nego u skupini koja je postigla remisiju.

9. SUMMARY

Diploma thesis title: Epstein-Barr virus-related classic Hodgkin lymphoma in University Hospital Split in a ten year period - pathological study

Objectives: The presence of EBV in cHL was analyzed in several Croatian studies. The aim of this study is to examine epidemiological, histological and clinical parameters of cHL according to age, sex, subtype, remission and EBV status and to compare these results with previous Croatian studies and literature.

Patients and methods: The study included 108 patients with cHL, consecutively diagnosed from January 1st 2008 to September 11th 2018 at University Hospital Split. Data on age and sex, pathohistological diagnosis and EBV status was collected from the computer database of the Clinical Institute of Pathology, Forensic Medicine and Cytology. Clinical data was collected from hospital records at the Clinic for Internal Medicine and the Pediatric Clinic. For 24 patients who did not have known EBV status, indirect immunohistochemical analysis was performed, using primary mouse antibody to latent membrane protein (LMP EBV, DAKO, Denmark).

Results: Of the 108 patients, 58 (53,7%) are male and 50 (46,3%) female. The average age is 37,95 ± 19,56 years, range 11 to 86 years, median 32 years. 44,86% patients are younger than 30 years (15,89% younger than 18 years) and 16,82% older than 60 years. The most common subtype is NS with 71,3% (P<0.0001). MC is present in 24,1% of patients, LR in 3,7% and LD in 0,9%. Stage I was established in 10 (9,7%) patients, II in 53 (51,45%), III in 24 (23,3%) and stage IV in 16 (15,53%) patients. 56,3% patients were presented with B symptoms. The EBV status of cHL was positive in 26 (24,07%) patients. Out of 17 patients younger than 18, two (11,8%) had positive EBV status. The EBV positive status of cHL increases with age, and it is the lowest in children and young adults (10,42%) and the highest in elderly (55,56%) (P= 0.0002). No association was found between gender and EBV status (P = 0.076). EBV positive cHL was more often found in MC than NS, 57,7% versus 11,7% (P <0.0001). In patients who did not achieve remission, EBV positive status was more common than among patients who achieved remission, 62,5% vs. 22,8% (P = 0.0265).

Conclusions: Although we found higher percentage of NS subtype than in the previous Croatian studies, the presence of EBV positive cHL remains stable. EBV status of cHL becomes positive more often with increasing age, similar to reports from the developed countries. Among the patients who did not achieve remission, there were significantly more patients with positive EBV status than in the group of patients who achieved remission.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Katarina Brzica

Datum rođenja: 23. kolovoza 1994.

Mjesto rođenja: Split, Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa stanovanja: Mišina 48, Split, Hrvatska

e-mail: katarina.brzica00@gmail.com

OBRAZOVANJE

2001.-2009. Osnovna škola "Pujanke", Split

2009.-2013. IV. gimnazija "Marko Marulić", Split

2013.-2019. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studijski program Medicina

ZNANJA I VJEŠTINE

Aktivno korištenje engleskoga jezika.

Poznavanje talijanskog jezika.

Vozačka dozvola kategorije B.

OSTALO

2017. Dekanova nagrada za akademsku godinu 2015./2016.

2015. demonstratorica na Katedri za anatomiju Medicinskog fakulteta u Splitu