

# Linee guida SIONCOV 2022 per la stadiazione del mastocitoma cutaneo e sottocutaneo del cane



L'impetuosa acquisizione di informazioni che deriva dalla florida letteratura e l'obiettivo di allineamento agli standard internazionali della ricerca in campo dell'oncologia veterinaria e di aderenza alle norme di Buona Pratica Clinica esigono la formulazione di linee guida aggiornate, di facile consultazione e che riflettano le migliori evidenze scientifiche pubblicate disponibili. In quest'ottica sono state redatte da un Panel di Esperti e revisionate da Revisori Esterni le linee guida da seguire per la stadiazione del mastocitoma cutaneo e sottocutaneo del cane. Il documento non è da intendersi come permanente, riflettendo le conoscenze mediche attuali.

## PRESENTAZIONE DEL DOCUMENTO

L'impetuosa acquisizione di informazioni che deriva dalla florida letteratura e l'obiettivo di allineamento agli standard internazionali della ricerca in campo dell'oncologia veterinaria e di aderenza alle norme di Buona Pratica Clinica esigono un aggiornamento delle linee guida sulla gestione del più comune tumore maligno cutaneo del cane, il mastocitoma.

Le incertezze in medicina nascono generalmente dalla mancanza di studi appropriati su specifici argomenti, che esita nella non ottimale gestione del paziente, con possibili risvolti etici e/o legali.

Dopo 10 anni dalla prima pubblicazione del Consenso Europeo sulla gestione del mastocitoma del cane e del gatto,<sup>1</sup> la SIONCOV ha ritenuto indispensabile farsi promotore della stesura di linee guida aggiornate.

Il 20 e 21 novembre 2021 il Consiglio Direttivo ed i mem-

Laura Marconato\*, Med Vet, DECVIM-CA (Oncology),  
Professore Associato

Roberta Ferrari, Med Vet, PhD

Federica Rossi, Med Vet, SRV, DECVDI

Donatella De Zani, Med Vet, PhD

Silvia Sabattini, Med Vet, PhD, DECVP

Davide Berlato, Med Vet, PhD, DECVIM-CA (Oncology),  
(add Rad Onc) MSc (Clin Onc) MRCVS

Maria Amati, Med Vet, Master oncologia secondo livello

Marina Martano, Med Vet, PhD, Professore Ordinario

Maurizio Annoni, Med Vet  
Selina Iussich, Med Vet, post grad. spec. Scienza e  
Medicina degli Animali da Laboratorio, Professore  
Associato

Giuliano Bettini, Med Vet, Professore Ordinario

Damiano Stefanello, Med Vet, PhD, Professore Ordinario

bri della Società Italiana di Oncologia Veterinaria (SIONCOV) si sono riuniti in una tavola rotonda per definire, sulla base della revisione critica delle evidenze scientifiche attualmente disponibili, linee guida che dettino le indagini necessarie per stadiazione e trattamento del mastocitoma cutaneo e sottocutaneo del cane, sintetizzando ciò che è attualmente conosciuto e affrontando le incertezze con comportamenti di buona pratica clinica. Alla tavola rotonda hanno partecipato anche alcuni Esperti, ed altri Esperti sono stati invitati successivamente, individuati tra quanti hanno dato un contributo significativo alla letteratura internazionale.

Si è così istituito un Panel con competenze trasversali

\*Corresponding author: laura.marconato@unibo.it

Ricevuto: 31/05/2022 - Accettato: 11/09/2022

e multidisciplinari, che ha integrato i diversi approcci diagnostici e terapeutici.

I Membri del Panel hanno presentato la sintesi delle prove raccolte nella letteratura scientifica senza limiti temporali, per poi lasciare ai membri della SIONCOV la possibilità di discuterne. Una volta raccolte e valutate le evidenze, un gruppo di lavoro ristretto ha provveduto ad una prima stesura delle linee guida e delle raccomandazioni. Questa bozza è stata fatta circolare tra i membri del Panel e sottoposta a revisori esterni per eventuali commenti.

Le raccomandazioni contenute in questo documento sono presentate in forma sintetica e schematica che ne renda facile la consultazione; esse riflettono le migliori evidenze scientifiche pubblicate disponibili; devono tuttavia sempre essere adattate al contesto clinico in cui si interviene e al paziente, non intendendo sostituirsi alla valutazione e alla responsabilità del medico veterinario di fronte al caso specifico. Poiché le conoscenze scientifiche sono in continua evoluzione, la decisione di attenersi rigorosamente alle raccomandazioni proposte va sempre rapportata al singolo caso, pur tenendo in considerazione la reale necessità di deroga.

Il presente documento, suddiviso in due parti (stadiazione e terapia) si propone come strumento di lavoro attuativo e di supporto per fornire raccomandazioni basate sull'evidenza per la gestione del mastocitoma cutaneo e sottocutaneo del cane. Destinatari delle linee guida sono tutti i professionisti veterinari, non ristretti al solo ambito oncologico, per assisterli nelle decisioni sulla gestione appropriata del paziente.

## GRUPPO DI LAVORO

*Coordinatore:*

**Laura Marconato** - Oncologia Medica - Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Bologna, Italia

*Panel:*

**Maria Amati** - Oncologia Medica - Clinica Veterinaria Oltrepo Pavese, Stradella (PV), Italia

**Maurizio Annoni** - Chirurgia Oncologica - AniCura Clinica Veterinaria Tibaldi, Milano, Italia

**Davide Berlato** - Radioterapia e Oncologia Medica - AniCura Animal Oncology and Imaging Center, Hünenberg, Svizzera

**Giuliano Bettini** - Anatomia Patologica - Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Bologna, Italia

**Donatella De Zani** - Diagnostica per Immagini - Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Veterinarie, Milano, Italia

**Roberta Ferrari** - Oncologia - Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Veterinarie, Milano, Italia

**Selina Iussich** - Anatomia Patologica - Dipartimento di Scienze Veterinarie, Torino, Italia

**Laura Marconato** - Oncologia Medica - Dipartimen-

to di Scienze Mediche Veterinarie, Bologna, Italia

**Marina Martano** - Chirurgia Oncologica - Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie, Parma, Italia

**Federica Rossi** - Diagnostica per Immagini - AniCura Clinica Veterinaria dell'Orologio, Bologna, Italia

**Silvia Sabattini** - Anatomia Patologica - Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Bologna, Italia

**Damiano Stefanello** - Oncologia - Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Veterinarie, Milano, Italia

*Revisori esterni:*

**Edoardo Auriemma** - Diagnostica per Immagini - AniCura Istituto Veterinario di Novara, Novara, Italia

**Walter Bertazzolo** - Patologia Clinica - Laboratorio MY-LAV, Milano, Italia

**Julia Buchholz** - Radioterapia - Small Animal Clinic Hofheim, Germania

**Paolo Buracco** - Chirurgia Oncologica - Dipartimento di Scienze Veterinarie, Torino, Italia

**Nicola Di Girolamo** - Metodologia - Cornell University, USA

**Riccardo Finotello** - Oncologia medica - Department of Small Animal Clinical Science, Liverpool, UK

**Paola Roccabianca** - Anatomia Patologica - Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Veterinarie, Milano, Italia

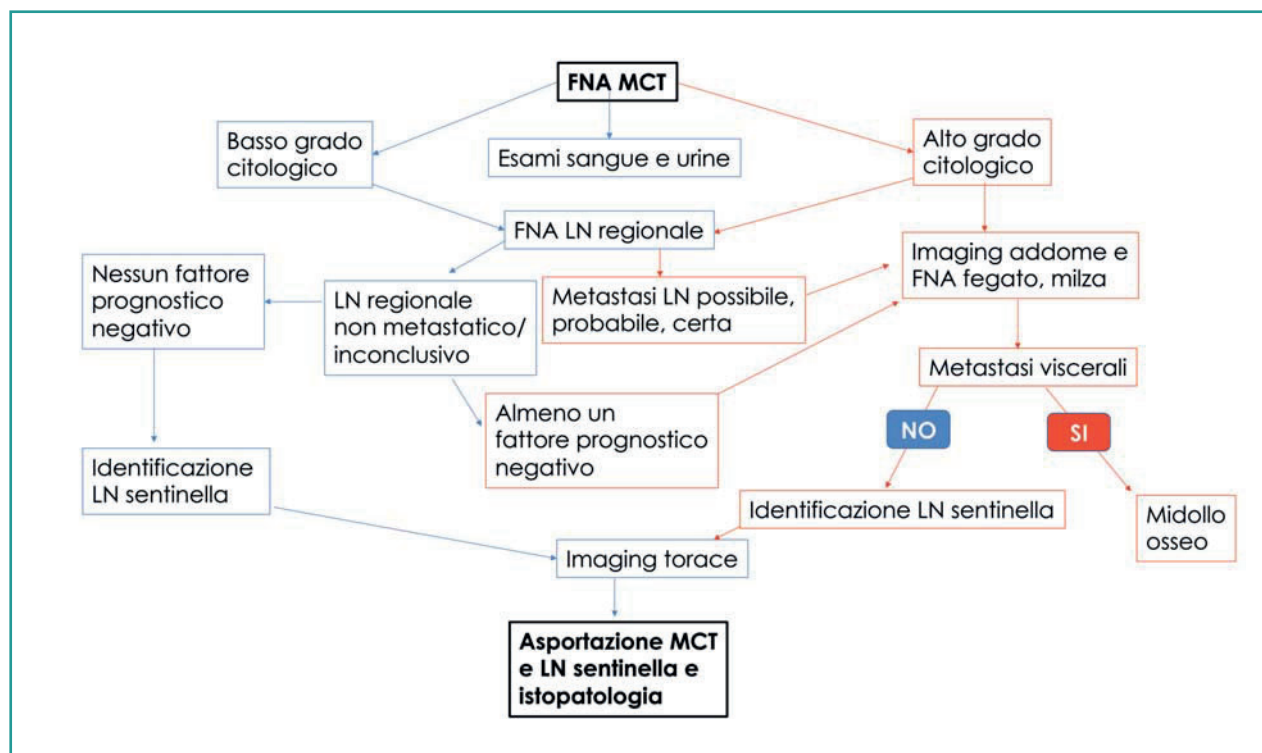
## COME LEGGERE LE RACCOMANDAZIONI

Le raccomandazioni esprimono l'importanza clinica di una procedura. Sono presentate in tabelle e vengono corredate dalla certezza dell'evidenza a supporto e dalla forza della raccomandazione.

La **valutazione della certezza dell'evidenza** è distinta in quattro livelli:

- 1) molto bassa, quando si basa sull'opinione degli esperti o indicazioni di comitati
- 2) bassa, quando si basa sulle conclusioni di studi osservazionali non analitici (case reports, serie di casi)
- 3) moderata, quando si basa sulle conclusioni di studi osservazionali analitici (coorte, caso-controllo, trasversali)
- 4) alta, quando si basa sulle conclusioni di trial clinici randomizzati o revisioni sistematiche con o senza meta-analisi

Pertanto, l'evidenza è alta se gli studi valutati hanno una probabilità più bassa di errore. Gli studi vengono assegnati a livelli inferiori al crescere delle probabilità di errore relativo al disegno e/o alla conduzione dello studio. Studi non analitici (come reports di casi o serie di casi) e opinioni degli esperti sono attribuiti ai livelli minimi.



**Figura 1** - Algoritmo operativo: Diagnosi e stadiazione.

La **forza della raccomandazione clinica** viene graduata in base all'importanza clinica su 4 livelli:

- 1) **positiva forte** (forte a favore), quando l'intervento in esame dovrebbe essere considerato come prima opzione (evidenza che i benefici sono prevalenti sui danni)
- 2) **positiva debole** (condizionata a favore), quando l'intervento in esame può essere considerato come opzione di prima intenzione, consapevoli dell'esistenza di alternative ugualmente proponibili (incertezza riguardo alla prevalenza dei benefici sui danni)
- 3) **negativa debole** (condizionata a sfavore), quando l'intervento in esame non dovrebbe essere considerato come opzione di prima intenzione; esso potrebbe comunque essere suscettibile di impiego in casi altamente selezionati (incertezza riguardo alla prevalenza dei danni sui benefici)
- 4) **negativa forte** (forte a sfavore), quando l'intervento in esame non deve essere in alcun caso preso in considerazione (evidenza che i danni sono prevalenti sui benefici).

Attraverso la valutazione critica e sistematica delle evidenze, le raccomandazioni cliniche offrono un bilancio di benefici ed effetti sfavorevoli tra opzioni alternative, rappresentando il punto di riferimento più importante per i medici veterinari ed i pazienti, uno standard di qualità dell'assistenza e uno strumento essenziale per prendere decisioni sanitarie.

Si sottolinea che la valutazione della certezza delle evidenze non riflette sempre l'importanza clinica delle raccomandazioni. Pertanto, la forza delle raccomandazioni non rispecchia solo la qualità metodologica delle prove disponibili. Ci possono essere casi in cui anche in presenza di una prova di efficacia alta, la raccomandazione non è positiva forte, qualora esista, ad esempio, una reale incertezza sulla fattibilità e impatto della procedura.

## FATTORI PROGNOSTICI CLINICI

Nel mastocitoma del cane si riconoscono diversi fattori prognostici che, considerati nel contesto della visita di ammissione, permettono di calibrare il rischio di metastasi prima ancora di procedere con chirurgia e caratterizzazione istopatologica. In presenza di uno o più di questi fattori prognostici negativi, il clinico dovrebbe suggerire una completa stadiazione prima della chirurgia.

### • Razza

Nelle razze Shar-pei, American Staffordshire Terrier, Weimaraner, Rottweiler e Shih-tzu è più comune lo sviluppo di mastocitomi di alto grado.<sup>2-5</sup> Controversia vi è nella caratterizzazione dei mastocitomi che colpiscono i Labrador retriever ed i Bouledogue francesi: secondo alcuni, svilupperebbero mastocitomi di basso grado,<sup>2,3,6</sup> mentre secondo altri tumori di alto grado.<sup>6-9</sup> Carlino e Boxer sarebbero associati allo sviluppo di mastocitomi

di basso grado.<sup>2,3,5,6</sup>

#### • Età

Animali anziani (11-16 anni) svilupperebbero più spesso mastocitomi di alto grado, mentre la presenza di mastocitomi di basso grado è più frequente in età giovane-adulta (4-10 anni).<sup>3,5</sup>

#### • Sede anatomica

Sedi associate a comportamento biologico più aggressivo sono mucose, testa e collo, dita, inguine (inclusa regione scrotale) e regione perineale.<sup>2,4,10-13</sup>

#### • Dimensioni del mastocitoma

Mastocitomi di dimensioni superiori ai 3 cm di diametro si associano più frequentemente a metastasi loco-regionali e a distanza.<sup>4,7-9,14-28</sup>

#### • Ulcerazione, segni locali e sistemici (sottostadio b)

L'ulcerazione è significativamente associata a prognosi peggiore e alla presenza di metastasi al momento dell'ammissione.<sup>4,7,15,19</sup> Si riscontrano frequentemente eritema ed edema perilesionale, causato dalla degranulazione dei mastociti (eventualmente riscontrabile anche in assenza di ulcerazione, noto come "segno di Darier"). La degranulazione mastocitaria può causare anche manifestazioni sistemiche quali vomito, diarrea, sincope e shock ipotensivo. Tali riscontri classificano la malattia in sottostadio b e sono spesso predittivi di una diffusione metastatica e di prognosi peggiore.<sup>4,15</sup>

#### • Tempi di accrescimento

La presenza di un tumore che aumenta di dimensioni molto velocemente è indice di comportamento aggressivo.<sup>7,19</sup>

#### • Noduli satelliti

La presenza di altri mastocitomi distribuiti in modo disordinato attorno alla massa principale o lungo la rete linfatica è associata a prognosi peggiore.<sup>4</sup>

#### • Recidiva

Per recidiva locale s'intende convenzionalmente l'insorgenza di un nuovo mastocitoma entro 2 cm dalla sede anatomica del precedente mastocitoma, dopo trattamento sia esso chirurgico, chemioterapico (ivi compresi i trattamenti cortisonici) o radioterapico. La recidiva è di per sé una variabile altamente prognostica e correlata spesso ad una potenziale diffusione metastatica.<sup>4,7-9,16,20-22</sup>

#### • Linfonodo regionale

La presenza di un linfonodo regionale clinicamente alterato deve mettere in allarme il clinico sulla possibilità di coinvolgimento metastatico, tuttavia anche in as-

senza di tali alterazioni è ormai riconosciuta la possibilità di metastasi nodali.<sup>14,17,26,29-31</sup>

| Qualità dell'evidenza     | Raccomandazione clinica   | Forza della raccomandazione clinica |
|---------------------------|---|-------------------------------------|
| Moderata (2-5)            | Cani di razza Shar-pei, American Staffordshire Terrier, Weimaraner, Rottweiler e Shih-tzu sviluppano mastocitomi più aggressivi | Positiva forte                      |
| Bassa (6-9)               | Cani di razza Labrador retriever e Bouledogue francese svilupperebbero mastocitomi più aggressivi                               | Positiva debole                     |
| Moderata (15,30,32)       | La presenza di mastocitomi multipli si correlerebbe a comportamenti meno aggressivi   | Positiva debole                     |
| Moderata (33,34)          | I mastocitomi sottocutanei avrebbero un comportamento benigno   | Negativa debole                     |
| Moderata (11,20,35)       | I mastocitomi mucocutanei hanno più spesso un comportamento aggressivo  | Positiva forte                      |
| Moderata (2,4)            | Sedi a rischio di mastocitoma aggressivo sarebbero: testa e collo, dita, inguine (inclusi scroto e perineo)                     | Positiva debole                     |
| Moderata (4,14,16)        | Mastocitomi con dimensione superiore ai 3 cm si associano più frequentemente a metastasi ai linfonodi e a distanza              | Positiva forte                      |
| Moderata (4,7,16,19)      | Mastocitomi ulcerati sviluppano più frequentemente metastasi  | Positiva forte                      |
| Moderata (4,15)           | La presenza di sintomi sistemici associato ad altri fattori clinici negativi si correla alla presenza di metastasi a distanza   | Positiva forte                      |
| Moderata (7,19)           | Mastocitomi che subiscono un raddoppiamento dimensionale nell'arco di 4 settimane sviluppano più frequentemente metastasi       | Positiva forte                      |
| Moderata (4)              | La presenza di noduli satelliti indica un comportamento aggressivo  | Positiva forte                      |
| Moderata (4,7-9,16,20-22) | La presenza di recidiva si accompagna a comportamento biologico più aggressivo  | Positiva forte                      |
| Moderata (30,31)          | Il linfonodo regionale aumentato di volume si associa ad un rischio elevato di metastasi  | Positiva forte                      |
| Moderata (14,26, 29)      | Il linfonodo regionale non palpabile non esclude il rischio di coinvolgimento metastatico                                       | Positiva forte                      |

Raccomandazioni espresse unanimemente. Nessuno astenuto per conflitto di interesse e nessuno contrario.



## STADIAZIONE

La definizione dello stadio della malattia è determinante nella gestione e nella formulazione prognostica dei cani con mastocitoma cutaneo e sottocutaneo. Inoltre, il bilancio degli effetti tra outcome desiderabili e non desiderabili (ricidiva locale, metastatizzazione, morte tumore-correlata) è assolutamente a favore dell'esecuzione della stadiazione rispetto a nessuna stadiazione.

La stadiazione del mastocitoma del cane si snoda nei seguenti esami:

- Esami del sangue (esame emocromocitometrico, ematochimico, profilo coagulativo) ed esame delle urine. Andrebbero eseguiti su tutti i cani con mastocitoma per verificarne l'idoneità a ricevere il trattamento programmato (chirurgia, radioterapia, chemioterapia, altri farmaci) e ad escludere o accertare comorbidità.
- Esame citologico del mastocitoma su preparati colorati con MGG e applicazione del grading citologico secondo Camus et al.<sup>36</sup> Il riscontro di un mastocitoma di alto grado citologico può orientare la pianificazione della stadiazione e la scelta della dose chirurgica. Tuttavia, mentre la citologia può essere considerata accurata nell'identificare i mastocitomi di basso grado, tende alla sovrastima dei mastocitomi di alto grado.<sup>36-38</sup>
- Identificazione e campionamento citologico del/i linfonodo/i regionale/i. Se il linfonodo regionale non è esplorabile clinicamente, l'esame ecografico è indicato per valutarne dimensioni ed ecostruttura, e guidarne il campionamento.<sup>39</sup>
- Esame citologico del/i linfonodo/i regionale/i e applicazione del sistema classificativo di Krick et al. su preparati colorati con MGG.<sup>40,41</sup>
- Identificazione del linfonodo sentinella. Andrebbe eseguito su tutti i cani con mastocitoma. Verrà descritto nel paragrafo successivo.
- Esame radiografico del torace. Le metastasi polmonari da mastocitoma sono rare; tuttavia, lo studio radiografico completo del torace è indicato come screening generale per la valutazione dello stato di salute del paziente e per identificare eventuali comorbidità, e ciò è importante soprattutto nei cani adulti o anziani.<sup>31,42,43</sup> Inoltre, può evidenziare una marcata linfadenomegalia sternale correlata alla presenza di mastocitomi della parete toracica o addominale.
- Esame ecografico dell'addome. In assenza di fattori prognostici negativi, è improbabile riscontrare malattia metastatica viscerale all'esordio, pertanto l'indagine strumentale può essere omessa, soprattutto in animali giovani.<sup>19</sup> Nei cani adulti o anziani, l'ecografia addominale rientra nello screening generale per escludere altre patologie. L'ecografia addominale è invece sempre indicata, indipendentemente dall'età, nei cani a più alto rischio di malattia metastatica viscerale, ovvero in tutti i pazienti che hanno almeno un fattore prognostico ne-

gativo.<sup>7,8,19,24</sup> La stessa indicazione vale per cani sintomatici in assenza di fattori prognostici negativi.

- Citologia ecoguidata di fegato e milza. Valgono le stesse precedenti indicazioni. Se viene eseguita l'ecografia addominale e si è in presenza di fattori prognostici negativi, è necessario campionare milza e fegato per identificare o escludere un coinvolgimento metastatico. L'esame ecografico di fegato e milza senza campionamento citologico ha un basso potere predittivo, con una sensibilità e specificità per la milza del 67% e 68% e per il fegato del 29% e 93%, rispettivamente, traducendosi in un'alta probabilità di falsi positivi e falsi negativi.<sup>7,8,19,24,31</sup>
- Lettura dei preparati citologici splenici ed epatici colorati con MGG.<sup>41</sup>
- Esame tomografico. La TC può essere indicata per la valutazione pre-operatoria della lesione primaria, se di grandi dimensioni o localizzata in regioni anatomicamente complesse, ai fini della programmazione chirurgica. Inoltre, è utile per lo studio del linfonodo sentinella, per identificare linfadenomegalie regionali e mastocitomi cutanei e sottocutanei multipli.<sup>48,49</sup> Non si sostituisce all'esame citologico per identificare l'infiltrazione di fegato e milza.<sup>44</sup>
- Valutazione del midollo osseo. L'infiltrazione del midollo osseo è rara, pertanto questa procedura non dovrebbe essere inclusa nella stadiazione routinaria dei cani con mastocitoma. L'infiltrazione del midollo osseo è più frequente in presenza di metastasi viscerali e/o mastociti circolanti.<sup>10,45,46</sup>

| Qualità dell'evidenza       | Raccomandazione clinica   | Forza della raccomandazione clinica |
|-----------------------------|---|-------------------------------------|
| Opinione espressa dal panel | Tutti i cani con mastocitoma devono essere sottoposti ad esami di laboratorio, che includono esami ematochimici e delle urine, per valutare lo stato di salute generale   | Positiva forte                      |
| Moderata (36-38)            | Tutti i preparati citologici di mastocitoma devono essere sottoposti a cytograding  | Positiva forte                      |
| Moderata (40)               | Tutti i cani con mastocitoma devono essere sottoposti a citologia del/i linfonodo/i regionale/i, se non sottoposti a mappatura del linfonodo sentinella                   | Positiva forte                      |
| Moderata (41)               | Tutti i preparati citologici ottenuti per il cytograding e la stadiazione del mastocitoma devono essere colorati con MGG per meglio identificare i granuli citoplasmatici | Positiva forte                      |
| Moderata (47)               | La biopsia incisionale può essere presa in considerazione prima della chirurgia definitiva  | Negativa debole                     |

|   |  |                 |
|---|--|-----------------|
| Moderata (31,42,43)   | Tutti i cani adulti o anziani devono essere sottoposti allo studio radiografico del torace come indagini di screening; i mastocitomi in sede sternale o della parete addominale possono drenare al linfonodo sternale, pertanto in questi casi le radiografie del torace hanno scopo di stadiazione. | Positiva forte  |
| Opinione espressa dal panel   | In assenza di fattori prognostici negativi, i cani giovani con mastocitoma cutaneo non traggono beneficio dallo studio radiografico del torace per la ricerca di metastasi, che può quindi essere omesso.  | Positiva forte  |
| Moderata (7,8,19,24)  | I cani asintomatici con almeno un fattore prognostico negativo e tutti i cani sintomatici devono essere sottoposti ad ecografia addominale   | Positiva forte  |
| Moderata (7,8,19,24,31)   | I cani con fattori prognostici negativi devono essere sottoposti a citologia ecoguidata di fegato e milza, indipendentemente dal riscontro ecografico  | Positiva forte  |
| Moderata (8,24)   | Se il fegato è metastatico, lo sarebbe anche la milza  | Positiva debole |
| Moderata (44, 48,49)  | La TC è più sensibile della diagnostica per immagini di I livello per la descrizione della lesione primaria ai fini della pianificazione chirurgica o radioterapica, e per ricercare una linfadenopatia  | Positiva forte  |
| Opinione espressa dal Panel   | La TC sarebbe più sensibile della diagnostica per immagini di I livello per l'identificazione di mastocitomi multipli  | Positiva debole |
| Moderata (44)   | La TC non è più sensibile della diagnostica per immagini di I livello per identificare eventuali metastasi viscerali, non sostituendosi dunque all'esame citologico per identificare l'infiltrazione di fegato e milza.  | Positiva forte  |
| Moderata (10,45,46)   | La valutazione del midollo osseo deve essere riservata ai cani con metastasi viscerali o in presenza di mastociti circolanti, dal momento che cambia la prognosi   | Positiva forte  |
| Bassa (50)  | Il midollo osseo dovrebbe essere prelevato da più siti   | Negativa debole |
| Raccomandazioni espresse unanimemente. Nessuno astenuto per conflitto di interesse e nessuno contrario. |  |                 |

## RICERCA DEL LINFONODO SENTINELLA

L'individuazione e la successiva valutazione del linfonodo sentinella, inteso come la prima stazione linfonodale in cui le metastasi del tumore possono localizzarsi, hanno subito notevoli aggiornamenti in oncologia veterinaria

negli ultimi 10 anni. Questa evoluzione ha permesso di delineare il ruolo diagnostico, prognostico e terapeutico della rimozione ed analisi istologica del linfonodo drenante in corso di mastocitoma del cane.<sup>26,27,51</sup>

In particolare, passando da una valutazione di dimensione e consistenza mediante la semplice palpazione all'attuale categorizzazione istopatologica secondo lo studio di Weishaar e colleghi,<sup>52</sup> è stata diagnosticata la presenza di metastasi precoci (HN2) e metastasi conclamate (HN3) nel 50% circa di cani con mastocitoma di qualunque grado istologico e linfonodi senza alterazioni morfologiche apprezzabili.<sup>26</sup> Attualmente è quindi possibile ottenere una diagnosi di metastasi linfonodale anche quando il linfonodo non presenta alcuna alterazione clinica che lo renda sospetto di tale coinvolgimento.<sup>14,17,26,53</sup>

Numerosi studi si sono focalizzati sulla mappatura del linfonodo sentinella per stabilire se coincidesse con il linfonodo regionale, ovvero quello anatomicamente più vicino al tumore basandosi su modelli di anatomia topografica come proposto da Suami e colleghi,<sup>54</sup> al fine di sottoporre a valutazione istopatologica il linfonodo corretto. Sebbene le tecniche di mappatura del linfonodo sentinella descritte siano differenti tra loro, tutte evidenziano una non corrispondenza tra linfonodo regionale e linfonodo sentinella nel 28-63% dei casi.<sup>17,29,53,55</sup>

Tale discrepanza è apparsa in alcuni casi completa, con la stazione linfonodale regionale totalmente differente da quella sentinella, oppure parziale nei casi in cui il mastocitoma è apparso essere drenato simultaneamente da almeno due linfonodi appartenenti a stazioni linfonodali diverse, una delle quali non considerata regionale.<sup>29</sup>

In medicina umana la ricerca del linfonodo sentinella si basa sull'associazione di tecniche preoperatorie di cui la linfoscintigrafia rappresenta il gold standard, ed intraoperatorie, tra le quali trovano maggiore riscontro l'utilizzo di una sonda gamma intraoperatoria oppure l'utilizzo di metodiche come la fluorescenza (verde indocianina), che permettono l'identificazione del linfonodo a cute integra.<sup>57</sup>

In medicina veterinaria, a tutt'oggi, non è universalmente riconosciuta una metodica gold standard per la mappatura del linfonodo sentinella per l'esiguo numero di studi comparativi tra le diverse metodiche.

Anche in medicina veterinaria si dovrebbero combinare le due tecniche, pre- ed intraoperatoria, per identificare i linfonodi sentinella sia nella fase di mappatura prechirurgica, sia nella fase di rimozione chirurgica.<sup>29,56</sup> Le tecniche di ricerca del linfonodo sentinella disponibili attualmente in Italia sono riassunte nella Tabella 1.

In conclusione, la rimozione del linfonodo sentinella individuato mediante mappatura deve essere oggi considerata parte integrante della terapia chirurgica del mastocitoma cutaneo e sottocutaneo a fronte della presenza

di metastasi occulte nei linfonodi nel 51% dei casi e per una eventuale esclusione/inclusione in trattamenti chemioterapici adiuvanti.<sup>29,51</sup>

Il clinico deve essere a conoscenza delle diverse tecniche di mappatura, e consapevolmente riconoscerne e dichiararne i pregi e i difetti.

| Qualità dell'evidenza       | Raccomandazione clinica  | Forza della raccomandazione clinica |
|-----------------------------|--|-------------------------------------|
| Moderata (17,29,53,55)      | Il percorso diagnostico-terapeutico da preferire è rappresentato dall'individuazione del linfonodo sentinella mediante mappatura (preoperatoria e intraoperatoria), dalla sua rimozione e successiva valutazione istologica  | Positiva forte                      |
| Moderata (14,17,53)         | La ricerca del linfonodo sentinella dovrebbe essere proposta sempre ai cani candidati chirurgici, indipendentemente dalle caratteristiche cliniche e patologiche e dalle dimensioni del mastocitoma e del linfonodo  | Positiva forte                      |
| Bassa (14,17)               | Per mastocitomi >3 cm di diametro sarebbe più elevato il rischio di metastasi linfonodale HN3  | Positiva forte                      |
| Moderata (29,56)            | Indipendentemente dalle tecniche utilizzate, la ricerca del linfonodo sentinella deve coniugare una ricerca preoperatoria che indirizzi il chirurgo su/I linfocentro/i da ispezionare ed una ricerca intraoperatoria che confermi tali stazioni, consentendo l'esatta individuazione/rimozione di tutti i linfonodi sentinella all'interno della singola o multipla stazione linfonodale | Positiva forte                      |
| Opinione espressa dal panel | La captazione simultanea di due linfocentri indipendenti (non collocati lungo la stessa catena linfatica) depone a favore di una doppia stazione sentinella  | Positiva forte                      |
| Opinione espressa dal panel | È prudente eseguire la linfadenectomia e successiva valutazione istopatologica di tutti i linfonodi visualizzati nel linfocentro durante l'ispezione chirurgica per la rimozione di un linfonodo sentinella, anche qualora non risultino captanti alcun mezzo di contrasto e/o colorante vitale  | Positiva debole                     |
| Opinione espressa dal panel | In presenza di recidiva sarebbe indicato eseguire nuovamente la mappatura, avvisando della possibilità di insuccesso nell'identificazione della stazione linfonodale sentinella  | Positiva debole                     |

|   |  |                 |
|---|--|-----------------|
| Opinione espressa dal panel   | In caso di asportazione chirurgica radicale di un mastocitoma senza linfadenectomia, la possibilità di identificare successivamente i linfonodi sentinella può essere ridotta a causa dell'alterata vascolarizzazione/ drenaggio linfatico secondari alla chirurgia, ma la mappatura sarebbe comunque indicata | Positiva debole |
| Opinione espressa dal panel   | Nel caso tali tecniche dovessero fallire o qualora non potessero essere eseguite, si consiglia di rimuovere il linfonodo regionale consapevole dei limiti di tale procedura e previa discussione di questo con il proprietario   | Positiva forte  |
| Opinione espressa dal panel   | Nel caso di linfonodo clinicamente aumentato di volume con una metastasi citologicamente conclamata, la mappatura andrebbe comunque considerata poiché in grado di individuare la possibile concomitanza di altri linfonodi sentinella   | Positiva debole |
| Opinione espressa dal panel   | Se il linfonodo sentinella risulta HN3 all'istologia, sarebbe prudente eseguire monitoraggi ecografici ed eventualmente citologici seriali dei successivi linfonodi lungo la catena linfatica  | Positiva debole |
| Raccomandazioni espresse unanimemente. Nessuno astenuto per conflitto di interesse e nessuno contrario. |  |                 |

## ALGORITMO OPERATIVO

L'algoritmo operativo per la diagnosi e stadiazione del mastocitoma cutaneo e sottocutaneo del cane è riassunto nella Figura 1.

## SIONCOV 2022 guidelines for staging canine cutaneous and subcutaneous mast cell tumors

### Summary

*The impetuous acquisition of information that derives from the thriving literature and the objective of aligning research in the field of veterinary oncology with international standards by adhering to the rules of Good Clinical Practice, guidelines have been formulated, which are easy to consult and reflect the best available published scientific evidence. With this in mind, the guidelines to be followed for the staging of cutaneous and subcutaneous mast cell tumors in dogs have been drawn up by a Panel of Experts and reviewed by External Auditors.*

*The document is not intended to be permanent, reflecting current medical knowledge.*

**Tabella 1 - Tecniche preoperatorie ed intraoperatorie di mappatura del linfonodo sentinella disponibili in oncologia veterinaria.**

| Tecnica  | Strumentazione  | Identificazione del Linfocentro  | Fasi operative della tecnica   | Vantaggi della tecnica  | Limiti della metodica   | Studi sulla mappatura del linfonodo sentinella nel mastocitoma del cane                                 | Altri studi pubblicati in medicina veterinaria nel cane   |
|--|---|--|--|---|---|---|---|
| <b>Linfografia radiologica indiretta</b>                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Radiologico</li> <li>• Mezzo di contrasto (ioe-xolo; lipiodol*)</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Preoperatoria</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Iniezione peritumorale nei 4 quadranti</li> <li>• Radiografie seriali seguendo la distribuzione del mezzo di contrasto lungo il linfo-drenaggio fino alla prima stazione linfonodale</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Basso costo</li> <li>• Strumentazione facilmente accessibile</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Esposizione radiologica;</li> <li>• Assenza di reperti intraoperatori;</li> <li>• Possibili effetti collaterali da lievi a modesti nel sito di inoculo (soprattutto con lipiodol)</li> <li>• Possibili difficoltà nel riconoscimento dei margini del tumore locale dopo iniezione peritumorale;</li> <li>• Difficoltà nel reperimento di lipiodol</li> </ul>   | In associazione a blu di metilene (58)  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cani sani (59)</li> <li>• Tumori mammari (60)</li> </ul>   |
| <b>Linfografia tomografica computerizzata indiretta</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• TC</li> <li>• Mezzo di contrasto (ioe-xolo; lipiodol*)</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Preoperatoria</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Iniezione peritumorale nei 4 quadranti</li> <li>• Scansioni tomografiche seriali seguendo la distribuzione del mezzo di contrasto lungo il linfo-drenaggio fino alla prima stazione linfonodale</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tecnica diagnostica diffusa</li> <li>• Dettaglio anatomico elevato</li> <li>• Possibilità di estendere l'esame (TCBT) per la stadiazione</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Esposizione radiologica;</li> <li>• Assenza di reperti intraoperatori</li> <li>• Possibili effetti collaterali da lievi a modesti nel sito di inoculo;</li> <li>• Costi più elevati rispetto alla radiologia classica</li> </ul>   | 49, 53,61,62  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cani sani (62)</li> <li>• Adenocarcinoma dei sacchi anali (63)</li> <li>• Tumori mammari (64)</li> <li>• Tumori testa e collo (56,62)</li> <li>• Altri tumori (49,61)</li> </ul> |
| <b>Ultrasonografia contrastografica (CEUS) indiretta</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ecografo con applicazione per mezzo di contrasto</li> <li>• Mezzo di contrasto per ecografia</li> </ul>                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Preoperatoria</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Iniezione peritumorale nei 4 quadranti</li> <li>• Controllo delle stazioni linfonodali esplorabili mediante ecografia</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Strumentazione disponibile in un ampio numero di strutture</li> <li>• Costi medio-ridotti</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Scelta a priori dei linfocentri in cui verificare il raggiungimento del mezzo di contrasto su base anatomica;</li> <li>• Assenza di reperti intraoperatori se non attraverso l'utilizzo di "Anchor-Wire" posizionati per via ecoguidata per segnalare il linfonodo (Rossanese et al, 2021)</li> </ul>  | 17  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cani sani (65)</li> </ul>  |
| <b>Linfoscintigrafia</b>                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Radiofarmaco (<sup>99m</sup>TC)</li> <li>• Gamma camera</li> <li>• Sonda gamma portatile per uso intra-operatorio</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Preoperatoria</li> <li>• Intra-peratoria (medesimo giorno o giorno successivo)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Singola inoculazione per entrambe le fasi</li> <li>• Scansione in gamma camera per verificare drenaggio e stazioni linfonodali drenanti</li> <li>• Con sonda intraoperatoria, tramite emissione di segnale acustico, reperire della stazione linfonodale a cute integra</li> <li>• Dopo dissezione dei tessuti sottocutanei permette individuazione dei linfonodi sentinella con verifica, dopo rimozione del primo, della presenza tramite segnale acustico di eventuali linfonodi sentinella aggiuntivi.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mappatura pre ed intraoperatoria con unica somministrazione di radiofarmaco</li> <li>• Ricerca intraoperatoria a cute integra</li> <li>• Verifica della presenza di linfonodi sentinella aggiuntivi nella medesima stazione linfonodale</li> </ul>       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Autorizzazione alla detenzione del radiofarmaco;</li> <li>• Radioesposizione;</li> <li>• Animale potenzialmente radioattivo per 16 ore;</li> <li>• Costi elevati della strumentazione;</li> <li>• Scarsa disponibilità della strumentazione</li> </ul>   | 14,29,55,61,66  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cani sani (59)</li> <li>• Testa e collo (67)</li> <li>• Tumori sacchi anali (68)</li> <li>• Altri tumori (61)</li> </ul>   |
| <b>Fluorescenza (NIR)</b>                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Colorante fluorescente (verde indocianina)</li> <li>• Sonde con telecamera per la rilevazione della fluorescenza</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Intraoperatoria</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Iniezione peritumorale nei 4 quadranti</li> <li>• Scansioni della regione con telecamera apposita a cute integra</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ricerca a cute integra</li> <li>• Verifica della presenza di linfonodi sentinella aggiuntivi nella medesima stazione linfonodale</li> <li>• Nessuna tossicità</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bassa profondità di penetrazione (&lt;2.5 cm) con necessità di avvalersi di una tecnica preoperatoria per la identificazione del/dei linfocentri da valutare;</li> <li>• Costi delle attrezzature elevati</li> </ul>   | 69  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cani sani (65,70)</li> <li>• Tumori cavo orale (56)</li> </ul>   |
| <b>Linfografia con colorante vitale</b>                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Blu di Metilene,</li> <li>• Blu di isofulfano,</li> <li>• Blu patentato V</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Intraoperatoria</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Iniezione peritumorale nei 4 quadranti</li> <li>• Dissezione tessuti sottocutanei e scheletrizzazione della stazione linfonodale scelta su base topografica (Deve essere preceduta da una mappatura: non indica quale linfocentro rimuovere, bensì aiuta ad individuarlo in fase chirurgica)</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Basso costo</li> <li>• Ben evidenti i limiti anatomici del linfonodo rispetto ai tessuti circostanti</li> <li>• Nessuna difficoltà nella valutazione istologica dei margini chirurgici del mastocitoma e nella ricerca delle metastasi nodali</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se non anticipato da tecnica preoperatoria impossibilità di conoscere il linfocentro in cui è presente il linfonodo sentinella</li> <li>• Il colorante si rende evidente solo dopo scheletrizzazione di ogni singolo linfonodo dai tessuti peri-linfonodali;</li> <li>• Possibili difficoltà nel riconoscimento dei margini clinici del tumore locale dopo iniezione peritumorale;</li> <li>• Possibile tossicità sistemica da colorante vitale</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sempre associato ad altre tecniche (14,29,55,58,61)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sempre associato ad altre tecniche (61,67)</li> </ul>  |

\*lipiodol non registrato in Italia



## BIBLIOGRAFIA

- Blackwood L, Murphy S, Buracco P *et al.* European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary Comparative Oncology* 10:e1-e29, 2012.
- Śmiech A, Ślaska B, Łopuszyński W *et al.* Epidemiological assessment of the risk of canine mast cell tumours based on the Kiupel two-grade malignancy classification. *Acta Veterinaria Scandinavica Journal* 60:70, 2018.
- Śmiech A, Łopuszyński W, Ślaska *et al.* Occurrence and Distribution of Canine Cutaneous Mast Cell Tumour Characteristics Among Pre-disposed Breeds. *Journal of Veterinary Research* 63:141-148, 2019.
- Stefanello D, Buracco P, Sabattini S *et al.* Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009-2014). *Journal of American Veterinary Medical Association* 246:765-769, 2015.
- Mochizuki H, Motsinger-Reif A, Bettini C *et al.* Association of breed and histopathological grade in canine mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 15:829-839, 2017.
- Martins AL, Carvalho FF, Mesquita JR *et al.* Analysis of risk factors for canine mast cell tumors based on the Kiupel and Patnaik grading system among dogs with skin tumors. *Open Veterinary Journal* 11:619-634, 2021.
- Pecceu E, Serra Varela JC, Handel I *et al.* Ultrasound is a poor predictor of early or overt liver or spleen metastasis in dogs with high-risk mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 18:389-401, 2020.
- Book AP, Fidel J, Wills T *et al.* Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Veterinary Radiology Ultrasound* 52:548-554, 2011.
- Miller RL, Van Lelyveld S, Warland J *et al.* A retrospective review of treatment and response of high-risk mast cell tumours in dogs. *Veterinary Comparative Oncology* 14:361-370, 2016.
- Pizzoni S, Sabattini S, Stefanello D *et al.* Features and prognostic impact of distant metastases in 45 dogs with de novo stage IV cutaneous mast cell tumours: A prospective study. *Veterinary Comparative Oncology* 16:28-36, 2018.
- Elliott JW, Cripps P, Blackwood L *et al.* Canine oral mucosal mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 14:101-11, 2016.
- Sfiligoi G, Rassnick KM, Scarlett JM *et al.* Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990-2001). *Journal of American Veterinary Medical Association* 226:1368-74, 2005.
- Cahalane AK, Payne S, Barber LG *et al.* Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases (1994-2002). *Journal of American Veterinary Medical Association* 225:401-408, 2004.
- Ferrari R, Boracchi P, Chiti LE *et al.* Assessing the Risk of Nodal Metastases in Canine Integumentary Mast Cell Tumors: Is Sentinel Lymph Node Biopsy Always Necessary? *Animals (Basel)* 11: 2373, 2021.
- Mullins MN, Dernell WS, Withrow SJ *et al.* Evaluation of prognostic factors associated with multiple cutaneous mast cell tumours treated with surgery with or without adjuvant treatment: 54 cases (1998-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 228:91-95, 2006.
- Pierini A, Lubas G, Gori E *et al.* Epidemiology of Breed-Related Mast Cell Tumour Occurrence and Prognostic Significance of Clinical Features in a Defined Population of Dogs in West-Central Italy. *Veterinary Sciences* 6:53, 2019.
- Fournier Q, Thierry F, Longo M *et al.* Contrast-enhanced ultrasound for sentinel lymph node mapping in the routine staging of canine mast cell tumours: A feasibility study. *Veterinary Comparative Oncology* 19:451-462, 2021.
- Hahn KA, King GK, Carreras JK. Efficacy of radiation therapy for incompletely resected grade-III mast cell tumors in dogs: 31 cases (1987-1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224:79-82, 2004.
- Fejös C, Troedson K, Ignatenko N *et al.* Extensive staging has no prognostic value in dogs with low-risk mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 20:265-275, 2022.
- Thamm DH, Turek MM, Vail DM. Outcome and prognostic factors following adjuvant prednisone/vinblastine chemotherapy for high-risk canine mast cell tumour: 61 cases. *The Journal of Veterinary Medical Science* 68: 581-587, 2006.
- Serra Varela JC, Pecceu E, Handel I *et al.* Tolerability of a rapid-escalation vinblastine-prednisolone protocol in dogs with mast cell tumours. *Veterinary Medicine and Science* 2:266-280, 2016.
- Horta RS, Laval GE, Monteiro LN *et al.* Assessment of Canine Mast Cell Tumor Mortality Risk Based on Clinical, Histologic, Immunohistochemical, and Molecular Features. *Vet Pathol.* 2018;55(2):212-223.
- Ozaki K, Yamagami T, Nomura K *et al.* Prognostic significance of surgical margin, Ki-67 and cyclin D1 protein expression in grade II canine cutaneous mast cell tumor. *The Journal of Veterinary Medical Science.* 69:1117-21, 2007.
- Stefanello D, Valenti P, Faverzani S *et al.* Ultrasound-guided cytology of spleen and liver: a prognostic tool in canine cutaneous mast cell tumor. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23:1051-1057, 2009.
- Hume CT, Kiupel M, Rigatti L *et al.* Outcomes of dog with grade 3 mast cell tumors: 43 cases (1997-2007). *Journal of American Animal Hospital Association* 47:37-44, 2011.
- Ferrari R, Marconato L, Buracco P *et al.* The impact of extirpation of non-palpable/normal-sized regional lymph nodes on staging of canine cutaneous mast cell tumours: A multicentric retrospective study. *Veterinary Comparative Oncology* 16:505-510, 2018.
- Marconato L, Polton G, Stefanello D *et al.* Therapeutic impact of regional lymphadenectomy in canine stage II cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 16:580-589, 2018.
- Moore AS, Frimberger AE, Taylor D *et al.* Retrospective outcome evaluation for dogs with surgically excised, solitary Kiupel high-grade, cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 18:402-408, 2020.
- Ferrari R, Chiti LE, Manfredi M *et al.* Biopsy of sentinel lymph nodes after injection of methylene blue and lymphoscintigraphic guidance in 30 dogs with mast cell tumors. *Veterinary Surgery* 49: 1099-1108, 2020.
- Murphy S, Sparkes AH, Blunden AS *et al.* Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Record* 158: 287-291, 2006.
- Warland J, Amores-Fuster I, Newbury W *et al.* The utility of staging in canine mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 12:287-298, 2014.
- O'Connell K, Thomson M. Evaluation of prognostic indicators in dogs with multiple, simultaneously occurring cutaneous mast cell tumours: 63 cases. *Veterinary and Comparative Oncology* 11:51-62, 2013.
- Gill V, Leibman N, Monette S *et al.* Prognostic Indicators and Clinical Outcome in Dogs with Subcutaneous Mast Cell Tumors Treated with Surgery Alone: 43 Cases. *Journal of the American Animal Hospital Association* 56: 215-225, 2020.
- Thompson JJ, Pearl DL, Yager JA *et al.* Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. *Veterinary Pathology* 48:156-168, 2011.
- Hillman LA, Garrett LD, de Lorimier LP, *et al.* Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases (1996-2006). *J Am Vet Med Assoc.* 237:936-42, 2010.
- Camus MS, Priest HL, Koehler JW *et al.* Cytologic criteria for mast cell tumor grading in dogs with evaluation of clinical outcome. *Veterinary Pathology* 53:1117-1123, 2016.
- Hergt F, von Bomhard W, Kent MS *et al.* Use of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors on cytology specimens. *Veterinary Clinical Pathology.* 45:477-483, 2016.
- Scarpa F, Sabattini S, Bettini G. Cytological grading of canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 14:245-251, 2016.
- Nyman HT, Kristensen AT, Skovgaard IM *et al.* Characterization of normal and abnormal canine superficial lymph nodes using gray-scale

- B-mode, color flow mapping, power, and spectral Doppler ultrasonography: a multivariate study. *Veterinary Radiology Ultrasound* 46:404-10, 2005.
40. Krick EL, Billings AP, Shofer FS *et al*. Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. *Veterinary Comparative Oncology* 7:130-138, 2009.
41. Sabattini S, Renzi A, Marconato L *et al*. Comparison between May-Grünwald-Giemsa and rapid cytological stains in fine-needle aspirates of canine mast cell tumour: Diagnostic and prognostic implications. *Veterinary Comparative Oncology* 16:511-517, 2018.
42. O'Keefe DA, Couto CG, Burke-Schwartz C *et al*. Systemic mastocytosis in 16 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1:75-80, 1987.
43. Takahashi T, Kadpsawa T, Nagase M *et al*. Visceral mast cell tumours in dogs: 10 cases (1982-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 15: 222-226, 2000.
44. Hughes JR, Szladovits B, Drees R. Abdominal CT evaluation of the liver and spleen for staging mast cell tumors in dogs yields nonspecific results. *Veterinary Radiology Ultrasound* 60:306-315, 2019.
45. Marconato L, Bettini G, Giacoboni C *et al*. Clinicopathological features and outcome for dogs with mast cell tumors and bone marrow involvement. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22:1001-1007, 2008.
46. Endicott MM, Charney SC, McKnight JA *et al*. Clinicopathological findings and results of bone marrow aspiration in dogs with cutaneous mast cell tumours: 157 cases (1999-2002). *Veterinary Comparative Oncology* 5:31-37, 2007.
47. Shaw T, Kudnig ST, Firestone SM. Diagnostic accuracy of pre-treatment biopsy for grading cutaneous mast cell tumours in dogs. *Veterinary Comparative Oncology* 16:214-219, 2018.
48. Hahn KA, Lantz GC, Salisbury SK *et al*. Comparison of survey radiography with ultrasonography and x-ray computed tomography for clinical staging of subcutaneous neoplasms in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 196:1795-1798, 1990.
49. Rossi F, Körner M, Suárez J *et al*. Computed tomographic-lymphography as a complementary technique for lymph node staging in dogs with malignant tumors of various sites. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 59:155-162, 2018.
50. Aubry OA, Spangler EA, Schleis SE *et al*. Evaluation of bone marrow aspirates from multiple sites for staging of canine lymphoma and mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 12:58-66, 2014.
51. Marconato L, Stefanello D, Kiupel M *et al*. Adjuvant medical therapy provides no therapeutic benefit in the treatment of dogs with low-grade mast cell tumours and early nodal metastasis undergoing surgery. *Veterinary Comparative Oncology* 18:409-415, 2020.
52. Weishaar KM, Thamm DH, Worley DR *et al*. Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. *Journal of Comparative Pathology* 151:329-338, 2014.
53. Lapsley J, Hayes GM, Janvier V *et al*. Influence of locoregional lymph node aspiration cytology vs sentinel lymph node mapping and biopsy on disease stage assignment in dogs with integumentary mast cell tumors. *Veterinary Surgery* 50:133-141, 2021.
54. Suami H, Yamashita S, Soto-Miranda MA *et al*. Lymphatic territories (lymphosomes) in a canine: an animal model for investigation of postoperative lymphatic alterations. *PLoS One* 8:e69222, 2013.
55. Worley DR. Incorporation of sentinel lymph node mapping in dogs with mast cell tumours: 20 consecutive procedures. *Veterinary Comparative Oncology* 12:215-226, 2014.
56. Wan J, Oblak ML, Ram A *et al*. Determining agreement between pre-operative computed tomography lymphography and indocyanine green near infrared fluorescence intraoperative imaging for sentinel lymph node mapping in dogs with oral tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 19:295-303, 2021.
57. Mok CW, Tan SM, Zheng Q *et al*. Network meta-analysis of novel and conventional sentinel lymph node biopsy techniques in breast cancer. *Journal from the British Journal of Surgery (BJS) Society* 2019 3:445-452, 2019.
58. Brissot HN, Edery EG. Use of indirect lymphography to identify sentinel lymph node in dogs: a pilot study in 30 tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 15:740-753, 2017.
59. Hlusko KC, Cole R, Tillson DM, *et al*. Sentinel lymph node detection differs when comparing lymphoscintigraphy to lymphography using water soluble iodinated contrast medium and digital radiography in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 61:659-666, 2020.
60. Collivignarelli F, Tamburro R, Aste G *et al*. Lymphatic Drainage Mapping with Indirect Lymphography for Canine Mammary Tumors. *Animals (Basel)*.11:1115, 2021.
61. Randall EK, Jones MD, Kraft SL *et al*. The development of an indirect computed tomography lymphography protocol for sentinel lymph node detection in head and neck cancer and comparison to other sentinel lymph node mapping techniques. *Veterinary Comparative Oncology* 18:634-644, 2020.
62. Grimes JA, Reed RA, Beale C *et al*. Effect of contrast agent viscosity and massage on success of computed tomography lymphangiography with aqueous contrast for sentinel lymph node identification in healthy dogs. *Veterinary Comparative Oncology* 19:587-592, 2021.
63. Majeski SA, Steffey MA, Fuller M *et al*. Indirect computed tomographic lymphography for iliosacral lymphatic mapping in a cohort of dogs with anal sac gland adenocarcinoma: technique description. *Veterinary Radiology Ultrasound*. 258:295-303, 2017.
64. Soutani C, Patsikas MN, Mayer M *et al*. Contrast enhanced computed tomography assessment of superficial inguinal lymph node metastasis in canine mammary gland tumors. *Veterinary Radiology Ultrasound* 62:557-567, 2021.
65. Favril S, Stock E, Hernot S *et al*. Sentinel lymph node mapping by near-infrared fluorescence imaging and contrast-enhanced ultrasound in healthy dogs. *Veterinary Comparative Oncology* 17:89-98, 2019.
66. Manfredi M, De Zani D, Chiti LE *et al*. Preoperative planar lymphoscintigraphy allows for sentinel lymph node detection in 51 dogs improving staging accuracy: Feasibility and pitfalls. *Veterinary Radiology Ultrasound* 62:602-609, 2021.
67. Chiti LE, Stefanello D, Manfredi M *et al*. To map or not to map the cN0 neck: Impact of sentinel lymph node biopsy in canine head and neck tumours. *Veterinary Comparative Oncology*. 19:661-670, 2021.
68. Linden DS, Cole R, Tillson DM *et al*. Sentinel lymph node mapping of the canine anal sac using lymphoscintigraphy: A pilot study. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 60:346-350, 2019.
69. Beer P. A comparison of near-infrared fluorescence imaging, lymphoscintigraphy and methylene blue dye method for intraoperative sentinel lymph node mapping in canine mast cell tumors: a prospective case series. *Scientific Presentation Abstracts: 2019 European College Veterinary Surgeons 28th Annual Scientific Meeting, Budapest, 2019. Veterinary Surgery* 48:631-684.
70. Townsend KL, Milovancev M, Bracha S. Feasibility of near-infrared fluorescence imaging for sentinel lymph node evaluation of the oral cavity in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research* 79:995-1000, 2018.