

IL LINFOSARCOMA NEL CANE: CARATTERISTICHE CLINICHE^{1*}

RAVINDER S. DHALIWAL, DVM, MS, DACVIM (Oncology), DABVP (Canine and Feline)
South Bay Veterinary Specialists - San Jose, California

BARBARA E. KITCHELL, DVM, PhD, DACVIM (Internal/Oncology)
JOANNE B. MESSICK, VMD, PhD, DACVP
University of Illinois

Riassunto

Il linfoma (LSA) del cane è una delle neoplasie maligne disseminate più comunemente trattate negli animali da compagnia. Anche se esiste un certo grado di uniformità nella presentazione clinica dei cani con LSA, è stata rilevata una notevole eterogeneità per quanto riguarda il comportamento biologico, il sottotipo istologico, l'immunofenotipo, la risposta alla terapia e l'esito. Nel presente lavoro vengono passati in rassegna la biologia, la classificazione, i fattori prognostici, l'eziopatogenesi e le caratteristiche cliniche del linfoma.

Summary

Canine lymphosarcoma (LSA) is among the most commonly treated disseminated malignant diseases in companion animals. Although there is a level of uniformity in the clinical presentation among dogs with LSA, there is a great deal of heterogeneity noted in the biologic behaviour, histologic subtype, immunophenotype, therapeutic response, and outcome. This article reviews the biology, classification, prognostic factors, etiopathogenesis, and clinical features of LSA.

Oggi, sia nell'uomo che negli animali da compagnia esiste la possibilità di una guarigione completa del linfoma (LSA). Quest'ultimo rappresenta una proliferazione clonale di linfociti maligni in tessuti solidi, come i linfonodi, il midollo osseo e gli organi viscerali. Il linfoma del cane è una neoplasia ad insorgenza spontanea simile al linfoma non Hodgking (NHL) dell'uomo. La malattia risponde bene al trattamento, ma è raramente guaribile. L'associazione di chemioterapia ed antineoplastici consente di ottenere elevati tassi di remissione iniziale e nella maggior parte dei casi si può prevedere una sopravvivenza mediana di 8-12 mesi. Le massime difficoltà cliniche sono rappresentate dalla reinduzione della remissione nei pazienti che hanno presentato delle recidive dopo una remissione completa e dall'induzione della remissione in quelli con linfoma primario refrattario. Nel presente lavoro vengono illustrati l'incidenza, la causa, la fisiopatologia e le caratteristiche cliniche delle varie forme anatomiche di

questa neoplasia nel cane. Vengono anche presentati il comportamento biologico e la patogenesi molecolare ed i fattori prognostici, con una breve discussione delle opzioni terapeutiche a disposizione dei clinici.

INCIDENZA

Il linfoma costituisce il 7-24% circa della totalità delle neoplasie del cane¹ ed è al terzo posto in ordine di frequenza fra le neoplasie maligne di questa specie animale.² Si tratta del tumore emopoietico osservato più comunemente nel cane: l'83% della totalità dei tumori maligni emopoietici di questi animali è costituito da linfomi.¹ È stato stimato che l'incidenza annuale sia compresa fra 13 e 24 su 100.000 cani a rischio.² Una rassegna dei dati archiviati nel programma di database veterinario attivato presso la Purdue University ha indicato un aumento dallo 0,75% al 2% dei pazienti canini con linfoma presentati a 20 istituti veterinari dal 1987 al 1997.³ Non è stata segnalata alcuna predilezione di razza; tuttavia, sono risultati colpiti con maggiore frequenza il golden retriever, il pastore tedesco, il Labrador retriever, il cocker spaniel, il rottweiler ed il pastore delle Shetland.

¹A pag. 49 è pubblicato un articolo correlato a questo, sulla diagnosi ed il trattamento.

²Da "The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian", Vol. 25, N. 8, agosto 2003, 572. Con l'autorizzazione dell'Editore.

CAUSA

La causa esatta del linfoma è sconosciuta praticamente in tutti i casi. Le eziologie ipotizzate sono rappresentate da infezione virale,⁶ esposizione ad erbicidi,⁷ aberrazioni cromosomiche,⁸ predisposizione genetica⁹ ed esposizione a radiazioni elettromagnetiche.¹⁰

Virus

I retrovirus sono stati descritti come fattore eziologico del linfoma del cane sulla base del riscontro di particelle virali con morfologia dei retrovirus di tipo C nelle sezioni ultrasottili della linea cellulare DLC 01 e dei pellet cellulari DLC 02 del linfoma canino.^{11,12} Tuttavia, non è stata ancora dimostrata in modo conclusivo la presenza di infezioni da retrovirus nei casi spontanei di linfoma del cane.

Agenti chimici

È stata riferita un'associazione fra il rischio di linfoma maligno nel cane e l'esposizione agli erbicidi a base di acido 2,4-diclorofenossiacetico (2,4-D).^{7,13-17} Altri studi non hanno confermato una relazione dose-risposta fra l'esposizione a questo agente ed il linfoma del cane e l'associazione fra la malattia e l'uso di 2,4 D è stata messa in discussione.^{18,19} È stata stabilita un'associazione positiva fra la neoplasia e la residenza nelle aree industriali e l'esposizione alle polluzioni ambientali come le vernici ed i solventi.¹⁹ I campioni di linfoma maligno nell'uomo presentano una mutazione rilevabile dell'oncogene c-N-ras. È stata valutata la frequenza della mutazione del gene nei linfomi ad insorgenza spontanea derivati da 20 cani per i quali era nota l'esposizione al 2,4-D e da 8 cani senza esposizione nota all'erbicida.²⁰ Questo studio ha dimostrato che, a differenza di quanto avviene nell'uomo, nei cani con linfoma maligno le mutazioni geniche sono poco comuni e non c'è associazione fra l'esposizione al 2,4-D e l'attivazione dell'oncogene c-N-ras.²⁰

Aberrazioni molecolari

Aberrazioni cromosomiche sono state identificate in cani con LSA maligno. Nel 1994, Hahn *et al.*⁸ hanno segnalato che i cani con trisomia del cromosoma 13 come aberrazione cromosomica primaria presentavano una prima remissione significativamente più prolungata di quelli con altre aberrazioni cromosomiche primarie. Teske *et al.*²¹ hanno studiato la ploidia del DNA e le caratteristiche della cinetica cellulare del linfoma maligno del cane mediante flussocitometria e sono giunti alla conclusione che i tessuti non neoplastici erano diploidi, mentre 74 linfomi su 94 valutati erano diploidi o quasi diploidi e 20 erano aneuploidi. La frequenza dell'aneuploidia del DNA nel linfoma maligno del cane è quindi risultata simile a quella osservata nel NHL dell'uomo. In contrasto con i riscontri del NHL dell'uomo, tuttavia, non era presente alcuna relazione fra la ploidia del DNA o le caratteristiche di cinetica cellulare e l'istomorfologia o la prognosi.²¹

Aspetti genetici

Anche l'esistenza di una possibile predisposizione genetica come causa del linfoma maligno del cane è stata suggerita da Teske *et al.*,²² che descrissero un raggruppamento di linfomi maligni generalizzati in un singolo nucleo familiare di rottweiler (ed in particolare nei due genitori e in tre soggetti su quattro di una loro cucciolata). Inoltre, in tre otterhound direttamente correlati da parentela (il padre e due figli gemelli) è stato riscontrato un linfoma maligno del miocardio.²² Il raggruppamento nei nuclei familiari potrebbe, naturalmente, essere confuso da fattori ambientali, come l'esposizione a virus ed agenti carcinogeni. Anche la predisposizione di razza è ampiamente riconosciuta dagli oncologi veterinari.

Fattori vari

Lantinga van Leewen *et al.* hanno dimostrato che il tessuto linfoide del cane è una sede extraipofisaria di espressione del gene dell'ormone della crescita. Tuttavia, tale espressione nelle cellule del linfoma canino sembra essere bassa, il che indica che l'ormone della crescita linfoide probabilmente non è uno dei principali fattori dello sviluppo o della progressione del linfoma nel cane.²³ L'infiammazione linfoplasmocitaria enterica è stata suggerita come probabile alterazione prelinfomatosa del tratto gastroenterico (GI). Questo tipo di infiammazione si può osservare sia in sedi adiacenti al linfoma primario che distanti da esso.^{24,25}

Ruolo del sistema immunitario

L'aumento delle informazioni relative ai processi immunomediati ed alle malattie maligne ha rivelato una potenziale associazione fra autoimmunità o sistema immunitario e neoplasia emopoietica nel cane. Le malattie autoimmuni e la neoplasia sono state riscontrate simultaneamente in singoli individui. Keller²⁶ ha dimostrato che i cani con trombocitopenia immunomediata presentavano una maggiore occorrenza di linfoma rispetto a quelli non colpiti da questo disordine. In una segnalazione, un cane ha sviluppato un linfoma multicentrico 7 mesi dopo la diagnosi iniziale di pemfigo foliaceo cutaneo.²⁷ Day *et al.*²⁸ hanno descritto la presenza di materiale cristallino birifrangente come silicone, zolfo, rame, calcio ed alluminio all'interno dei linfonodi di cani colpiti da una gamma di malattie sistemiche e linfadenopatia granulomatosa. Un analogo materiale cristallino è stato riscontrato nei linfonodi dei cani con linfoma. Gli autori di questo studio hanno suggerito che la risposta infiammatoria indotta dalla presenza di questi minerali all'interno del tessuto linfoide possa scatenare un'alterazione dell'immunoregolazione, che condurrebbe allo sviluppo del linfoma o di altre malattie.²⁸ Nell'uomo, è stata ipotizzata un'associazione fra anemia emolitica autoimmune e successiva comparsa di disordini linfoproliferativi.²⁹ In un altro studio, il 4,3% dei pazienti umani con leucemia linfocitaria cronica ha sviluppato un'anemia emolitica autoimmune e una simile occorrenza non è parsa avere un effetto negativo sulla sopravvivenza.³⁰

CLASSIFICAZIONE

Esistono diversi schemi di classificazione per il linfoma del cane. Quello più vecchio suddivide queste neoplasie in base alla sede anatomica. Con questo sistema il tumore viene distinto in multicentrico (80-85% dei casi), alimentare (7%), cutaneo (6%), mediastinico o timico (3%) o extranodale (sistema nervoso centrale, spinale e, raramente, scheletrico).³¹⁻³⁸ Il coinvolgimento del midollo osseo o del sangue periferico da parte delle cellule linfoidi neoplastiche viene detto leucemia. Le forme anatomiche del linfoma verranno discusse in dettaglio più oltre (si veda la sezione relativa ai Segni Clinici). In generale, il linfoma del cane è simile al NHL dell'uomo. In Giappone è stato segnalato un caso isolato di linfoma Hodgkin-simile nel cane; è stata rilevata l'infiltrazione tumorale dei linfonodi e di molteplici organi viscerali.³⁹ L'esame istopatologico ha evidenziato un gran numero di cellule tipiche di Reed-Sternberg con nuclei disposti simmetricamente, le cosiddette cellule a immagine a specchio, miste ad un numero variabile di elementi infiammatori e leucociti globulari.³⁹

Il linfoma è oggi classificato sulla base di tre sistemi di nomenclatura istologica: quello di Rappaport,³² quello del National Cancer Institute Working Formulation (NCI-WF), e la classificazione di Kiel.³³⁻³⁵ Il NCI-WF distingue il linfoma in tre gradi (basso, intermedio ed elevato) ed è lo schema più comunemente accettato per la classificazione nella pratica clinica veterinaria.^{33,35-37} Indipendentemente dal sistema di nomenclatura istologico utilizzato, la maggior parte dei cani presenta il linfoma di grado intermedio o elevato. Sia nello schema NCI-WF che nella classificazione di Kiel, solo una minoranza dei linfomi (rispettivamente il 16,4% ed il 12,0%) sono stati identificati come neoplasie maligne di basso grado. I linfomi a cellule grandi e quelli centroblastici erano quelli più frequentemente riscontrati nello schema NCI-WF e nella classificazione di Kiel, rispettivamente.³⁷

La classificazione del tipo morfologico cellulare utilizzata nello schema NCI-WF distingue un linfoma di grado basso (piccole cellule clivate, follicolari e linfocitarie e piccole cellule clivate follicolari miste), uno di grado intermedio (grandi cellule follicolari, diffuse piccole cellule clivate, diffuse cellule miste grandi e piccole e diffuse cellule grandi) ed uno di grado elevato (diffuse cellule immunoblastiche, diffuse cellule linfoblastiche, diffuse cellule non clivate).³⁴ Analogamente, il sistema di classificazione di Kiel distingue il linfoma canino in basso grado (linfocitario, linfoplasmocitario, centrocitario, centroblastico-centrocitario) e di grado elevato (centroblastico, linfoblastico T, linfoblastico B, immunoblastico).^{33,36} La minore incidenza della malignità di basso grado nel cane è una delle caratteristiche più appariscenti quando si confronta la classificazione in questa specie animale con quella dell'uomo.³¹ Alcuni istopatologi hanno riconosciuto una forma istiocitaria di linfoma.¹

Il linfoma non Hodgkin viene distinto nella classificazione di Rappaport in linfocitario ben differenziato, linfocitario scarsamente differenziato, misto linfocitario-istiocitario, istiocitario o indifferenziato.³⁷ L'attuale sistema di classificazione definisce il linfoma istiocitario come linfoma a cellule grandi.¹

L'analisi genetica ha dimostrato che l'immunofenotipo a cellule B è quello osservato con maggiore frequenza nel cane; solo il 20-30% dei linfomi ha origine da cellule T.^{33,37,38,40} Teske *et al.*,¹⁷ hanno riferito che, a differenza del quadro di distribuzione del NHL dell'uomo nei Paesi occidentali, nella popolazione canina esiste un'elevata percentuale di linfomi delle cellule T (37,9%).

BIOLOGIA

Questa sezione è focalizzata sulla patogenesi molecolare del linfoma e sul significato clinico dei linfonodi periferici. La patologia ed il comportamento naturale di questa neoplasia del cane per ciascuna sede anatomica sono descritti dettagliatamente più oltre (si veda la sezione relativa ai Segni Clinici); anche i marcatori molecolari che sono stati studiati nel linfoma canino sono discussi più oltre (si veda la sezione relativa a fattori prognostici). L'eziopatogenesi molecolare della malattia è ancora in gran parte sconosciuta. Tuttavia, l'istogenesi del linfoma nell'uomo è stata considerevolmente chiarita nel caso dei linfomi derivati dalle cellule B, mentre è ancora scarsamente compresa per quelli che derivano dalle cellule T.⁴¹ I linfociti B originano dalle cellule staminali pluripotenti del midollo osseo come conseguenza di un processo di differenziazione in più fasi e poi migrano verso organi linfoidi secondari, come i follicoli dei linfonodi e le placche di Peyer nel tratto gastroenterico.⁴²⁻⁴⁵ La trasformazione maligna di queste cellule coinvolge una complessa cascata di eventi molecolari, che comprendono alterazioni geniche. La discussione completa di queste vie molecolari esula dagli scopi del presente lavoro. Tuttavia, la teoria fondamentale della neoplasia linfocitaria è che i disordini delle cellule linfoidi rappresentano un arresto della maturazione a vari stadi del normale schema di differenziazione.⁴²⁻⁴⁵ Per informazioni più approfondite, si rimandano i lettori alla consultazione di un trattato di oncologia molecolare (ad es., *The Molecular Basis of Cancer*, edited by Mendelsohn *et al.*; *The Basic Science of Oncology*, edited by Tannock and Hill).

È possibile identificare una varietà di antigeni cellulari a differenti stadi di sviluppo delle cellule B o T e la maggior parte viene indicata come valori di CD (*cluster of differentiation*, o *cluster designation*). In termini semplici, la CD può essere definita come un sistema di nomenclatura uniforme che identifica un particolare lignaggio o stadio di differenziazione di un linfocita. Un particolare stadio di differenziazione ha una struttura ben definita ed è riconosciuta da un gruppo (*cluster*) di anticorpi monoclonali. Come per la maggior parte dei tipi neoplastici, la patogenesi del linfoma rappresenta un processo multifasico che coinvolge l'accumulo progressivo e clonale di molteplici lesioni genetiche che colpiscono i proto-oncogeni e i geni soppressori tumorali.^{46,47}

Vari tumori a sviluppo naturale del cane presentano spesso un'inattivazione del gene soppressore tumorale *p53*, che può essere una delle molteplici modificazioni genetiche per fasi durante la genesi tumorale.⁴⁸ Le aberrazioni del gene *p53* e la perdita dell'eterozigosità cromosomiale sono state dimostrate nel cane con linfoma maligno, leucemia monocitaria, rhabdomyosarcoma, neoplasia del colon e osteosarcoma.^{48,49} Tuttavia, analogamente alla situazione che si os-

serva nella malattia dell'uomo, le mutazioni del gene *p53* si trovano soltanto in un piccolo numero di casi nel cane.^{41,50,51} È oggi evidente che l'eterogeneità clinica del linfosarcoma a cellule B può essere correlata a quella dell'istogenesi del linfosarcoma stesso. Recenti progressi nella biologia molecolare e nella immunologia cellulare hanno portato allo sviluppo di profili completi delle alterazioni del DNA riscontrate in molte forme di neoplasia nell'uomo.⁵² Ci si augura che questi profili forniscano un aiuto inestimabile per la comprensione della patogenesi di specifici tipi tumorali ed infine ci consentano di portare i pazienti alla guarigione.^{52,53}

Il linfoma a cellule mantellari è un linfoma di basso grado che è oggi riconosciuto nel cane. Questa neoplasia è un linfoma a cellule B relativamente raro nell'uomo.⁵⁴ Origina dalla zona del mantello che circonda i centri follicolari del linfonodo.⁵⁴ In letteratura veterinaria, al momento attuale manca qualsiasi segnalazione di questa categoria istologica di linfosarcoma.

Un altro termine che oggi viene comunemente usato dai patologi veterinari è quello di leucemia a grandi linfociti granulari (LGL, *large granular lymphocyte*). La leucemia a LGL coinvolge un sottogruppo linfoide che forma fino al 10% degli elementi mononucleati del sangue periferico ed è costituito da cellule caratterizzate da abbondante citoplasma basofilo contenente granuli distinti di dimensioni e numero variabili.^{12,55} Il decorso clinico della leucemia a LGL è stato valutato in tre cani.⁵⁶ Analogamente a quanto avviene nei pazienti umani colpiti dalla malattia, i cani con leucemia a LGL mostrano una progressione clinica eterogenea. Uno dei soggetti di questa segnalazione presentava una remissione a lungo termine mentre gli altri due hanno mostrato un decorso clinico più progressivo.⁵⁶

Un'altra condizione patogena che si osserva spesso nella pratica clinica di routine è la progressione del linfosarcoma dalla localizzazione a livello di un sito isolato alla forma multicentrica generalizzata della neoplasia. Nei pazienti umani è stata dimostrata una progressione da linfosarcoma locale a malattia clinicamente diffusa. Questo quadro è stato segnalato in un cane in cui un linfoma orbitale a cellule B ricco di cellule T ha manifestato una progressione a linfoma a cellule B diffuso.⁵⁷

SEGN CLINICI

In genere, al momento della diagnosi il linfosarcoma viene caratterizzato clinicamente come una malattia disseminata.⁵⁸ Raramente nel cane viene diagnosticato il coinvolgimento di un singolo linfonodo, il che indica una malattia clinica in stadio I. Il tumore può essere classificato su base anatomica come multicentrico, gastroenterico, del sistema nervoso centrale, cutaneo, epatico, splenico, mediastinico o polmonare e oculare. Inoltre, specifici segni clinici possono essere correlati alla disfunzione di un apparato non linfoide coinvolto dalla malattia.

Malattia multicentrica

Le caratteristiche cliniche del linfoma multicentrico sono solitamente rappresentate da assenza di dolore, linfadenopatia periferica generalizzata non accompagnata da dolore,

con o senza epatosplenomegalia.^{3,58} I linfonodi sono una delle principali sedi di riconoscimento immunologico in un ospite e rispondono a vari processi patologici, quali infezioni, infiammazioni, neoplasie e disordini immunitari. La linfadenopatia viene definita clinicamente come un aumento di dimensioni dei linfonodi. Questo ingrossamento è primariamente dovuto ad iperplasia o infiltrazione linfonodale ad opera di elementi infiammatori o neoplastici.⁵⁹ L'iperplasia linfonodale reattiva è spesso causata da stimolazione antigenica ed è caratterizzata citologicamente da proliferazione di linfociti (dei sottotipi B e T), cellule reticoloendoteliali (macrofagi) e plasmacellule.⁶⁰ La linfadenopatia neoplastica nel linfoma è dovuta alla sostituzione parziale o completa della normale architettura del linfonodo da parte dei linfociti maligni. Nel cane, i linfonodi periferici ingrossati che possono essere facilmente identificati con la palpazione nel corso dell'esame clinico sono quelli mandibolari, prescapolari, poplitei ed inguinali.

L'infiltrazione del midollo osseo può essere presente con o senza segni associati di disfunzione midollare.⁶¹⁻⁶³ Queste manifestazioni possono comprendere disordini mieloproliferativi, come la leucemia, che si distinguono per la marcata infiltrazione linfoide neoplastica, il ridotto numero di precursori eritroidi e la ridotta attività mieloide con la normale maturazione; inoltre, nei cani con linfosarcoma si può avere una riduzione del numero dei megacariociti, ma questo segno si osserva più spesso nei soggetti con leucemia.^{62,63} Raskin e Krehbiel⁶² hanno riferito che il 28% dei casi è stato diagnosticato come leucemico sulla base della valutazione di uno striscio di sangue periferico, mentre l'esame del midollo osseo ha indicato che i soggetti leucemici erano il 57%.

I segni clinici aspecifici sono rappresentati da letargia, febbre, anoressia, perdita di peso, distensione addominale e poliuria-polidipsia^{3,60} nonché da altre manifestazioni correlate alla disfunzione di apparati non linfoidi.

Apparato digerente

La forma gastroenterica del linfosarcoma costituisce una presentazione clinica poco comune nel cane, dove di solito rappresenta il 5%-7% della totalità dei linfomi.⁶⁴ I cani con linfosarcoma gastroenterico possono presentare manifestazioni quali vomito, diarrea, perdita di peso e malassorbimento. Si può identificare un'enterite linfoplasmocitaria localizzata in posizione adiacente o distante rispetto al tumore primario. Può essere difficile per l'istopatologo differenziare il linfosarcoma gastroenterico di basso grado dall'enterite linfoplasmocitaria.²⁴ Una sindrome di malattia intestinale immunoproliferativa clinicamente simile a quest'ultima è stata descritta in cani basenji che in seguito hanno sviluppato il linfosarcoma gastroenterico.²⁵ I cani che presentano linfadenopatia mesenterica e linfosarcoma primario epatico, splenico o gastrico vengono spesso classificati come affetti da linfosarcoma alimentare.

Mediastino

I cani colpiti dalla forma mediastinica di linfosarcoma possono essere portati alla visita con dispnea, tosse, perdi-

ta di peso, poliuria-polidipsia o ipercalcemia. Il linfosarcoma mediastinico si può anche manifestare clinicamente come sindrome precava, caratterizzata da edema depressibile delle regioni cervicale anteriore e facciale e dell'area dell'arto toracico.³

Cute

Il linfosarcoma cutaneo può essere generalizzato o multifocale.^{65,66} Le lesioni si possono presentare sotto forma di noduli, placche, ulcere, dermatite erosiva eritematosa generalizzata, desquamazione, alopecia, croste e prurito. La diagnosi differenziale del linfoma cutaneo deve prendere in considerazione l'istiocitosi cutanea, la dermatite allergica, il lupus eritematoso discoide e la dermatofibrosi nodulare.^{67,68} Nella maggior parte dei casi, il linfosarcoma cutaneo del cane appartiene al sottotipo delle cellule T e risponde male alla chemioterapia.^{3,68} Il tumore può essere classificato come non epiteliotropo oppure epiteliotropo.⁶⁹ A livello delle giunzioni mucocutanee si possono anche rilevare lesioni come eritema, placche e noduli.⁷⁰ La progressione della malattia può essere particolarmente rapida nelle forme boccali.³ Le adenopatie notate al momento della diagnosi o durante il decorso della progressione sono spesso accompagnate da linfocitosi periferica (sindrome di Sézary) e infiltrazione organica. In un pastore tedesco sono state descritte metastasi al sistema nervoso centrale a partire da un linfosarcoma a cellule T epiteliotropo cutaneo primario.⁷¹

Nel cane, il linfoma a cellule T epiteliotropo e la micosi fungoide (MF) sono neoplasie spontanee della cute e delle mucose che colpiscono i soggetti anziani (età media 11 anni) e non mostrano alcuna predilezione di razza. In questa specie animale, la micosi fungoide è stata documentata come un linfoma a cellule T in cui i linfociti epiteliotropi esprimevano costantemente CD3 e CD8.^{72,73} La patogenesi della micosi fungoide del cane non è ancora stata completamente compresa. Nell'uomo, sembra essere significativa l'adesione dei linfociti ai cheratinociti; tuttavia, nella micosi fungoide del cane l'analoga correlazione fra infiltrazione linfocitaria epiteliale e cheratinociti non sembra essere significativa.^{72,74-76}

Sistema nervoso

I cani con linfosarcoma primario del sistema nervoso centrale possono essere portati alla visita con manifestazioni neurologiche quali crisi convulsive, paresi, paralisi, neuropatia locoregionale, alterazione del comportamento e maneggio. Il tumore può mostrare un coinvolgimento locale isolato, un interessamento primario del sistema nervoso centrale o un coinvolgimento multifocale. Il linfosarcoma del sistema nervoso può anche essere di origine metastatica a partire da altre sedi primarie.⁷⁷⁻⁷⁹

Occhi

Il linfosarcoma oculare è caratterizzato da uveite bilaterale, ifema, ipopion, sinechie, distacchi retinici bollosi

completi, esoftalmo e glaucoma secondario^{57,80,81} (Fig. 1). Le lesioni oculari possono essere primarie oppure rappresentare l'estensione di un coinvolgimento sistemico in stadio avanzato.

Altre sedi anatomiche

In rari casi, le lesioni del linfoma sono state documentate a livello di altre sedi anatomiche nel cane: muscolatura scheletrica,⁸² pene,⁸³ vescica,⁸⁴ coinvolgimento scheletrico in più localizzazioni,⁸⁵ ed area nasale.⁸⁶

SINDROMI PARANEOPLASTICHE

I tumori possono determinare la comparsa di segni clinici in sedi distanti sia dalle forme primarie che dalle loro metastasi; queste condizioni vengono indicate come sindromi paraneoplastiche.⁸⁷ Queste possono essere dovute alla produzione da parte del tumore di determinate sostanze, che provocano direttamente o indirettamente la comparsa di effetti a distanza, alla deplezione di sostanze normali che conducono ad una manifestazione paraneoplastica o ad una risposta dell'ospite al tumore che esita nella sindrome.⁸⁷ Le proteine di derivazione tumorale responsabili delle sindromi paraneoplastiche sono state identificate e comprendono vari fattori della crescita e citochine come l'interleuchina-1 ed il fattore di necrosi tumorale.^{87,88} Le sindromi paraneoplastiche che sono state comunemente segnalate in associazione con il linfosarcoma del cane sono rappresentate da ipercalcemia, anemia normocitica normocromica non rigenerativa, anemia emolitica, trombocitopenia, gammopatia monoclonale, neuropatia, *myasthenia gravis* e cachessia neoplastica.^{61,89-92}

L'ipercalcemia da neoplasia maligna è la sindrome paraneoplastica segnalata con maggiore frequenza in associazione con il linfosarcoma. Anche altri tumori maligni, sia di origine epiteliale che mesenchimale, possono indurre

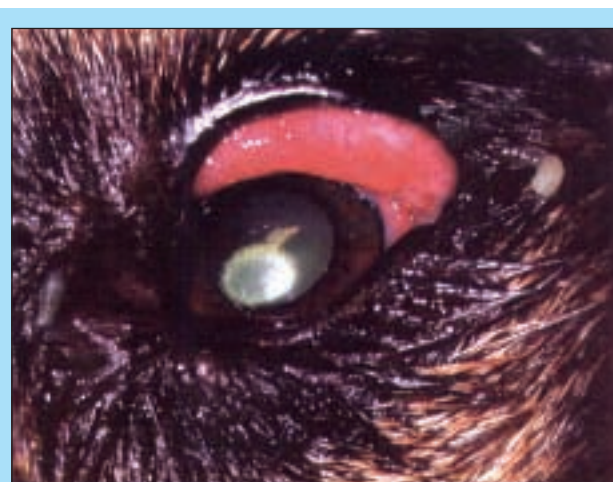


FIGURA 1 - Una femmina ovariectomizzata di rottweiler di 4 anni nella quale era stato diagnosticato un linfosarcoma a cellule T congiuntivale ricorrente. Si noti la intensa chemosi iperemica. Circa 14 settimane prima, la massa era stata sottoposta ad escissione chirurgica (per cortese concessione della Dr.ssa Kristina Burling, staff ophthalmologist, Animal Eye Specialists of San Jose, CA).

ipercalemia. Nel linfoma, quest'ultima è probabilmente dovuta ad un'ipercalemia umorale da neoplasia maligna, oppure all'induzione da parte del tumore di un riassorbimento locale dell'osso.⁹³ Nella maggior parte dei casi, come causa di ipercalemia da neoplasia maligna è stato identificato un peptide correlato all'ormone paratiroideo.⁹⁴ Per diagnosticare la causa di questo disordine, è possibile ricorrere alla determinazione dei livelli sierici di paratormone, peptide paratormone correlato e calcio ionizzato. Nella maggior parte dei cani che presentano un'ipercalemia dovuta a meccanismi umorali, il linfoma è caratterizzato da un fenotipo a cellule T.³³

Nei pazienti che presentano un coinvolgimento osseo, come un'estesa osteolisi, l'ipercalemia può essere dovuta alla distruzione diretta dell'osso da parte degli elementi neoplastici (ipercalemia osteolitica locale).⁹⁵ È oggi evidente che l'aumento dei livelli ematici del calcio, anche nei pazienti con osteolisi estesa, è mediato da fattori rilasciati dalle cellule maligne in maniera autocrina,⁹⁶ come il fattore di attivazione degli osteoclasti, le interleuchine e le prostaglandine, che in ultima analisi agiscono inducendo il riassorbimento di calcio dall'osso.^{92,95} Questi fattori di attivazione degli osteoclasti solubili stimolano il riassorbimento del calcio dal tubulo renale, ma que-

sto effetto ha un'importanza secondaria rispetto all'accelerazione del riassorbimento osseo osteoclastico.⁹⁵ Nei pazienti umani con morbo di Hodgkin, NHL, mieloma e, occasionalmente, tumori solidi, sono stati segnalati elevati livelli sierici di 1,25-diidrossivitamina D₃. Non è ancora chiaro se questa vitamina svolga un ruolo fisiopatologico critico nell'ipercalemia.⁹⁷ Le prostaglandine sono state a lungo implicate come mediatori circolanti dell'ipercalemia correlata alla neoplasia.⁹⁸ Anche altre citochine, come l'interleuchina-1, l'interleuchina-6 ed il fattore di necrosi tumorale sono potenti induttori del riassorbimento osseo in vitro.⁹⁹⁻¹⁰¹

FATTORI PROGNOSTICI

I fattori prognostici nel linfoma del cane sono rappresentati da età, sesso, stadio tumorale, grado istomorfologico (classificazione di Kiel, NCI-WF), immunofenotipo (marcatori CD3 e CD79a) ed indici di proliferazione cellulare come Ki-67, antigene nucleare di cellule proliferanti, indice mitotico e regioni organizzatrici nucleolari argirofile.¹⁰²⁻¹¹⁵ Tuttavia, alcuni oncologi ritengono che l'età non sia significativa dal punto di vista prognostico (Tab. 1).

Tabella 1
Riassunto dei fattori prognostici del linfoma del cane

<i>Fattore prognostico</i>	<i>Influenza sulla sopravvivenza</i>
Età ¹¹⁵	Alcuni oncologi veterinari ritengono che la giovane età sia un fattore prognostico negativo.
Sesso ^{109,112}	Nelle femmine ovariectomizzate la prognosi è più favorevole.
Stadio clinico ^{33,37,107,109,113,116,117}	I cani con malattia in stadio IV o V hanno una DOR più breve. Il substadio b indica un esito prognostico negativo.
Sede anatomica ³	Nel linfoma mediastinico craniale la remissione e la sopravvivenza sono più brevi.
Grado istologico ^{33,37,118}	I cani con malattia di grado più basso hanno una sopravvivenza più prolungata, a meno che la malattia di grado elevato non venga trattata con un protocollo aggressivo a base di antracicline.
Immunofenotipo ^{33,37,92,102,104}	All'immunofenotipo a cellule B è correlata una sopravvivenza più prolungata.
Ki-67 ¹⁰⁴	Il Ki-67 consente di prevedere la durata del primo intervallo senza recidiva, ma non quella della sopravvivenza complessiva.
AgNOR ^{102,110,111}	Le AgNOR hanno un'influenza equivoca.
Indice apoptotico ¹⁰⁴	Questo indice consente di prevedere la durata del primo intervallo senza recidiva, ma non quello della sopravvivenza complessiva.
Tempo di raddoppiamento potenziale (T_{pot}) ^{105,111}	I cani con valori più prolungati della mediana hanno una DOR di maggior durata dopo il trattamento.
Indice di marcatura (LI) ¹⁰⁵	I cani con valore inferiore alla mediana hanno una DOR più prolungata dopo il trattamento.
Durata della fase S (T_s) ¹⁰⁵	I cani con valore inferiore alla mediana hanno una DOR più prolungata dopo il trattamento.
Ipercalemia ^{33,90,114,119}	Fattore prognostico negativo. Tuttavia, uno studio ha dimostrato che l'ipercalemia non era un fattore prognostico significativo.
Albumina ¹⁰⁷	I cani con ipoalbuminemia pretrattamento hanno una DOR più breve.
Precedente esposizione a steroidi ¹⁰⁷	L'esposizione a steroidi ha un'influenza negativa sulla sopravvivenza e sulla durata della remissione.

AgNOR = regioni organizzatrici nucleolari argirofile; DOR = durata della remissione.

Nei cani con linfoma sono stati valutati i test di proliferazione delle cellule tumorali mediante impiego di misure quantitative, come l'indice mitotico, l'immunoreattività per l'antigene nucleare delle cellule proliferanti ed il Ki-67, insieme all'indice apoptotico. Fra i marcatori della proliferazione, solo i risultati dell'analisi di Ki-67 sono stati in grado di prevedere la durata del primo intervallo senza recidive, ma non di predire la sopravvivenza complessiva. Anche l'indice apoptotico pretrattamento ha predetto la durata del primo intervallo senza recidive, ma non della sopravvivenza complessiva.¹⁰⁴ Altri parametri cinetici studiati nel linfosarcoma del cane sono rappresentati dal tempo di raddoppiamento potenziale (*T_{pot}*), dalla durata della fase S (*T_s*), dall'indice di marcatura (LI, *labeling index*) e dall'indice di DNA (DI) misurati mediante tecniche flussocitometriche.

In questo studio, i cani con valori di *T_{pot}* e di *T_s* più prolungati della mediana e valori di LI inferiori alla mediana hanno presentato una remissione significativamente più prolungata dopo il trattamento rispetto a tutti gli altri cani presi in esame. I meccanismi con cui le cinetiche sono associate alla risposta alla chemioterapia non sono ancora chiari.¹⁰⁵ Hahn *et al.*¹⁰⁶ hanno dimostrato che le concentrazioni plasmatiche medie della glutatione S-transferasi erano marcatamente aumentate ($P < 0,05$) al momento della recidiva nei cani con linfosarcoma. È auspicabile che la determinazione di questi marcatori molecolari venga offerta dai laboratori di analisi privati, per aiutare i clinici a prendere decisioni terapeutiche e prognostiche.

In uno studio su 28 cani con linfosarcoma, la durata della remissione è stata più breve nei soggetti con malattia in stadio IV o V, in quelli con ipoalbuminemia pretrattamento ed in quelli che erano stati trattati con glucocorticoidi prima dell'inizio della terapia.¹⁰⁷

Un altro studio retrospettivo su 145 cani nei quali era stato diagnosticato un linfoma ha dimostrato che i soggetti in cui l'anamnesi riferiva di malattie infiammatorie croniche avevano una probabilità 3,23 volte maggiore di presentare una recidiva rispetto alla popolazione complessiva dei pazienti con linfosarcoma.

Nei casi di insuccesso dell'induzione della chemioterapia, è stata stabilita un'associazione fra il valore più elevato del rischio relativo di morte e la tossicità gastroenterica da induzione ed il substadio b clinico. Mediante analisi univariata, Keller *et al.*¹⁰⁹ hanno identificato sesso, substadio della classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità e livelli sierici di calcio come variabili prognostiche statisticamente significative sia per la sopravvivenza che per la durata della remissione. Con l'analisi multivariata, solo il substadio era un fattore prognostico significativo per la durata della remissione, mentre per la sopravvivenza erano fattori prognostici significativi sia il substadio che il sesso.¹⁰⁹ L'immunofenotipo è risultato utile per prevedere la durata della prima remissione, l'intervallo senza malattia e la sopravvivenza complessiva.^{33,37,38,102-104} In una segnalazione, cani con linfosarcoma a cellule T sono risultati esposti ad un rischio di recidiva e morte precoce dopo la terapia significativamente più elevato rispetto ai cani con linfosarcoma a cellule B (52 giorni contro 160 e 153 giorni con 330, rispettivamente).³⁸

Bibliografia

1. Moulton JK, Harvey JW: Tumors of lymphoid and hematopoietic tissue, in Moulton JE. (ed): Tumors of Domestic Animals, ed 3. Berkeley, University of California Press, 1990, pp 231-307.
2. Dorn CR, Taylor DON, Frye FL, et al: Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. 1. Methodology and description of cases. J Natl Cancer Inst 40:295-305, 1968.
3. Vail DM, MacEwen EG, Young KM: Canine lymphoma and lymphoid leukemias, in Withrow SJ, MacEwen EG (eds): Small Animal Clinical Oncology ed 3. Philadelphia, WB Saunders, 2001, pp 558-590.
4. Starrak GS, Berry CR, Page RL, et al: Correlation between thoracic radiographic changes and remission/survival duration in 270 dogs with lymphosarcoma. Vet Radiol Ultrasound 38:411-418, 1997.
5. Zemmann BI, Moore AS, Rand WM, et al: A combination chemotherapy protocol (VELCAP-L) for dogs with lymphoma. J Vet Intern Med 12:465-470, 1998.
6. Tomley FM, Armstrong SJ, Mahy BW, Owen LN: Reverse transcriptase activity and particles of retroviral density in cultured canine lymphosarcoma supernatants. Br J Cancer 47:277-284, 1983.
7. Hayes HM, Tarone RE, Cantor KP, et al: Canine-control study of canine malignant lymphoma: Positive association with dog owner's use of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicides. J Natl Cancer Inst 83:1226-1231, 1991.
8. Hahn KA, Richardson RC, Hahn EA, et al: Diagnostic and prognostic importance of chromosomal aberrations identified in 61 dogs with lymphosarcoma. Vet Pathol 31:528-540, 1994.
9. Onions DE: A prospective survey of familial canine lymphosarcoma. J Natl Cancer Inst 72:909-912, 1984.
10. Reif JS, Lower KS, Ogilvie GK: Residential exposure to magnetic fields and risk of canine lymphoma. Am J Epidemiol 141:352-359, 1995.
11. Ghernati I, Auger C, Chabanne L, et al: Characterization of a canine long-term T cell line (DLC 01) established from a dog with Sézary syndrome and producing retroviral particles. Leukemia 13:1281-1290, 1999.
12. Ghernati I, Corbin A, Chabanne L, et al: Canine large granular lymphocyte leukemia and its derived cell line produce infections retroviral particles. Vet Pathol 37:310-317, 2000.
13. Hayes HM, Tarone RE, Cantor KP: On the association between canine malignant lymphoma and opportunity for exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Environ Res 70:119-125, 1995.
14. Reynolds PM, Reif JS, Ramsdell HS, et al: Canine exposure to herbicide-treated lawns and urinary excretion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 3:233-237, 1994.
15. Carlo GL, Cole P, Miller AB, et al: Review of a study reporting an association between 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and canine malignant lymphoma: Report of an expert panel. Regul Toxicol Pharmacol 16:245-252, 1992.
16. Zahm SH, Blair A: Pesticides and non-Hodgkin's lymphoma. Cancer Res 52:5485s-5488s, 1992.
17. Sternberg SS: Canine malignant lymphoma and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicides. J Natl Cancer Inst 84:271, 1992.
18. Kaneene JB, Miller R: Re-analysis of 2,4-D use and the occurrence of canine malignant lymphoma. Vet Hum Toxicol 41:164-170, 1999.
19. Gavazza A, Presciutti S, Barale R, et al: Association between canine malignant lymphoma, living in industrial areas, and use of chemicals by dog owners. J Vet Intern Med 15:190-195, 2001.
20. Edwards MD, Pazzi KA, Gumerlock PH, et al: c-N-ras is activated infrequently in canine malignant lymphoma. Toxicol Pathol 21:288-291, 1993.
21. Teske E, Rutteman GR, Kuipers-Dijkshoorn NJ, et al: DNA ploidy and cell kinetic characteristics in canine non-Hodgkin's lymphoma. Exp Hematol 21:579-584, 1993.
22. Teske E, de Vos JP, Egberink HF, et al: Clustering in canine malignant lymphoma. Vet Q 16:134-136, 1994.
23. Lantinga van Leeuwen IS, Teske E, van Garderen E, et al: Growth hormone gene expression in normal lymph nodes and lymphomas of the dog. Anticancer Res 20:2371-2376, 2000.
24. Couto CG, Ruggers HC, Sherding RG, et al: Gastrointestinal lymphoma in 20 dogs. A retrospective study. J Vet Intern Med 3:73-78, 1989.
25. Breitschwerdt EB, Waltman C, Hagstad HV, et al: Clinical and epidemiologic characterization of a diarrheal syndrome in Basenji dogs. JAVMA 180:914-920, 1982.
26. Keller ET: Immune-mediated disease as a risk factor for canine lymphoma. Cancer 7:2334-2337, 1992.
27. Foster AP, Sturgess CP, Gould DJ, et al: Pemphigus foliaceus in association with systemic lupus erythematosus, and subsequent: lymphoma in a cocker spaniel. J Small Anim Pract 41:266-270, 2000.
28. Day MJ, Pearson GR, Lucke VM, et al: Lesions associated with mineral deposition in the lymph node and lung of the dog. Vet Pathol 33:29-42, 1996.
29. Sallah S, Wan JY, Hanrahan RL: Future development of lymphoproliferative disorders in patients with autoimmune hemolytic anemia. Clin Cancer Res 7:791-794, 2001.
30. Mauro FR, Foa R, Cerretti R, et al: Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: Clinical, therapeutic, and prognostic features. Blood 95:2786-2792, 2000.

31. MacEwen EG, Young KM: Canine lymphoma and lymphoid leukemias, in Withrow SJ, MacEwen EG (eds): *Small Animal Clinical Oncology*. Philadelphia, WB Saunders, 1989 pp 451-479.
32. Rappaport H, Winter WJ, Hicks EB: Follicular lymphoma. A reevaluation of its position in the scheme of malignant lymphomas, based on a survey of 253 cases. *Cancer* 9:792-821, 1956.
33. Greenlee PG, Filippa DA, Quimby FW, et al: Lymphomas in dogs. A morphologic, immunologic, and clinical study. *Cancer* 66:480-490, 1990.
34. Carter RF, Valli VE, Lumsden JH: The cytology, histology and prevalence of cell types in canine lymphoma classified according to the National Cancer Institute Working Formulation. *Can J Vet Res* 50:154-164, 1986.
35. Lennert K, Stein H, Kaiserling E: Cytologic and functional criteria for the classification of malignant lymphoma. *Br J Cancer* 31(suppl 2):29-43, 1975.
36. Lennert K, Mohri N, Stein H, et al: The histopathology of malignant lymphoma. *Br J Hematol* 31(suppl 1):193-203, 1975.
37. Teske E, Wisman P, Moore PF, et al: Histologic classification and immunophenotyping of canine non-Hodgkin's lymphomas: Unexpected high frequency of T cell lymphomas with B cell morphology. *Exp Hematol* 22:1179-1187, 1994.
38. Ruslander DA, Gebhard DH, Tompkins MB, et al: Immunophenotypic characterization of canine lymphoproliferative disorders. *In Vivo* 11:169-172, 1997.
39. Maeda H, Ozaki K, Honaga S, et al: Hodgkin's-like lymphoma in a dog. *Zentralbl Veterinarmed A* 40:200-204, 1993.
40. Momoi Y, Nagase M, Okamoto Y, et al: Rearrangements of immunoglobulin and T-cell receptor genes in canine lymphoma/leukemia cells. *J Vet Med Sci* 55:775-780, 1993.
41. Dalla-Favera R, Gaidano G: Molecular biology of lymphomas, in DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds): *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, ed 6. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp 2215-2234.
42. Liu YJ, Arpin C: Germinal center development. *Immunol Rev* 156:111-126, 1997.
43. Gordon J, Gregory CD, Grafton G, Pound JD: Signals for survival and apoptosis in normal and neoplastic B lymphocytes. *Adv Exp Med Biol* 406:139-144, 1996.
44. Kuppers R, Klein U, Hansmann ML, et al: Cellular origin of human B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 341:1520-1529, 1999.
45. Bahler DW, Levy R: Clonal evolution of a follicular lymphoma: Evidence for antigen selection. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:6770-6774, 1992.
46. Gamberi B, Gaidano G, Parsa N, et al: Microsatellite instability is rare in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 89:975-979, 1997.
47. Offit K, Wong G, Filippa DA, et al: Cytogenetic analysis of 434 consecutively ascertained specimens of non-Hodgkin's lymphoma: Clinical correlations. *Blood* 77:1508-1515, 1991.
48. Setoguchi A, Sakai T, Okuda M, et al: Aberrations of the p53 tumor suppressor gene in various tumors in dogs. *Am J Vet Res* 62:433-499, 2001.
49. Gambelin RM, Sagartz JE, Couto CG: Overexpression of p53 tumor suppressor protein in spontaneously arising neoplasms of dogs. *Am J Vet Res* 58:857-863, 1997.
50. Dhaliwal RS, Kitchell BE: Multiple drug resistance markers in canine lymphosarcoma. *Proc Annu Conf Am Coll Vet Radiol Vet Cancer Soc*:34, 1997 (unpublished data).
51. Nasir L, Argyle DJ: Mutational analysis of the tumor suppressor gene p53 in lymphosarcoma in two bull mastiffs. *Vet Rec* 145:23-24, 1999.
52. Esteller M, Corn PG, Baylin SB, et al: A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 61:3225-3229, 2001.
53. Baron T, Rigal D, Bryon PA, et al: Serial transplantation and characterization of a canine diffuse large cell lymphoma grafted in nude mice. *Anticancer Res* 11:1751-1754, 1991.
54. Gaidano G, Dalla-Favera R: Molecular biology of lymphoid neoplasms, in Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA (eds): *The Molecular Basis of Cancer*. Philadelphia, WB Saunders, 1995, pp 251-279.
55. Chabanne L, Ponce F, Ghernati I, et al: A canine granular lymphocyte proliferative disease without an aggressive clinical course. *J Vet Intern Med* 15:249-251, 2001.
56. Wellman ML, Couto CG, Sarkey RJ, et al: Lymphocytosis of large granular lymphocytes in three dogs. *Vet Pathol* 37:158-163, 1989.
57. Aquino SM, Hamor RE, Valli VE, et al: Progression of an orbital T-cell rich B-cell lymphoma to a B-cell lymphoma in a dog. *Vet Pathol* 37:465-469, 2000.
58. Vonderhaar MA, Morrison WB: Lymphosarcoma, in Morrison WB (ed): *Cancer in Dogs and Cats: Medical and Surgical Management*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1998, pp 667-695.
59. Rogers KS, Barton CL, Landis M: Canine and feline lymph nodes. Part II. Diagnostic evaluation of lymphadenopathy. *Compend Contin Educ Pract Vet* 15:1493-1503, 1993.
60. Mills JN: Lymph node cytology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 19:697-717, 1989.
61. Madewell BR: Hematological and bone marrow cytological abnormalities in 75 dogs with malignant lymphoma. *JAAHA* 22:235-240, 1986.
62. Raskin RE, Krehbiel JD: Prevalence of leukemic blood and bone marrow in dogs with multicentric lymphoma. *JAVMA* 194:1427-1429, 1989.
63. Morris JS, Dunn JK, Dobson JM: Canine lymphoid leukaemia and lymphoma with bone marrow involvement: A review of 24 cases. *J Small Anim Pract* 34:72-79, 1993.
64. Madewell BR, Theilen GH: Hematopoietic neoplasms, sarcomas and related conditions, Part IV: Canine, in Theilen GH, Madewell BR (eds): *Veterinary Cancer Medicine*, ed 2. Philadelphia, Lea & Febiger, 1987, pp 392-407.
65. Thrall MA, Macy DW, Snyder SP, Hall RL: Cutaneous lymphosarcoma and leukemia in a dog resembling Sézary syndrome in man. *Vet Pathol* 21:182-186, 1984.
66. DeBoer DJ, Turrel JM, Moore PF: Mycosis fungoides in a dog. Demonstration of T-cell specificity and response to radiotherapy. *JAAHA* 26:566-572, 1990.
67. Baines SJ, McCormick D, McInnes E, et al: Cutaneous T cell lymphoma mimicking cutaneous histiocytosis: Differentiation by flow cytometry. *Vet Rec* 147:11-16, 2000.
68. Bouchard H: Epitheliotropic lymphoma in a dog. *Can Vet J* 41:628-630, 2000.
69. Magnol JP, Ghernati I, Marchal T, et al: Clinical, morphologic and immunophenotypic data based on 10 cases of canine muco-cutaneous epidermotropic T-lymphoma (analogous to mycosis fungoides). Important of an animal model of spontaneous pathology. *Bull Acad Natl Med* 180:449-462, 1996.
70. Muller GH, Kirk RW, Scott DW: Cutaneous lymphosarcoma, in Scott DW, Miller Jr WH, Griffin CE (eds): *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, ed 5. Philadelphia, WB Saunders, 1995, pp 1064-1072.
71. Czásch S, Risse K, Baumgartner W: Central nervous system metastasis of a cutaneous epitheliotropic lymphosarcoma in a dog. *J Comp Pathol* 123:59-63, 2000.
72. Fivenson DP, Saed GM, Beck ER, et al: T-cell receptor gene rearrangement in canine mycosis fungoides: Further support for a canine model of cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 102:227-230, 1994.
73. Ferrer L, Fondevila D, Rabanal R, et al: Immunohistochemical detection of CD3 antigen (pan T marker) in canine lymphomas. *J Vet Diagn Invest* 5:616-620, 1993.
74. Olivry T, Moore PF, Naydan DK, et al: Investigation of epidermotropism in canine mycosis fungoides: Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and beta-2 integrins. *Arch Dermatol Res* 287:186-192, 1995.
75. Fivenson DP, Beck ER, Dunstan RW, et al: Dermal dendrocytes and T-cells in canine mycosis fungoides. Support for an animal model of human cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer* 70:2091-2098, 1992.
76. Moore PF, Olivry T, Naydan D: Canine cutaneous epitheliotropic lymphoma (mycosis fungoides) is a proliferative disorder of CD8⁺ T cells. *Am J Pathol* 144:421-429, 1994.
77. Couto CG, Cullen J, Pedroia V, et al: Central nervous system lymphosarcoma in the dog. *JAVMA* 184:809-813, 1984.
78. Dallman MJ, Saunders GK: Primary spinal cord lymphosarcoma in a dog. *JAVMA* 189:1348-1349, 1986.
79. Pfaff AM, March PA, Fishman C: Acute bilateral trigeminal neuropathy associated with nervous system lymphosarcoma in a dog. *JAAHA* 36:57-61, 2000.
80. Swanson JF: Ocular manifestations of systemic disease in the dog and cat. Recent developments. *Vet Clin North Am* 20:849-867, 1990.
81. Cullen CL, Caswell JL, Grahm BH: Intravascular lymphoma presenting as bilateral panophthalmitis and retinal detachment in a dog. *JAAHA* 36:337-342, 2000.
82. Harkin KR, Kennedy GA, Moore WE, Schoning P: Skeletal muscle lymphoma in a bullmastiff. *JAAHA* 36:63-66, 2000.
83. Michels GM, Knapp DW, David M, et al: Penile prolapse and urethral obstruction secondary to lymphosarcoma of the penis in a dog. *JAAHA* 37:474-477, 2001.
84. Maiolino P, DeVico G: Primary epitheliotropic T-cell lymphoma of the urinary bladder in a dog. *Vet Pathol* 37:184-186, 2000.
85. Dhaliwal RS, Reed AL, Kitchell BE: Multicentric lymphosarcoma in a dog with multiple-site skeletal involvement. *Vet Radiol Ultrasound* 42:38-41, 2001.
86. Kaldrymidou E, Papaioannou N, Poutahidis T, et al: Malignant lymphoma in nasal cavity and paranasal sinuses of a dog. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 47:457-462, 2000.
87. Arnold SM, Patchell R, Lowy AM, et al: Paraneoplastic syndromes, in DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds): *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, ed 6. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp 2511-2532.
88. Yahalom J: Oncologic emergencies, in DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds): *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, ed 6. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp 2609-2651.
89. Vail DM, Ogilvie GK, Wheeler SL, et al: Alterations in carbohydrate metabolism in canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 4:8-11, 1990.
90. Madewell BR, Feldman BF: Characterization of anemias associated with neoplasia in small animals. *JAVMA* 176:419-425, 1980.
91. Ridyard AE, Rhind SM, French AT, et al: Myasthenia gravis associated with cutaneous lymphoma in a dog. *J Small Anim Pract* 41:348-351, 2000.
92. Weller RE: Paraneoplastic disorders in dogs with hematopoietic tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 15:805-816, 1985.
93. Morrison WB: Paraneoplastic syndromes and the tumors that cause them, in Morrison WB (ed): *Cancer in Dogs and Cats: Medical and Sur-*

- gical Management. Baltimore, Williams & Wilkins, 1998, pp 763-777.
94. Rosol TJ, Nagode LA, Couto CG, et al: Parathyroid hormone (PTH)-related protein, PTH, and 1,25-dihydroxyvitamin D in dogs with cancer-associated hypercalcemia. *Endocrinology* 131:1157-1164, 1992.
95. Stewart AF, Horst R, Deftos LJ, et al: Biochemical evaluation of patients with cancer-associated hypercalcemia: Evidence for humoral and nonhumoral groups. *N Engl J Med* 303:1377-1383, 1980.
96. Ibbotson KJ, Twardzik DR, D'Souza SM, et al: Stimulation of bone resorption in vitro by synthetic transforming growth factor- α . *Science* 228:1007-1009, 1985.
97. Schweitzer DH, Hamdy NAT, Frolich M, et al: Malignancy-associated hypercalcemia: Resolution of controversies over vitamin D metabolism by a pathophysiological approach to the syndrome. *Clin Endocrinol* 41:251-256, 1994.
98. Brenner DE, Harvey HA, Lipton A, et al: A study of prostaglandin E₂, parathormone, and response to indomethacin in patients with hypercalcemia of malignancy. *Cancer* 49:556-561, 1982.
99. Yoneda T, Nakai M, Moriyama K, et al: Neutralizing antibodies to human interleukin 6 reverse hypercalcemia associated with a human squamous carcinoma. *Cancer Res* 53:737-740, 1993.
100. Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH, et al: IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol* 145:3297-3303, 1990.
101. Barri YM, Knochel JP: Hypercalcemia and electrolyte disturbances in malignancy. *Hematol Oncol Clin North Am* 10:775-790, 1996.
102. Kiupel M, Teske E, Bostock D: Prognostic factors for treated canine malignant lymphoma. *Vet Pathol* 36:292-300, 1999.
103. Dobson JM, Blackwood LB, McInnes EF, et al: Prognostic variables in canine multicentric lymphosarcoma. *J Small Anim Pract* 42:377-384, 2001.
104. Phillips BS, Kass PH, Naydan DK, et al: Apoptotic and proliferation indexes in canine lymphoma. *J Vet Diagn Invest* 12:111-117, 2000.
105. Larue SM, Fox MH, Ogilvie GK, et al: Tumor cell kinetics as predictors of response in canine lymphoma treated with chemotherapy alone or combined with whole body hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 15:475-486, 1999.
106. Hahn KA, Barnhill MA, Freeman KP, et al: Detection and clinical significance of plasma glutathione-S-transferases in dogs with lymphoma. *In Vivo* 13:173-175, 1999.
107. Price GS, Page RL, Fischer BM, et al: Efficacy and toxicity of doxorubicin/cyclophosphamide maintenance therapy in dogs with multicentric lymphosarcoma. *J Vet Intern Med* 5:259-262, 1991.
108. Baskin CR, Couto CG, Wittum TE: Factors influencing first remission and survival in 145 dogs with lymphoma: A retrospective study JAAHA 36:404-409, 2000.
109. Keller ET, MacEwen EG, Rosenthal RC, et al: Evaluation of prognostic factors and sequential combination chemotherapy with doxorubicin for canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 7:289-295, 1993.
110. Crocker J, Nar P: Nucleolar organizer regions in lymphomas. *J Pathol* 151:111-1118, 1987.
111. Vail DM, Kisseberth WC, Obradovich JE, et al: Assessment of potential doubling time (T_{pot}), argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNOR), and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as predictors of therapy response in canine non-Hodgkin's lymphoma. *Exp Hematol* 24:807-815, 1996.
112. MacEwen EG, Hayes AA, Matus RE, et al: Evaluation of some prognostic factors for advanced multicentric lymphosarcoma in the dog: 147 cases (1978-1981). *JAVMA* 190:564-568, 1987.
113. Valerius KD, Ogilvie GK, Fettman MJ, et al: Comparison of the effects of asparaginase administered subcutaneously versus intramuscularly for treatment of multicentric lymphoma in dogs receiving doxorubicin. *JAVMA* 214:353-356, 1999.
114. Rosenberg MP, Matus RE, Patnaik AK: Prognostic factors in dogs with lymphoma and associated hypercalcemia. *J Vet Intern Med* 5:268-271, 1991.
115. Rosenthal RC: Treatment of multicentric canine lymphosarcoma. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 20:1093-1104.
116. Cotter SM: Treatment of lymphoma and leukemia with cyclophosphamide, vincristine and prednisone: I. Treatment of dogs. *JAAHA* 19:159-165, 1983.
117. Cotter SM, Goldstein MA: Comparison of two protocols for maintenance of remission in dogs with lymphoma. *JAAHA* 23:495-499, 1987.
118. Weller RE, Holmberg CA, Theilen GH, et al: Histologic classification as a prognostic criterion for canine lymphosarcoma. *Am J Vet Res* 41:1310-1314, 1980.
119. Weller RE, Holmberg CA, Theilen GH, et al: Canine lymphosarcoma and hypercalcemia: Clinical, laboratory and pathologic evaluation of twenty-four cases. *J Small Anim Pract* 23:649-658, 1982.