

Received: 2012.12.12
Accepted: 2013.03.05
Published: 2013.05.22

Pies jako model do badań porównawczych nad ludzkimi chłoniakami i białaczkami*

The dog as a model for comparative studies of lymphoma and leukemia in humans

Aleksandra Pawlak¹, Bożena Obmińska-Mrukowicz¹, Andrzej Rapak²

¹ Zakład Farmakologii i Toksykologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

² Laboratorium Immunobiologii Molekularnej Nowotworów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Pies towarzyszy człowiekowi od tysięcy lat, dzieli z nim środowisko życia i narażony jest na działanie tych samych, co człowiek czynników środowiskowych, takich jak: zanieczyszczenie powietrza, dym nikotynowy czy różnego rodzaju związki chemiczne. Otoczenie psa odpowiednią opieką weterynaryjną doprowadziło do znacznego wydłużenia czasu życia psów oraz pozwoliło na diagnozowanie i leczenie coraz większej liczby różnych chorób. Spośród wszystkich chorób występujących u psów w dzisiejszych czasach jedną z głównych przyczyn śmiertelności, obok chorób zakaźnych, są choroby nowotworowe, z których rozrosty limfoproliferacyjne stanowią nawet 30%. Niektóre z nich, takie jak chłoniaki nieziarnicze (non-Hodgkin lymphoma - NHL) czy białaczki limfocytarne wykazują znaczne podobieństwo w zakresie etiologii, patogenезy i odpowiedzi na leczenie do analogicznych chorób występujących u ludzi. Dodatkowo występowanie wspólnych cech anatomicznych i fizjologicznych u ludzi i psów spowodowało, że pies stał się użytecznym modelem w badaniach nad nowymi lekami i metodami leczenia dla ludzi. Badania nad psimi nowotworami układu limfatycznego ograniczone były brakiem stabilnych i dobrze scharakteryzowanych linii komórkowych, dlatego uzyskane ostatnio psie linie komórkowe chłoniaków NHL mogą się stać cennym modelem. Ustalenie ich wrażliwości na działanie różnych czynników antyproliferacyjnych powinno pozwolić na utworzenie bazy danych, umożliwiającej później na postawienie szybkiej i trafnej diagnozy oraz na wybór odpowiedniego leczenia. Dzięki współpracy ludzkich i weterynaryjnych onkologów możliwe stało się wykorzystanie psa jako modelu do badań nad niektórymi typami nowotworów stanowiącymi wyzwanie dla współczesnej medycyny.

Słowa kluczowe: nowotwory psów • białaczki • chłoniaki • terapia przeciwnowotworowa • onkologia porównawcza

Summary

Dogs have accompanied humankind for thousands of years. They share the same environment, and thus are exposed to the same environmental factors such as air pollution, tobacco smoke, and various chemicals. Recent development of veterinary care has led to a significant extension of dogs' lifespan and allowed the diagnosis and treatment of a growing number of different diseases in this species. Among all diseases in dogs, cancer is considered the main cause of

* Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/03/B/NZ5/01533 oraz DEC-2011/01/N/NZ5/02833.

mortality, with lymphoproliferative disorders accounting for up to 30% of all canine cancers. Some of them, such as non-Hodgkin lymphoma (NHL) and lymphocytic leukemia, are very similar in the etiology, pathogenesis and response to treatment to the diseases occurring in humans. Due to anatomical and physiological similarities to humans, the dog is a useful model for the study of new therapeutic strategies for humans. Studies on the canine neoplasia are currently limited by the lack of well-characterized and widely available cell lines; thus, recently obtained canine NHL cell lines may become a valuable model for such studies. Investigation of their sensitivity to the antiproliferative effects of different factors should allow the creation of a database similar to the existing classification of human leukemias and lymphomas. This should enable quick and accurate diagnosis and selection of appropriate treatment based on phenotypic analysis and histopathological examination of clinical samples. The cooperation between human and veterinary oncologists gives the opportunity to use the dog as a model for the study of certain types of cancers presenting a challenge for modern medicine.

Keywords: canine cancers • leukemia • lymphoma • anticancer therapy • comparative oncology

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1050411>

Word count: 3037
Tables: 4
Figures: –
References: 66

Adres autora: dr hab. Andrzej Rapak, Laboratorium Immunobiologii Molekularnej Nowotworów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda, Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: rapak@iitd.pan.wroc.pl

WSTĘP

Pies (*canis lupus familiaris*) towarzyszy człowiekowi od tysięcy lat. Od czasu udomowienia wilka (15-40 tys. lat temu) człowiek w znaczny sposób wpłynął na rozwój tego gatunku doprowadzając do utworzenia ponad 500 różnych ras psów. Stosowana przez człowieka selekcja doprowadziła do ograniczenia genetycznej różnorodności w efekcie czego powstały rasy o utrwalonych mutacjach, o genetycznie uwarunkowanych skłonnościach do występowania pewnych chorób, co czyni z psa istotne narzędzie wykorzystywane w badaniach genetycznych [25]. Na przełomie lat pies awansował do roli członka rodziny, któremu należy się szacunek i opieka – w tym także opieka medyczna. Wprowadzone przez lekarzy weterynarii programy szczepień, prawidłowe żywienie, a także nowoczesne techniki diagnostyczne i terapeutyczne spowodowały znaczne wydłużenie czasu życia psów i tym samym występowanie u nich chorób charakterystycznych dla podeszłego wieku [39]. Pies jako towarzysz człowieka coraz częściej zapada na tzw. choroby cywilizacyjne, takie jak otyłość czy choroby krążenia, które nie tylko stanowią wyzwanie dla współczesnej medycyny, ale także mogą predysponować do wystąpienia niektórych typów nowotworów.

W Polsce jest obecnie 8 mln psów, w Wielkiej Brytanii 6,5 mln, w Stanach Zjednoczonych 80 mln, a jedną z głównych przyczyn śmiertelności psów, obok chorób zakaźnych, są choroby nowotworowe [44]. Chłoniaki stanowią około 90% spośród wszystkich występujących u psów nowotworów układu hematopoetycznego [39], co z kolei sta-

nowi 5-30% spośród wszystkich diagnozowanych typów nowotworów u tego gatunku zwierząt [43,56]. Zapadalność na chłoniaki w populacji psów jest większa niż u ludzi [25]. Chorują psy różnych ras i w różnym wieku, ale najliczniejszą grupę chorych stanowią psy w wieku około 10 lat [10]. Nie obserwuje się częstszego występowania tej choroby w odniesieniu do określonej płci zwierzęcia. Za rasy predysponowane do występowania chłoniaka uważa się airedale terriery, basety, bokserzy, buldogi, berneńskie psy pasterskie i teriery szkockie [1]. W tabeli 1 przedstawiono najczęściej występujące nowotwory u psów.

ONKOLOGIA PORÓWNAWCZA

Onkologia porównawcza jest szybko rozwijającą się dyscypliną mającą na celu integrację badań dotyczących naturalnie występujących nowotworów u zwierząt i wykorzystanie ich do bardziej ogólnych badań w biologii i terapii nowotworów. Spośród różnych gatunków zwierząt najodpowiedniejszym modelem okazał się pies ze względu na rozmiar ciała, długość życia i dzielenie warunków życia z człowiekiem. Od lat pies obok myszy i szczura jest zwierzęciem laboratoryjnym niezbędnym w badaniach toksykologicznych, takich jak określenie toksycznego działania substancji o działaniu przeciwnowotworowym [10]. Z powodu podobieństw anatomicznych i fizjologicznych psy stały się użytecznym modelem w badaniach nad nowymi lekami i metodami leczenia ludzi. Również spontanicznie

Tabela 1. Występowanie nowotworów u psów

Okolica objęta procesem nowotworowym	Częstotliwość występowania
Skóra i tkanki miękkie	59,45%
Gruzoł sutkowy	8,44%
Układ moczowo-płciowy	5,72%
Układ hematopoetyczny	5,52%
Układ hormonalny	4,90%
Układ pokarmowy	4,69%
Jama ustna/nosowa	4,32%
Śledziona	3,54%
Kości	3,42%

Według *Small Animals Oncology* - Joanna Morris, Jane Dobson; 2001, s. 1-3; Blackwell Science Ltd

powstające nowotwory u psów wykazują wiele wspólnych cech klinicznych i molekularnych z nowotworami ludzkimi [28,35]. Sugeruje się również, że psie linie komórkowe mogą się stać dobrym modelem badawczym pozwalającym na testowanie nowych strategii terapeutycznych w leczeniu ludzkich białaczek i chłoniaków.

Na świecie powstało wiele programów badawczych i konsorcjów, skupiających naukowców i klinicystów zajmujących się ludzką i weterynaryjną onkologią, mających na celu koordynację badań nad psimi i ludzkimi nowotworami [21,27].

W czasie realizacji projektu „Canine Genome Projekt” ustalono 99% genomu psa. Wszystkie z około 19000 genów wykazywały podobieństwo do genów ludzkich [30]. Dostępność genomu psiego umożliwia stosowanie techniki mikromacierzy do badania ekspresji genów. Stwierdzono, że zachorowalność na nowotwory uzależniona jest od rasy psa, co sugeruje, że genetyczne i biochemiczne badania porównawcze mogłyby pozwolić na ustalenie genetycznych predyspozycji lub zmian w ekspresji onkogennych białek.

Szerokie obserwacje doprowadziły do konkluzji, że niektóre rasy są bardziej podatne na wybrane typy nowotworów. I tak u psów ras brachycefalicznych (bokserów, bulmastifów, buldogów angielskich) występuje częściej niż w innych ras guz z komórek tucznych (*mastocytoma*), u rottweilerów kostniakiemiasak (*osteosarcoma*), u chow chowów czerniak (*melanoma*), szkockich terierów rak pęcherza. Chłoniaki najczęściej występują u golden retrieverów, bokserów, buldogów, dobermanów i bouvier des flandres [53].

Pies jako model do badań nad chłoniakiem nieziarniczym spełnia podstawowe wymagania stawiane zwierzętom modelowym: niewielki rozmiar, wśród osobników tej samej rasy ma ograniczoną zmienność genetyczną i charakteryzuje się stosunkowo krótkim czasem życia. Dodatkowo chłoniaki nieziarnicze oraz białaczki występują u psów spontanicznie – podobnie jak u ludzi [32]. Właściciele chorych na nowotwory zwierząt coraz częściej zgłaszają

się do lekarzy weterynarii i podejmowane są próby terapii, co równocześnie pozwala na obserwację przebiegu choroby i skuteczności leczenia. Wykorzystanie materiału biologicznego uzyskanego od chorych psów w czasie rutynowego postępowania diagnostycznego pozwala na prowadzenie badań nad biologią nowotworów oraz nad rozwojem nowych technik terapeutycznych.

Pies stanowi nie tylko model do badań nad chłoniakiem nieziarniczym u ludzi. Również skórny chłoniak T-komórkowy występujący u psów (*cutaneous T-cell lymphoma* - CTCL) ze względu na budowę morfologiczną i immunofenotyp przypomina ziarniniaka grzybiastego (*mycosis fungoides* - MF) występującego u człowieka [14]. Obserwowane u psów schorzenie cechujące się zmianami skórnymi o charakterze rumieniowatym lub guzowatym związane z infiltracją atypowymi, epidermotropowymi postaciami limfocytów T doskonale odpowiada obrazowi MF u ludzi, również ze względu na przebieg kliniczny choroby oraz odpowiedź na leczenie [26]. Potwierdzono, że region łańcucha β TCR (CB) jest konserwatywny i zachował się bez zmian zarówno u psa jak i człowieka i stwierdzona jest klonalna rearanżacja genu dla TCR w obydwu fenotypach limfocytów T (CD4 i CD8) u obydwu omawianych gatunków. Badania Fivensona i wsp. [14] wykazały homologię wspomnianego genu u człowieka i psa, co pozwala na traktowanie skórnej postaci psiego chłoniaka T-komórkowego jako modelu do badań nad biologią i terapią ziarniniaka grzybiastego (MF) u ludzi.

Podobny obraz kliniczny choroby, a także odpowiedź na terapię pozwala na zastosowanie badań prowadzonych z udziałem psów nie tylko w monitorowaniu skuteczności działania nowych strategii terapeutycznych, ale także pozwala na obserwację i próbę ograniczania działań niepożądanych niektórych leków. Randomizowane badania kliniczne z podwójną ślepą próbą na psach prowadzono np. w badaniach nad zastosowaniem doksorubicyny inkludowanej w liposomach pokrytych glikolem polioksyetylenowym PEG. W czasie terapii preparatem Doxilil obserwowano u psów podobnie jak u ludzi niepożądane reakcje skórne, takie jak: bolesne, złuszczone zapalenie skóry mogące prowadzić do poważnych owrzodzeń czy martwicy skóry [56]. Obserwacja ta pozwoliła na testowanie substancji mających ograniczyć działania niepożądane obserwowane podczas terapii Doxililem na modelu psim [54], a uzyskane wyniki badań mogą być przydatne także w terapii człowieka.

Powszechnie stosowane u psów zabiegi mające na celu ograniczenie lub zniesienie funkcji rozrodczych również pozwalają na prowadzenie ciekawych obserwacji dotyczących wpływu hormonów płciowych na występowanie czy przebieg niektórych grup nowotworów. Powszechnie znana jest zależność między wiekiem, w którym u sukki przeprowadzono zabieg usunięcia macicy (ovariohisterektomii) a ryzykiem wystąpienia nowotworu gruczołu sutkowego [48] czy występowaniem gruczolakoraków u niekastrowanych psów [64]. Stwierdzono też, że zabieg kastracji u psa zmniejsza ryzyko wystąpienia nowotworów gruczołu krokowego [6]. Retrospektywne badania

nad wpływem żeńskich hormonów płciowych na ryzyko występowania chłoniaków u psów pozwoliły na określenie kolejnej wspólnej cechy epidemiologicznej tej jednostki chorobowej u człowieka i psa, polegającej na braku jednoznacznej predyspozycji do występowania tego typu nowotworu u określonej płci [61].

Od czasu udomowienia psy dzieląc z człowiekiem środowisko życia stają się narażone na działanie tych samych co człowiek czynników zewnętrznych [60], takich jak zanieczyszczenie powietrza, dym nikotynowy czy różnego rodzaju środki chemiczne [2]. Ze względu na krótszy czas życia i szybsze tempo zmian zachodzących w organizmie psa możliwe jest prowadzenie obserwacji, które nie są możliwe z udziałem ludzi, ze względu na długi czas niezbędny do wystąpienia ewentualnych objawów chorobowych. Z badań epidemiologicznych niektórych autorów [5] wynika, że życie na obszarach uprzemysłowionych i kontakt z niektórymi związkami chemicznymi może być wiązany z częstotliwością występowania chłoniaka nieziarnicznego zarówno u ludzi jak i u psów. Natomiast różne są dane dotyczące wpływu niektórych herbicydów np.: kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4 diCL) czy pola magnetycznego na częstotliwość występowania chłoniaków [17,23,24,46]. Stwierdzono zwiększone ryzyko zachorowania psów na chłoniaki w gospodarstwach domowych, w których stosowano do pielęgnacji przydomowej zieleni pestycydy i herbicydy. Nie stwierdzono natomiast związku między zapadalnością psów na chłoniaka a profilaktycznym stosowaniem związków czynnych przeciwko pasożytom zewnętrznym u zwierząt [52].

Przykładem badań nad nowymi metodami diagnostycznymi, które mogą się okazać przydatne także w medycynie człowieka są badania nad zastosowaniem specyficznych biomarkerów w chłoniaku nieziarnicznym. Wykorzystanie surowicy w proteomice z zastosowaniem spektrometrii masowej pozwoliło na określenie biomarkerów o potencjalnym zastosowaniu w diagnostyce i monitorowaniu efektów terapii chłoniaków u psów. Ze względu na duże podobieństwo tej choroby u ludzi badania mogą przynieść potencjalne korzyści także w medycynie człowieka [44].

CHARAKTERYSTYKA NOWOTWORÓW UKŁADU HEMATOPOETYCZNEGO U PSÓW

Chłoniaki u psów obejmują heterogenną grupę nowotworów wywodzących się z limfocytów znajdujących się na różnym etapie różnicowania, niezależnie od umiejscowienia pierwotnego procesu nowotworowego. Miejscem powstawania zmian oprócz węzłów chłonnych, śledziony, grasicy, szpiku kostnego czy układu chłonnego błon śluzowych mogą być właściwie wszystkie narządy i struktury organizmu [16]. Według klasyfikacji WHO (2002 r.), dokonanej w oparciu o morfologię, immunofenotyp i towarzyszące zmiany genetyczne wyodrębniono trzy podstawowe grupy nowotworów limfocytarnych: chłoniaki z komórek B, chłoniaki z komórek T i NK oraz ziarnicę złośliwą. Chłoniaki występujące u psów charakteryzują się znacznym podobieństwem do nieziarnicznego chłoniaka (non-Hodgkin's lymphoma - NHL) występującego spontanicznie u ludzi, w zakresie morfologii, genetycznego

podłoża zmian, przebiegu choroby i odpowiedzi na leczenie [3]. Choroba Hodgkina u psów występuje rzadko [35]. U psów 26-38% chłoniaków i 15% u ludzi to rozrosty układu białokrwinkowego wywodzące się z limfocytów T. W przebiegu chłoniaków obserwuje się występowanie hiperkalcemii, przy czym to zaburzenie elektrolitowe obserwuje się u 40% chorych psów i 15 % chorych ludzi.

Obraz kliniczny przebiegu chłoniaków u psów jest zróżnicowany i zależy od typu, stopnia zaawansowania i umiejscowienia. Najczęściej u psów występują chłoniaki o wysokim stopniu złośliwości wywodzące się z komórek B (chłoniaki rozlane z dużych komórek DLBCL - diffuse large B-cell lymphoma) porównywane do chłoniaka nieziarnicznego u ludzi (NHL) [35]. Spośród pozostałych typów możemy wyróżnić chłoniaki obwodowe z komórek T, chłoniak strefy brzeżnej, ziarniniak grzybiasty, chłoniak z komórek płaszczka [51,55].

U psów z postacią wielogniskową, o wysokim stopniu złośliwości wywodzącą się z dużych komórek B najczęściej obserwuje się bezbolesne powiększenie obwodowych węzłów chłonnych z towarzyszącym lub nie powiększeniem wątroby i śledziony (hepatosplenomegalia). Gdy nowotwór tworzy guz w śródpiersiu, mogą się pojawić trudności w oddychaniu czy zespół żyły głównej górnej (superior vena cava syndrome - SVCS). Przy występujących zaburzeniach w gospodarce wapniowej (hiperkalcemii) może się pojawić polidypsja i/lub poliuria.

Ze względu na wyraźne podobieństwo chłoniaków u ludzi i psów stosowana w weterynarii klasyfikacja nowotworów jest podobna do tej stosowanej w medycynie człowieka i bazuje przede wszystkim na ocenie cytologicznej (klasyfikacja Kiela) [15] albo uwzględnia właściwości morfologiczne wraz z obrazem klinicznym (Working Formulation) [41]. Natomiast najnowsza klasyfikacja REAL uwzględnia dodatkowo typ oraz fenotyp komórek uległych rozplemowi nowotworowemu, a także ich właściwości genetyczne i molekularne [42,58]. W tabeli 2 przedstawiono klasyfikację psich chłoniaków i białaczek.

Procedura diagnostyczna chłoniaków u psów obejmuje oprócz wywiadu lekarskiego i pełnego badania klinicznego także badanie cytologiczne lub histologiczne zmienionych węzłów chłonnych oraz wiele badań dodatkowych (badanie biochemiczne i morfologiczne krwi, badania obrazowe, badanie fenotypu pobranych zawiesin komórkowych z zastosowaniem metody cytometrii przepływową). Ze względu na specyficzny charakter rozrostu nowotworowego (rozproszony, rozlany charakter zmian) do postawienia rozpoznania wystarcza zwykle ocena cytopatologiczna rozmazu komórek uzyskanych za pomocą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej. Próba pobrana przez kilkakrotne nakłucie i aspirację ze zmienionego węzła chłonnego jest zwykle reprezentatywna dla całego węzła chłonnego [1]. Dzięki zastosowaniu dodatkowych metod diagnostycznych, takich jak cytometria przepływowa i PCR możliwe jest dodatkowe zwiększenie skuteczności prowadzonych procedur diagnostycznych przez określenie dokładnego fenotypu komórek

nowotworowych czy potwierdzenie rozrostu monoklonalnego [7]. Badanie histopatologiczne wciąż pozostaje jednak niezbędne do określenia typu chłoniaków o niskim stopniu złośliwości, takich jak: chłoniak grudkowy, chłoniak rozlany z dużych komórek B z licznymi komórkami T, chłoniak strefy brzeżnej, chłoniak z komórek płaszczka [51,59].

Prawdopodobnie część nowotworów może być związana z infekcjami wirusowymi typu HTLV lub EBV występującymi u ludzi. Dotychczas nie stwierdzono takiego przypadku

u psów, ale w dwóch psich liniach komórkowych wykryto retrowirusa typu C [20].

Analiza immunocytometryczna preparatów pobranych z węzłów chłonnych chorych psów wykazuje dominującą ekspresję markerów CD79a, CD21 i IgM charakterystycznych dla komórek B. W mniejszym stopniu występują chłoniaki typu T ekspresjonujące antygeny CD3, CD4 i CD8. Stwierdza się również przypadki jednoczesnego występowania komórek B i T [62].

Tabela 2. Klasyfikacja REAL psich chłoniaków i białaczek (na podstawie [58])

Klasyfikacja chłoniaków u psów REAL/WHO	
Nowotwory B-komórkowe	Nowotwory z komórek T i NK
Chłoniak z prekursorowych komórek B	Nowotwory z prekursorowych komórek T
Chłoniak limfoblastyczny/białaczka limfoblastyczna z prekursorowych komórek B	Chłoniak limfoblastyczny/białaczka z prekursorowych komórek T
Chłoniak z obwodowych/dojrzałych komórek B	Nowotwory z dojrzałych (obwodowych) limfocytów T i NK
Przewlekła białaczka limfocytarna/białaczka prolimfocytarna/chłoniak z małych limfocytów	Białaczka prolimfocytarna
Białaczka prolimfocytarna	Białaczka limfocytowa z dużych ziarnistych limfocytów T
Chłoniak limfoplazmocytowy	Agresywna białaczka z komórek NK
Chłoniak z komórek płaszczka	Chłoniak z obwodowych komórek T, bliżej nieokreślony
Chłoniak grudkowy	Białaczka/Chłoniak z komórek T
Pierwotny śledzionowy chłoniak strefy brzeżnej	Jelitowy chłoniak z komórek T, związany z enteropatią
Pozawęzłowy chłoniak strefy brzeżnej systemu MALT	Wątrobowo-śledzionowy chłoniak z komórek T $\gamma\delta$
Węzłowy chłoniak strefy brzeżnej	Chłoniak z komórek T tkanki podskórnej
Chłoniak pierwotny śródpiersia z dużych komórek B	Ziarniniak grzybiasty/ zespół Sezaryego
Białaczka włochatokomórkowa	Chłoniak anaplastyczny z dużych komórek
Plazmocytoza/szpiczak plazmocytarny	
Chłoniak rozlany z dużych komórek B	Chłoniak z komórek T, angioimmunoblastyczny
Chłoniak Burkitta/białaczka Burkitta	Chłoniak angiocentryczny T-komórkowy
Pierwotny chłoniak wysiękowy	
Chłoniak burkitopodobny	

Tymczasowa jednostka: chłoniak B-komórkowy o wysokim stopniu złośliwości

LECZENIE PSICH BIAŁACZEK I CHŁONIAKÓW

Choroby układu limfoidalnego (białaczki, chłoniaki) u psów stanowią około 30% wszystkich chorób nowotworowych. Najczęściej występują chłoniaki niezakrzepnicze typu B analogiczne do ludzkich chłoniaków niezakrzepniczych Hodgkina (NHL), które stanowią około 20% wszystkich psich nowotworów i około 85% nowotworów układu limfoidalnego. Na chłoniaki zapadają psy większości ras w średnim wieku (5-9 lat). Anatomicznie najczęściej występującą postacią jest postać wieloogniskowa (80%). Ponadto występuje postać śródpiersiowa, grasicza, pokarmowa i skórna.

W terapii chłoniaków stosuje się tradycyjne schematy stosowane u ludzi z wykorzystaniem klasycznych leków cytostatycznych (doksorubicyna, winkrystyna, prednizon, etopozyd) podawanych pojedynczo lub w połączeniu [9]. Wadą takiej terapii jest mała swoistość przy znacznych działaniach niepożądanych. Bardziej kompleksowa terapia daje szybsze wyleczenie oraz dłuższy czas przeżycia, jednak taka procedura jest bardziej kosztowna i obciążona większą toksycznością. Z kolei terapia pojedynczymi chemioterapeutykami jest tańsza, ale mniej efektywna. Pomimo początkowej remisji choroby, konwencjonalna chemioterapia powoduje powstawanie oporności i nawrót choroby [13]. Poważnym problemem są koszty finansowe, które musi ponosić właściciel psa. Brak jest jeszcze innych skutecznych i jednocześnie łagodnych i tanich metod leczenia. W tabeli 3 przedstawiono najczęściej stosowane schematy leczenia białaczek i chłoniaków u psów.

Dynamiczny rozwój technik diagnostycznych pozwalający na dokładne wyodrębnienie typów i podtypów chłoniaków u psów wymusza na lekarzach klinicytach zastosowanie zaawansowanych schematów terapeutycznych. Leczenie skojarzone, terapie celowane molekularnie czy te dostosowane do dynamiki przebiegu choroby są obecnie możliwe także w postępowaniu lekarsko-weterynaryjnym. Celem stosowanej obecnie terapii jest nie tylko leczenie paliatywne, ale osiągnięcie długotrwałej remisji nawet u 80-90% pacjentów [34,45,50]. W programach

terapeutycznych stosowanych w terapii psów możemy wyróżnić takie, które mają indukować remisję nowotworu, które służą jej podtrzymaniu oraz schematy ratunkowe. Do najczęściej stosowanych cytostatyków w terapii chłoniaków u psów należą: cyklofosfamid, winkrystyna, doksorubicyna i prednizon wchodzące w skład programów terapeutycznych o akronimach COP i CHOP. Terapia z zastosowaniem wymienionych leków może być dodatkowo uzupełniona przez zastosowanie L-asparaginazy czy cytarabiny, jeżeli w przebiegu choroby doszło także do zajęcia szpiku kostnego [50]. Wiele uwagi poświęca się zjawisku wystąpienia gorszej odpowiedzi na leczenie u pacjentów, u których stosowano glikokortykosteroidy przed rozpoczęciem właściwej chemioterapii, choć zjawisko to nie jest do końca poznane [43]. Dąży się do jak najszybszego postawienia rozpoznania (dzięki zastosowaniu prostych i szybkich technik diagnostycznych) oraz wdrożenia odpowiednio dobranego programu terapeutycznego, bez wcześniejszego stosowania steroidowych leków przeciwpalnych [18].

Niestety, mimo tak prowadzonego leczenia u większości psów udaje się uzyskać remisję na około 6-11 miesięcy [57]. Istotne różnice w skuteczności terapii uzyskuje się w leczeniu chłoniaków o odmiennych fenotypach. Program terapeutyczny CHOP o udowodnionej skuteczności w leczeniu chłoniaków B-komórkowych w leczeniu chłoniaków z komórek T jest właściwie bezużyteczny. W leczeniu chłoniaków wywodzących się z limfocytów T zastosowanie znajdują schematy, takie jak D-MAC (deksametazon, melfalan, aktynomycyna D, arabinozy cytozyny) lub MOPP (mechloretoamina, winkrystyna, prokarbazyna, prednizon) [4,49]. Niestety, również efekty takiego postępowania terapeutycznego są niezadowalające – pozwalają na osiągnięcie remisji na okres 120-239 dni.

W leczeniu chłoniaków u psów zastosowanie znajduje także radioterapia, stosowana głównie celem eliminacji choroby resztkowej (MRD – minimal residual disease) przez napromieniowywanie niskimi dawkami całego ciała zwierzęcia [31]. Radioterapia jest rzadko stosowana u psów w leczeniu chłoniaka ze względu na znaczne

Tabela 3. Przykładowe schematy terapeutyczne stosowane w leczeniu chłoniaków u psów. Opracowano na podstawie [4, 9, 49]

Protokół terapeutyczny	Substancja czynna
COP	cyklofosfamid, winkrystyna, prednizon
CHOP	cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna, prednizon
COAP	cyklofosfamid, winkrystyna, arabinozy cytozyny, prednizon
LMP	chlorambucil, metotreksat, prednizon
D-Mac	deksametazon, aktynomycyna D, arabinozy cytozyny, melfalan
AC	doksorubicyna, cyklofosfamid
MOPP	mechloretoamina, winkrystyna, prednizon, prokarbazyna

Tabela 4. Charakterystyka psich linii komórkowych na podstawie [19, 20, 29, 37, 38, 47, 66]

Psia linia komórkowa	Typ nowotworu	Markery powierzchniowe	Inne markery	Ludzki analog
GL-1	Ostra białaczka B-komórkowa	CD4, CD79, CD45, CD45RA, CD11a		KARPAS 231
CL-1	Chłoniak grasiczy T-komórkowy	CD45, MHCII, abTCR		EL-4 (mysia)
DLC-01	Chłoniak skóry	CD8, CD45, DQ		HUT-78
DLC-02	Białaczka T- LGL	CD3, CD8	C retrowirus	
OSW	Chłoniak T-komórkowy	CD11a, CD18, CD45, CD49d, gTCR	MYC, PTEN, RB1	KARPAS 384
CLBL-1	Chłoniak B-komórkowy	CD11a, CD79, CD45, CD45R, CD21-like, MHCII	BCL-2	KARPAS 422 WEHI231(mysia)
UCDK9B1-5	Chłoniak B-komórkowy	CD1c, CD20, CD18, CD90, CD49d		KARPAS 1106P Ri-1

działania niepożądane oraz uzyskiwanie krótkich czasów przeżycia. Niezbędne są dalsze badania nad zastosowaniem tej metody leczniczej w połączeniu z tradycyjnie stosowaną farmakoterapią [22,61]. W ludzkiej onkologii duży wysiłek jest skierowany na opracowanie celowanych terapii z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych oraz inhibitorów kinaz. W onkologii weterynaryjnej dopuszczono dotychczas do użytku dwa inhibitory kinaz tyrozynowych, do których należą tokeranib (preparat Palladia tabl) i masytinib (preparat Masivet tabl), stosowane u psów w leczeniu nieoperacyjnych guzów nowotworowych skóry wywodzących się z komórek tucznych (*mastocytoma*). Oba leki mają podobny profil działania i hamują aktywność receptorów c-Kit (CD117), PDGFR i VEGFR, przez co wykazują bezpośredni efekt przeciwnowotworowy oraz antyangiogeny. Związkiem strukturalnie podobnym do tokeranibu jest sunitynib, stosowany u ludzi w zaawansowanych stadiach raka nerki i trzustki. Wykazano, że masytinib wzmacnia antyproliferacyjny efekt gemcytabiny w komórkach ludzkiego raka trzustki. Obiecujące wyniki otrzymano w badaniach testowych u psów i kotów z imatynibem (Glivec) w leczeniu mastoma (guz niezłśliwy gruczołu sutkowego typu hamartoma) i mięsaka (*sarcoma*). Masytinib przechodzi obecnie próby w leczeniu u ludzi białaczki mastocytarnej, z kolei rapamycynę próbuje się wprowadzić do terapii kostniakiem mięsaka (*osteosarcoma*) u psów.

LINIE KOMÓRKOWE PSICH BIAŁACZEK I CHŁONIAKÓW

Badania nad psimi nowotworami układu limfatycznego ograniczone są brakiem stabilnych i dobrze scharakteryzowanych linii komórkowych. Dotychczas opisano kilka linii komórkowych psich białaczek i chłoniaków. W tabeli 1 przedstawiono niektóre cechy tych linii. Komórki chłoniaka grasiczego CL-1 otrzymano z płynu wysiękowego [37], natomiast linię GL-1 wyizolowano z krwi obwodowej psa chorującego na ostrą białaczkę B-komórkową [38]. Linię DLC-01 wyprowadzono z węzłów chłonnych psa z chłoniakiem skóry [19], z kolei linię

DLC-02 wyizolowano z krwi obwodowej psa z białaczką T-komórkową LGL [20]. Linia OSW została otrzymana z płynu wysiękowego psa z chłoniakiem T-komórkowym [29]. Linię CLBL-1 otrzymano z węzłów chłonnych psa z rozsianym chłoniakiem B-komórkowym [47]. Ostatnio otrzymano kilka podobnych linii chłoniaka B-komórkowego UCDK9B [66].

Ustalone linie komórkowe powinny stać się użytecznym narzędziem w badaniach nad nowotworzeniem i być pomocne w opracowaniu nowych i skuteczniejszych programów terapeutycznych. Linie komórkowe psich białaczek i chłoniaków nie są obecnie dostępne komercyjnie do badań. W piśmiennictwie dostępna jest charakterystyka 5 linii. Tylko jedna praca opisuje wrażliwość uzyskanej linii komórkowej na działanie deksametazonu. Matsuda i wsp. [36] wykazali, że zahamowanie czynnika transkrypcyjnego NF-κB przywraca ekspresję receptora dla glikokortykoidów i wrażliwość komórek CL-1 oraz GL-1 na działanie deksametazonu. W tabeli 4 zestawiono najważniejsze właściwości uzyskanych psich linii komórkowych oraz podano analogiczne ludzkie lub mysie linie komórkowe dostępne komercyjnie do badań.

Dla niektórych typów ludzkich białaczek i chłoniaków nie ma obecnie dostępnych linii komórkowych do badań *in vitro*. Leki testowane na modelach mysich często okazywały się bardzo toksyczne i mało efektywne dla ludzi. Dlatego uzyskane ostatnio psie linie komórkowe chłoniaków NHL powinny stać się cennym modelem w badaniach. Wyprowadzono kilka linii komórkowych różniących się fenotypem oraz występującymi mutacjami (tabela 4).

Uzyskanie i scharakteryzowanie różnych linii komórkowych oraz zbadanie ich wrażliwości na działanie różnych czynników antyproliferacyjnych powinno pozwolić na utworzenie bazy danych, analogicznej do istniejącej klasyfikacji ludzkich białaczek i chłoniaków, pozwalającej później, na podstawie analizy fenotypowej i badania histopatologicznego, na postawienie szybkiej i trafnej diagnozy oraz na wybór odpowiedniego leczenia.

PODSUMOWANIE

Zastosowanie psa jako modelu do badań nad biologią i terapią chorób nowotworowych ma nieograniczoną liczbę zalet. Model psi pozwala na prowadzenie badań nie tylko nad spontanicznie występującymi nowotworami (np. chłoniak nieziarniczy), ale także pozwala na obserwację występujących z wiekiem, zależnych od czynników środowiskowych czy uwarunkowanych genetycznie wielu chorób. Relatywnie krótki okres życia

pozwała na szybsze uzyskanie wyników niż w czasie obserwacji przebiegu choroby u człowieka. Dzięki rosnącej pozycji psa w społeczeństwie i właściwej opiece weterynaryjnej możliwe stało się prowadzenie badań nie tylko z udziałem zwierząt laboratoryjnych, ale także pacjentów klinicznych. Efektem takich działań jest wzrost poziomu usług świadczonych przez lekarzy weterynarii. Zdobyta podczas obserwacji wiedza może być źródłem cennych informacji przydatnych także w medycynie człowieka.

PISMIENICTWO

- [1] Argyle D.J., Brearley M.J., Turek M.M.: Decision Making in Small Animal Oncology. Wiley-Blackwell, Ames 2008
- [2] Backer L.C., Grindem C.B., Corbett W.T., Cullins L., Hunter J.L.: Pet dogs as sentinels for environmental contamination. *Sci. Total Environ.*, 2001; 274: 161-169
- [3] Breen M., Modiano J.F.: Evolutionarily conserved cytogenetic changes in hematological malignancies of dogs and humans - man and his best friend share more than companionship. *Chromosome Res.*, 2008; 16: 145-154
- [4] Brodsky E.M., Maudlin G.N., Lachowicz J.L., Post G.S.: Asparaginase and MOPP treatment of dogs with lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.*, 2009; 23: 578-584
- [5] Bronden L.B., Flagstad A., Kristensen A.T.: Veterinary cancer registries in companion animal cancer: a review. *Vet. Comp. Oncol.*, 2007; 5: 133-144
- [6] Bryan J.N., Keeler M.R., Henry C.J., Bryan M.E., Hahn A.W., Caldwell C.W.: A population study of neutering status as a risk factor for canine prostate cancer. *Prostate*, 2007; 67: 1174-1181
- [7] Burnett R.C., Vernau W., Modiano J.F., Olver C.S., Moore P.F., Avery A.C.: Diagnosis of canine lymphoid neoplasia using clonal rearrangements of antigen receptor genes. *Vet. Pathol.*, 2003; 40: 32-41
- [8] Chaganti S.R., Mitra J., LoBue J.: Detection of canine homologs of human MYC, BCL2, IGH, and TCRB genes by Southern blot analysis. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1992; 62: 9-14
- [9] Chun R.: Lymphoma: which chemotherapy protocol and why? *Top. Companion Anim. Med.*, 2009; 24: 157-162
- [10] Clark D.L., Andrews P.A., Smith D.D., DeGeorge J.J., Justice R.L., Beitz J.G.: Predictive value of preclinical toxicology studies for platinum anticancer drugs. *Clin. Cancer Res.* May, 1999; 5: 1161
- [11] de Mello Souza C.H., Valli V.E., Selting K.A., Kiupel M., Kitchell B.E.: Immunohistochemical detection of retinoid receptors in tumors from 30 dogs diagnosed with cutaneous lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.*, 2010; 24: 1112-1117
- [12] Dorn C.R., Taylor D.O., Schneider R.: The epidemiology of canine leukemia and lymphoma. *Bibl. Haematol.*, 1970; 36: 403-415
- [13] Ettinger S.N.: Principles of treatment for canine lymphoma. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.*, 2003; 18: 92-97
- [14] Fivenson D.P., Ghassan M.S., Beck E.R., Dunstan R.W., Moore P.F.: T-cell receptor gene rearrangement in canine mycosis fungoides: further support for a canine model of cutaneous T-cell lymphoma. *J. Invest. Dermatol.*, 1994; 102: 227-230
- [15] Fournel-Fleury C., Magnol J.P., Bricaire P., Marchal T., Chabanne L., Delverdier A., Bryon P.A., Felman P.: Cytohistological and immunological classification of canine malignant lymphomas: comparison with human non-Hodgkin's lymphomas. *J. Comp. Pathol.*, 1997; 117: 35-59
- [16] Gauthier M.J., Aubert I., Abrams-Ogg A., Woods J.P., Bienle D.: The immunophenotype of peripheral blood lymphocytes in clinically healthy dogs and dogs with lymphoma in remission. *J. Vet. Intern. Med.*, 2005; 19: 193-199
- [17] Gavazza A., Presciuttini S., Barale R., Lubas G., Gugliucci B.: Association between canine malignant lymphoma, living in industrial areas, and use of chemicals by dog owners. *J. Vet. Intern. Med.*, 2001; 15: 190-195
- [18] Gavazza A., Sacchini F., Lubas G., Gugliucci B., Valori E.: Clinical, laboratory, diagnostic and prognostic aspects of canine lymphoma: a retrospective study. *Comp. Clin. Pathol.*, 2009; 18: 291-299
- [19] Ghernati I., Auger C., Chabanne L., Corbin A., Bonnefont C., Magnol J.P., Fournel C., Rivoire A., Monier J.C., Rigal D.: Characterization of a canine long-term T cell line (DLC 01) established from a dog with Sézary syndrome and producing retroviral particles. *Leukemia*, 1999; 13: 1281-1290
- [20] Ghernati I., Corbin A., Chabanne L., Auger C., Magnol J.P., Fournel C., Monier J.C., Darlix J.L., Rigal D.: Canine large granular lymphocyte leukemia and its derived cell line produce infectious retroviral particles. *Vet. Pathol.*, 2000; 37: 310-317
- [21] Gordon I., Paoloni M., Mazcko C., Khanna C.: The Comparative Oncology Trials Consortium: using spontaneously occurring cancers in dogs to inform the cancer drug development pathway. *PLoS Med.*, 2009; 6: e1000161
- [22] Gustafson N.R., Lana S.E., Mayer M.N., LaRue S.M.: A preliminary assessment of whole-body radiotherapy interposed within a chemotherapy protocol for canine lymphoma. *Vet. Comp. Oncol.*, 2004; 2: 125-131
- [23] Hayes H.M., Tarone R.E., Cantor K.P.: On the association between canine malignant lymphoma and opportunity for exposure to 2,4 dichlorophenoxyacetic acid. *Environ. Res.*, 1995; 70: 119-125
- [24] Kaneene J.B., Miller R.: Re-analysis of 2,4-D use and the occurrence of canine malignant lymphoma. *Vet. Hum. Toxicol.*, 1999; 41: 164-170
- [25] Kaye F.J., Bunn P.A.Jr., Steinberg S.M., Stocker J.L., Ihde D.C., Fuschmann A.B., Glatstein E.J., Schechter G.P., Phelps R.M., Foss F.M., Parlette H.L., Anderson M.J., Sausville E.A.: A randomized trial comparing combination electron-beam radiation and chemotherapy with topical therapy in the initial treatment of mycosis fungoides. *N. Engl. J. Med.*, 1989; 321: 1784-1790
- [26] Kessler M.: Kleintieronkologie - Diagnose und Therapie von Tumorerkrankungen bei Hunden und Katzen, 2nd edition. Parey, Blackwell Wissenschaft, 2005, p. 477-486
- [27] Khanna C., Lindblad-Toh K., Vail D., London C., Bergman P., Barber L., Breen M., Kitchell B., McNeil E., Modiano J.F., Niemi S., Comstock K.E., Ostrander E., Westmoreland S., Withrow S.: The dog as a cancer model. *Nat. Biotechnol.*, 2006; 24: 1065-1066
- [28] Khanna C., London C., Vail D., Mazcko C., Hirschfeld S.: Guiding the optimal translation of new cancer treatments from canine to human cancer patients. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 5671-5677

- [29] Kisseberth W.C., Nadella M.V., Breen M., Thomas R., Duke S.E., Murahari S., Kosarek C.E., Vernau W., Avery A.C., Burkhard M.J., Rosol T.J.: A novel canine lymphoma cell line: a translational and comparative model for lymphoma research. *Leuk. Res.*, 2007; 31: 1709-1720
- [30] Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mikkelsen T.S., Karlsson E.K., Jaffe D.B., Kamal M., Clamp M., Chang J.L., Kulbokas E.J.3rd, Zody M.C., Mauceli E., Xie X., Breen M., Wayne R.K., Ostrander E.A. i wsp.: Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, 2005; 438: 803-819
- [31] Lurie D.M., Gordon I.K., Théon A.P., Rodriguez C.O., Suter S.E., Kent M.S.: Sequential low-dose rate half-body irradiation and chemotherapy for the treatment of canine multicentric lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.*, 2009; 23: 1064-1070
- [32] Macor P., Secco E., Zorzet S., Tripodo C., Celeghini C., Tedesco F.: An update on the xenograft and mouse models suitable for investigating new therapeutic compounds for the treatment of B-cell malignancies. *Curr. Pharm. Des.*, 2008; 14: 2023-2039
- [33] Marconato L.: The staging and treatment of multicentric high-grade lymphoma in dogs: a review of recent developments and future prospects. *Vet. J.*, 2011; 188: 34-38
- [34] Marconato L., Bonfanti U., Stefanello D., Lorenzo M.R., Romanelli G., Comazzi S., Zini E.: Cytosine arabinoside in addition to VCAA-based protocols for the treatment of canine lymphoma with bone marrow involvement: does it make the difference? *Vet. Comp. Oncol.* 2008; 6: 80-89
- [35] Marconato L., Gelain M.E., Comazzi S.: The dog as a possible animal model for human non-Hodgkin lymphoma: a review. *Hematol. Oncol.*, 2013; 31: 1-9
- [36] Matsuda A., Tanaka A., Muto S., Ohmori K., Furusaka T., Jung K., Karasawa K., Okamoto N., Oida K., Itai A., Matsuda H.: A novel NF- κ B inhibitor improves glucocorticoid sensitivity of canine neoplastic lymphoid cells by up-regulating expression of glucocorticoid receptors. *Res. Vet. Sci.*, 2010; 89: 378-382
- [37] Momoi Y., Okai Y., Watari T., Goitsuka R., Tsujimoto H., Hasegawa A.: Establishment and characterization of a canine T-lymphoblastoid cell line derived from malignant lymphoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1997; 59: 11-20
- [38] Nakaichi M., Taura Y., Kanki M., Mamba K., Momoi Y., Tsujimoto H., Nakama S.: Establishment and characterization of a new canine B-cell leukemia cell line. *J. Vet. Med. Sci.*, 1996; 58: 469-471
- [39] Ogilvie G.K., Moore A.S.: Managing the veterinary cancer patient: a practical manual. *VLS Book*, 1995: 228-249
- [40] Paoloni M.C., Khanna C.: Comparative oncology today. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 2007; 37: 1023-1032
- [41] Parodi A.L.: Classification of malignant lymphoma in domestic animals: history and conceptual evolution. *Eur. J. Vet. Pathol.*, 2001; 7: 43-50
- [42] Ponce F., Marchal T., Magnol J.P., Turinelli V., Ledieu D., Bonnefont C., Pastor M., Delignette M.L., Fournel-Fleury C.: A morphological study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between canine and human lymphoma morphology. *Vet. Pathol.*, 2010; 47: 414-433
- [43] Price G.S., Page R.L., Fischer B.M., Levine J.F., Gerig T.M.: Efficacy and toxicity of doxorubicin/cyclophosphamide maintenance therapy in dogs with multicentric lymphosarcoma. *J. Vet. Intern. Med.*, 1991; 5: 259-262
- [44] Ratcliffe L., Mian S., Slater K., King H., Napolitano M., Aucoin D., Mobasher A.: Proteomic identification and profiling of canine lymphoma patients. *Vet. Comp. Oncol.*, 2009; 7: 92-105
- [45] Rebhun R.B., Kent M.S., Borroffka S.A., Frazier S., Skorupski K., Rodriguez C.O.: CHOP chemotherapy for the treatment of canine multicentric T-cell lymphoma. *Vet. Comp. Oncol.*, 2011; 9: 38-44
- [46] Reif J.S., Lower K.S., Ogilvie G.K.: Residential exposure to magnetic fields and risk of canine lymphoma. *Am. J. Epidemiol.*, 1995; 141: 352-359
- [47] Rütgen B.C., Hammer S.E., Gerner W., Christian M., de Arespachaga A.G., Willmann M., Kleiter M., Schwendenwein I., Saalmüller A.: Establishment and characterization of a novel canine B-cell line derived from a spontaneously occurring diffuse large cell lymphoma. *Leuk. Res.*, 2010; 34: 932-938
- [48] Schneider R., Dorn C.R., Taylor D.O.: Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1969; 43: 1249-1261
- [49] Siedlecki C.T., Kass P.H., Jakubiak M.J., Dank G., Lyons J., Kent M.S.: Evaluation of an actinomycin-D-containing combination chemotherapy protocol with extended maintenance therapy for canine lymphoma. *Can. Vet. J.*, 2006; 47: 52-59
- [50] Simon D., Nolte I., Eberle N., Abbrederis N., Killich M., Hirschberger J.: Treatment of dogs with lymphoma using a 12-week, maintenance-free combination chemotherapy protocol. *J. Vet. Intern. Med.*, 2006; 20: 948-954
- [51] Stefanello D., Valenti P., Zini E., Comazzi S., Gelain M.E., Rocca-bianca P., Avallone G., Caniatti M., Marconato L.: Splenic marginal zone lymphoma in 5 dogs (2001-2008). *J. Vet. Intern. Med.*, 2011; 25: 90-93
- [52] Takashima-Uebelhoer B.B., Barber L.G., Zagarins S.E., Procter-Gray E., Gollenberg A.L., Moore A.S., Bertone-Johnson E.R.: Household chemical exposures and the risk of canine malignant lymphoma, a model for human non-Hodgkin's lymphoma. *Environ. Res.*, 2012; 112: 171-176
- [53] Teske E.: Canine malignant lymphoma: a review and comparison with human non-Hodgkin's lymphoma. *Vet. Q.*, 1994; 16: 209-219
- [54] Vail D.M., Chun R., Thamm D.H., Garrett L.D., Cooley A.J., Obradovich J.E.: Efficacy of pyridoxine to ameliorate the cutaneous toxicity associated with doxorubicin containing pegylated (Stealth) liposomes: a randomized, double-blind clinical trial using a canine model. *Clin. Cancer Res.*, 1998; 4: 1567-1571
- [55] Vail D.M., Kravis L.D., Cooley A.J., Chun R., MacEwen E.G.: Pre-clinical trial of doxorubicin entrapped in sterically stabilized liposomes in dogs with spontaneously arising malignant tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1997; 39: 410-416
- [56] Vail D.M., MacEwen E.G.: Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. *Cancer Invest.*, 2000; 18: 781-792
- [57] Vail D.M., Young K.M.: Canine lymphoma and lymphoid leukemia. In Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. (4th edn), Withrow SJ, Vail DM (eds.), WB Saunders: St. Louis, 2007; 699-712
- [58] Valli V.E., Jacobs R.M., Parodi A.L., Vernau W., Moore P.F.: Histological Classification of Haematopoietic Tumors of Domestic Animals, Washington, DC, 2002
- [59] Valli V.E., Vernau W., de Lorimier L.P., Graham P.S., Moore P.F.: Canine indolent nodular lymphoma. *Vet. Pathol.*, 2006; 43: 241-256
- [60] van der Schalie W.H., Gardner H.S.Jr., Bantle J.A., De Rosa C.T., Finch R.A., Reif J.S., Reuter R.H., Backer L.C., Burger J., Folmar L.C., Stokes W.S.: Animals as sentinels of human health hazards of environmental chemicals. *Environ. Health Perspect.*, 1999; 107: 309-315
- [61] Villamil J.A., Henry C.J., Hahn A.W., Bryan J.N., Tyler J.W., Caldwell C.W.: Hormonal and sex impact on the epidemiology of canine lymphoma. *J. Cancer Epidemiol.*, 2009; 2009: 591753
- [62] Wilkerson M.J., Dolce K., Koopman T., Shuman W., Chun R., Garrett L., Barber L., Avery A.: Lineage differentiation of canine lymphoma/leukemias and aberrant expression of CD molecules. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005; 106: 179-196

[63] Williams L.E., Johnson J.L., Hauck M.L., Ruslander D.M., Price G.S., Thrall D.E.: Chemotherapy followed by half-body radiation therapy for canine lymphoma. *J. Vet. Intern. Med.*, 2004; 18: 703-709

[64] Wilson G.P., Hayes H.M. Jr.: Castration for treatment of perianal gland neoplasms in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979; 174: 1301-1303

[65] Zahm S.H., Blair A.: Pesticides and non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res.*, 1992; 52 (Suppl. 19): 5485s-5488s

[66] Zwingenberger A.L., Vernau W., Shi C., Yan W., Chen X., Gordon I.K., Kent M.S.: Development and characterization of 5 canine B-cell lymphoma cell lines. *Leuk. Res.*, 2012; 36: 601-606

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.