

Review articles

Diagnostic features of canine lymphoma (a review)

R. S. Shevchik, H. V. Samoyluk

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 26 March 2020

Revised: 09 April 2020

Accepted: 13 May 2020

Dnipro State Agrarian and Economic
University, S. Efremov Str. 25, 49600, Dnipro,
Ukraine

Tel.: +38-096-767-02-39

E-mail: rimmasvytoslavna@gmail.com

Cite this article: Shevchik, R.S., & Samoyluk, H.V. (2020). Diagnostic features of canine lymphoma (a review). *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(2), 86–95. doi: 10.32819/2020.82012

Abstract. Canine lymphoma is a large and complex field of oncohematology. The updated classification system of the World Health Organization (WHO), which is based on clinical, topographic, cytomorphological, immunophenotypic, genetic, and molecular characteristics of neoplastic cells, is recognized as the basic systematization of canine lymphoma. The variety of forms, subtypes of canine lymphoma, the systemic nature of the disease and the increase in cases of their detection, determine the importance and relevance in veterinary oncology of a comprehensive study of this disease. The main vector in the disease control and proper patient management is the timely and accurate diagnosis. The diagnostic scheme for lymphoma includes a medical history and physical examination, hematology, biochemical blood analysis, and urine tests, diagnostic imaging of the chest and abdominal cavities, pathomorphological studies, and cell immunophenotyping. However, the basis for the final diagnosis is cytological and histological methods with cell immunophenotyping. The differentiation clusters of B- and T-cells of canine lymphomas are slightly different from those used for human lymphoma immunophenotyping. High-grade canine lymphomas from mature lymphocytes are detected in 86% of cases, with multicentric large B-cell lymphoma being recognized as the most common in the world. The use of modern, high-tech diagnostic methods (ultrasonography, tomography, cytology, molecular genetic) by foreign veterinary oncologists not only promotes a quick and accurate diagnosis but allows scientists to make important discoveries. Consideration of paraneoplastic syndromes may promote earlier detection of dogs' lymphomas. Significance of prognostic factors and understanding of the pathogenesis of lymphoma were evaluated for the veterinarian to make the right clinical decisions, make a long-term prognosis and select appropriate therapy. The difficulty of making an accurate diagnosis of lymphoma is associated with many diagnostic procedures and various factors affecting them, which ultimately requires the formation of a clear diagnostic algorithm.

Keywords: veterinary oncology; histopathomorphology; cytopathology; prognostic factors.

Особливості діагностики лімфоми собак (огляд)

Р. С. Шевчик, Г. В. Самойлюк

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Анотація. Лімфоми собак входять до великої і складної сфери онкогематології. Основною у систематизації лімфом собак визнана оновлена система класифікації Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), в основу якої покладені клінічні, топографічні, цитоморфологічні, імунофенотипові, генетичні і молекулярні характеристики неопластичних клітин. Різноманіття форм, підтипів лімфом собак, системності захворювання та збільшення випадків їх виявлення зумовлює важливість та актуальність у ветеринарній онкології всебічного вивчення цієї хвороби. Головний вектор у контролі захворювання і належного ведення хворого – це своєчасна постановка точного діагнозу. Схема діагностики лімфоми включає: урахування історії хвороби та фізикальне обстеження, гематологію і біохімічне дослідження крові і сечі, діагностичну візуалізацію грудної і черевної порожнини, патоморфологічні дослідження та імунофенотипування клітин. Втім, базовими для остаточного діагнозу залишаються цитологічні і гістологічні методи з фенотипізацією клітин. Кластери диференціювання В- і Т-клітин лімфом собак дещо відрізняються від застосованих для імунофенотипування лімфом людини. Високозлоякісні лімфоми собак із зрілих лімфоцитів реєструються у 86% випадків, при цьому мультицентрична В-великоклітинна лімфома визнана найбільш поширеною у світі. Застосування закордонними ветеринарними онкологами сучасних високотехнологічних методів діагностики (ультрасонографічних, томографічних, цитологічних, молекулярно-генетичних) не тільки сприяє швидкому і точному діагнозу, а й дозволяє науковцям робити важливі відкриття. Врахування паранеопластичних синдромів може сприяти більш ранньому виявленню лімфом у собак. Оцінено значимість прогностичних факторів і розуміння патогенезу лімфоми для прийняття ветеринарним лікарем правильних клінічних рішень, складання довгострокового прогнозу і підбору відповідної терапії. Складність постановки точного діагнозу лімфоми пов'язана з багатьма діагностичними процедурами і різними факторами впливу на них, що в підсумку потребує формування чіткого алгоритму діагностики.

Ключові слова: ветеринарна онкологія; патогістоморфологічні методи; патоцитологія; прогностичні фактори.

Вступ

Зважаючи на наявність понад 30 підтипів лімфом у собак, різноманіття їх анатомічних форм, системності захворювання, правильна діагностика і, відповідно, точний прогноз та підбір найбільш підходящої терапії, обґрунтованої для конкретної форми лімфоми, залишається важливим і актуальним питанням у ветеринарній онкології. Проблема виявлення лімфом у собак пов'язана не тільки з труднощами ранньої діагностики, а й із вибором та порядком застосування всіх потрібних діагностичних процедур. Тому огляд досягнень і можливостей сучасної світової науки, ветеринарної практики необхідний для розуміння особливостей патогенезу і розроблення алгоритму діагностики лімфоми собак.

Загальні відомості

За повідомленнями багатьох дослідників, лімфома – це одна з найбільш часто діагностованих злоякісних пухлин собак (Ettinger, 2003; Marconato et al., 2012; Sato et al., 2016; Marconato et al., 2019a). Лімфома належить до гемобластозів і характеризується злоякісною проліферацією кровотворних клітин з утворенням пухлин у лімфоїдній і ретикулоендотеліальній тканинах. Залежно від місця виникнення онкогенної трансформації клітин лімфопроліферативні захворювання поділяють на лейкози (злоякісні пухлини з первинним ураженням кісткового мозку) та лімфоми, що мають первинну локалізацію поза кістковим мозком, що саме і відрізняє їх від лейкозів. Проте в результаті прогресування захворювання лейкози і лімфома можуть трансформуватись одне в одного (Raskin & Krehbiel, 1989; Reddy & Thompson-Arildsen, 2010; Krause et al., 2013).

Pinello et al. (2019) вважають, що лімфома – це одна з п'яти основних причин смерті собак від раку. В минулому столітті вчені різних країн світу визначали частоту гемобластозів собак у кількості 6–24 випадки на 100 000 обстежених та 8–8,5% від загальної кількості новоутворень у собак. При цьому в структурі гемобластозів переважали лімфоми: 69,8–89,7% (Chekhun & Mazurkevych, 2001). В останні десятиріччя лімфому діагностують у 13–114 випадків на 100 000 популяцію (Zandvliet, 2016; Pinello et al., 2019), у 28% від усіх онкологічних хвороб собак (Savrasov et al., 2016) і 90% у складі всіх кровотворних неоплазій (Seelig et al., 2016). Фахівці припускають, що збільшення захворюваності собак на лімфому останнім часом пов'язане з екологічними факторами (Zandvliet, 2016). Відмічено також генетична, вікову і статеву схильність до лімфом у собак деяких великих порід: басет-хаунд, боксер, бульдог, бульмастиф, коккер-спаніель, доберман, німецька вівчарка, золотистий ретривер, ірландський вовкодав, лабрадор-ретривер, ротвейлер, шотландський тер'єр, переважно середнього і старшого віку (Teske, 1994; Edwards et al., 2003) та більш низький ризик виникнення лімфом у самок (Villamil et al., 2009; Coelho et al., 2019). Так само у своїх недавніх дослідженнях Comazzi et al. (2018) повідомляють, що найчастіше реєстрували лімфоми у доберманів, ротвейлерів, боксерів і бернських гірських собак.

Таблиця 3. Класифікація лімфом Kiel (Jaffe et al., 1992)

Ступінь злоякісності	Лімфома
Низький	Лімфоцитарні (В-клітинна хронічна лейкемія, Т-клітинна хронічна лейкемія, грибоподібний мікоз, синдром Сезарі); Лімфоплазмоцитарні (LP-імуноцитом); Плазмоцитарні (плазмоцитом); Центробластна / центроцитарна фолікулярна / дифузна
Високий	Центробластна (проста, поліморфна, центроцитарна); Лімфобластна (В-клітинна, Т-клітинна, типу Беркітта, тип звивистих клітин); Імунобластна; Некласифіковані високозлоякісні

Таблиця 1. Анатомічні форми лімфом (Vail et al., 2013)

№ з/п	Форми лімфоми
1	Мультицентрична – генералізоване ураження лімфатичних вузлів
2	Аліментарна – ураження травного тракту
3	Медіастинальна – ураження лімфовузлів середостіння
4	Шкірна – первинна, вторинна асоційована з ураженням інших органів
5	Екстранодальна – ураження окремих органів і тканин (ниркова, очна і т. п.)

Таблиця 2. Клінічна стадійна класифікація лімфом у відповідності із системою ВООЗ (Zandvliet, 2016)

Стадія	Характер ураження
I	Один вузол або лімфоїдна тканина в одному органі (виключаючи кістковий мозок)
II	Регіональне ураження множинних лімфатичних вузлів (два і більше) ± мигдалини
III	Генералізоване ураження лімфовузлів
IV	Стадія I–III з ураженням печінки і / або селезінки
V	Стадія I–IV із залученням крові або кісткового мозку і / або інших систем органів
Підстадія	
a	Відсутність системних ознак
b	Наявність системних ознак (лихоманка, втрата ваги, гіперкальціємія)

Окрім генетичної схильності певних порід собак до лімфом, вчені припускають можливість вірусного походження захворювання за аналогією лімфом у котятих, які мають видоспецифічний вірус лейкемії (Tkachenko et al., 2019) та вірус гамма-герпесу (Епштейн-Барр) у людей, який був виявлений в частині випадків лімфом (Münz, 2018).

Класифікація лімфом базується на критеріях анатомічної локалізації уражень, а також морфологічних та імунофенотипових (Т- і В-лімфоцити) характеристиках захворювання.

Через значний збіг лімфоми людини із відповідним захворюванням собак (Vail & MacEwen, 2000) систематизацію лімфом собак пов'язали з медичними класифікаціями, з яких найбільш визнаними стали: анатомічна із клінічною стадійною системою Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), гістопатологічні класифікації – Національного інституту раку США (National Cancer Institute-Veterans Administration (NCI-VA) і модифікована класифікація за Kiel (Moris & Dobson, 2001). Анатомічна (табл. 1) та клінічна стадійна (табл. 2) класифікації засновані на ступені розповсюдженості пухлинного процесу.

Таблиця 4. Класифікація лімфом NCI-VA (Teske et al., 1994)

Ступінь злоякісності	Лімфома
Низький	Лімфома із малих лімфоцитів; Фолікулярна лімфома переважно з малих клітин з розщепленими ядрами; Фолікулярна лімфома змішана: з дрібних клітин з розщепленими ядрами і великих клітин
Середній	Фолікулярна лімфома переважно з великих лімфоцитів; Дифузна лімфома із дрібних лімфоцитів з розщепленими ядрами; Дифузна лімфома змішана: з дрібних клітин з розщепленими ядрами і великих лімфоцитів; Дифузна лімфома із великих лімфоцитів
Високий	Імунобластна із великих лімфоцитів; Лімфобластна із великих лімфоцитів із складчастим і нескладчастим ядром; Лімфома Беркітта; Лімфома із дрібних клітин із нерозщепленими ядрами

Анатомічна класифікація лімфоми проводиться відповідно до первинно ураженого органа (органів). Мультицентрична лімфома собак, за повідомленнями дослідників, визнана найбільш поширеною, з частотою виявлення 71,4% (Coelho et al., 2019), 87% (Neuwald et al., 2014).

Анатомічна класифікація і клінічні стадії дозволяють визначити ступінь розповсюдження пухлинного процесу, без чого лікування раку не має сенсу.

За характером росту, фенотипом клітин, інтенсивністю їх поділу в класифікаціях Kiel та NCI-VA (табл. 3, 4) визначається ступінь злоякісності лімфоми.

Разом з тим, класифікація Kiel враховує одночасність виявлення при лімфомах властивостей лейкемії (Lennert & Feller, 1992).

Класифікація ВООЗ у 1999 році, з урахуванням попередніх класифікацій, першочерговим значенням для лімфом устала характеристики клітин та ступінь злоякісності пухлин. Відсутність Ходжкінських лімфом у ветеринарній онкології, неоднорідність природи підтипів лімфом зумовили об'єднання систем та адаптацію класифікації ВООЗ для собак (Škor, 2019). Наразі оновлена система ВООЗ бачиться комплексною і всебітньо визнаною, вона враховує клінічні, топографічні, цитоморфологічні, імунофенотипові, генетичні і молекулярні особливості підтипів лімфоми собак (Seelig et al., 2016). Корисність, високу відтворюваність і доказовість оновленої класифікації ВООЗ у ветеринарній онкології підтверджують досвідчені патологи (Valli et al., 2011; Sayag et al., 2017).

Діагностика

Важливість своєчасного і точного діагнозу лімфоми відповідно до класифікації ВООЗ – безумовна позиція належного ведення пацієнта. Оптимальна схема клінічного стадіювання лімфоми собак досягає декількох важливих цілей в лікуванні раку: підбір найбільш ефективної терапії, встановлення точного прогнозу і можливість правильної оцінки стану пацієнта в кінці терапії шляхом порівняння з початковою стадією пухлини (Škor, 2019).

У схему визначення клінічної стадії лімфоми собак фахівці включають: ретельне врахування історії хвороби та клінічне обстеження; відповідну діагностичну візуалізацію грудної і черевної порожнин; гематологічне і біохімічне дослідження крові, аспірацію печінки і селезінки та аспірацію кісткового мозку і / або біопсію (Aresu et al., 2013; Desmas et al., 2016). Як зазначають Regan et al. (2012), за опитуванням ветеринарів-практиків, частота використаних діагностичних критеріїв лімфоми собак мала такий розподіл: загальний і біохімічний аналіз крові (100%), аналіз сечі (85%), цитологія лімфатичних

вузлів (88%), рентгенографія грудної клітки (84%), імунофенотипування (76%) та ультразвукове дослідження черевної порожнини (75%).

Симптоми захворювання залежать від клінічної форми лімфоми і можуть проявлятися генералізованою лімфаденопатією у разі мультицентричної лімфоми, неспецифічними клінічними ознаками: анорексія, зниження маси тіла, висока температура тіла (39,2 °C), блювота, диспепсія, поліурія, полідипсія, лихоманка, коагулопатія, неврологічний дефіцит і розвиток вторинних інфекцій. При цьому характерними ознаками для лімфатичних вузлів постають твердість, рухливість і безболісність при пальпації (Neuwald et al., 2014; Mansoor et al., 2018). Медіастинальна лімфома характеризується збільшенням лімфовузлів середостіння або тимуса, супроводжується задихом, набряком голови і шиї, непереносимістю фізичних навантажень, регургітацією і блювотою на фоні вторинного здавлення стравоходу збільшеними лімфовузлами (Zandvliet, 2016). Блювоту, диспепсію, прогресуючу втрату маси тіла, вторинний перитоніт на фоні кишкової непрохідності або перфорацією ураженого органа виявляють при аліментарній формі (Maeda et al., 2017; Stranahan et al., 2019). При шкірній лімфомі ураження шкіри мінливі за зовнішнім виглядом і супроводжуються прогресуючою алопецією, гіпопігментацією, утворенням бляшок, вузликів, десквамацією, еритемою, ураженням шкірно-слизових ділянок (Fontaine et al., 2010; Affolter et al., 2020). Симптоматика екстранодальних форм залежить від уражених органів. Лімфома органів зору проявляється фотофобією, блефароспазмом, епіфором, гіфеомою, увеїтом, відшаруванням сітківки (Holm et al., 2018; Mikkelsen et al., 2018; Lanza et al., 2017). Описано лімфоми матки (Novotný et al., 2017), нирок (McAloney et al., 2018), печінки (Akiyoshi et al., 2019), м'язів (Thuilliez et al., 2008), переміхурової залози (Di Donato et al., 2018), внутрішньосудинна лімфома в надниркових залозах собаки (Buckley et al., 2017), хребця з прогресуючим парапарезом і анорексією (Vascellari et al., 2007). Первинне і вторинне ураження нервової системи у 4% і 5–12% випадків лімфом собак відповідно розвивалось за парезами, паралічами, кульгавістю (Siso et al., 2016), церебральна внутрішньосудинна лімфома собак – з депресією, судомами, неврологічним дефіцитом (Degl'Innocenti et al., 2018).

Паранеопластичні синдроми – ознаки і симптоми, що розвиваються до або під час пухлинного процесу, важливі для раннього виявлення захворювання та вибору адекватної терапії. Наявність гіперкальціємії у собак зареєстрована в 40 % випадків лімфоми (Brodsky et al., 2009). Вона впливає на травну, нейром'язову, серцево-судинну системи, нирки і може спричинити ниркову недостатність викликану зниженням клубочкової фільтрації і розвиток таких неспецифічних симптомів як: блювота, гіпостенурія, дегідратація, полідипсія, поліурія, анорек-

сія, запори, брадикардія, панкреатит, пептичні виразки, пригніченість, сонливість, м'язова слабкість, серцева аритмія і кома (Ogilvie et al., 1998; Mangieri, 2016).

Лімфома негативно впливає на гемопоетичну систему і, як наслідок, викликає анемію, тромбоцитопенію, лімфоцитоз, нейтрофілію, лейкоцитоз, лейкопенію, при чому перші два симптоми пов'язані з погіршенням прогнозу (Abbo & Luscoy, 2007; Bergman, 2013). У своїх повідомленнях Neuwald et al. (2014) зазначають, що при мультицентричній лімфомі у собак часто зустрічалась анемія (57%) і лейкоцитоз (40%), тромбоцитопенія (33%), лімфопенія (30%), гіперглобулінемія (20%) і гіперкальціємія (13%).

Іноді спостерігається гамапатія, залежно від класу імунoglobulinу, рівень якого підвищується, в результаті може збільшуватись в'язкість крові, що проявляється геморагічним діатезом, неврологічними симптомами у зв'язку з поганим кровопостачанням головного мозку, тромбоемболією (Cárua et al., 2011).

Крім того, може виникнути гіпоглікемія, яка супроводжується слабкістю, дезорієнтацією, тремором м'язів, тахікардією, парезами, судомами.

Методи діагностичної візуалізації лімфом собак мають велике значення як на початку ведення пацієнта, так і під час лікування. Використання доплерографії і соноеластографії для виявлення злоякісних новоутворень лімфатичних вузлів у собак показало точність у 77,7–80,2% випадків (Belotta et al., 2019). Результативне застосування в діагностиці злоякісних новоутворень собак ультразвукового дослідження підтверджується Numan et al. (2006), які зазначають, що у поверхневих лімфатичних вузлах різна ехогенність відповідала неоднорідності тканини, акустичне посилення – наявності ділянок інтранодального некрозу. Вважають, що значне збільшення розмірів лімфатичних вузлів, їх округлості, Solbiati-індексу (SI), співвідношення між короткою віссю і довжиною лімфатичного вузла (S/L) та гіпоехогенні зміни в лімфатичних вузлах у собак із злоякісною лімфомою стають показовими параметрами злоякісності. Дослідники подають ультрасонографічні характеристики ниркової лімфони собак, критерії диференціювання пухлинних і непухлинних уражень (Taylor et al., 2014; McAloney et al., 2018; Tanaka et al., 2019). Останнім часом у медичній і ветеринарній онкології дискутується можливість заміни біопсії сучасними методами діагностичної візуалізації: ультразвукове дослідження з контрастним підсиленням; комп'ютерна томографія; позитронно-емісійна томографія; магнітнорезонансна томографія (Škor, 2019).

Гематологічні і біохімічні методи діагностики. Гематологічні дослідження спрямовані на виявлення анемії, тромбоцитопенії, нейтропенії, лейкоцитозу, лімфоцитозу, наявності монорфної популяції атипичних клітин у периферичній крові. Riondato et al. (2017) рекомендують автоматизований лазерний гематологічний аналізатор ADVIA120 як швидкий попередній тест для виявлення інфільтрації периферичної крові пухлинними клітинами і диференціювання лейкоцитів, а для визначення кількісної інфільтрації – метод проточної цитометрії. Parachini-Winter et al. (2019) вважають, що анемія в поєднанні з морфологічними аномаліями (особливо наявність ексцентроцитів) ≥ 3 RBC у мазках крові збільшують клінічну підозру на лімфому собак. Периферичний лімфоцитоз поєднувався з генералізованою лімфаденопатією у собак з лімфомою Т-зони (Mizutani et al., 2016).

Здатність лімфом до лейкоїзації створює проблему своєчасного виявлення фактів ураження кісткового мозку. Оцінка кісткового мозку часто не включається в початкове діагностичне обстеження (Avery, 2020). Як вважають Graff et al. (2014), не можна точно передбачити за показниками периферичної крові ураження кісткового мозку, наприклад, тромбоцитопенія або

наявність неопластичних лімфоцитів у крові свідчить про залучення кісткового мозку, але не завжди, в той же час, нормальні показники периферичної крові не виключають можливості розвитку лімфони в кістковому мозку. Тому, як вважають Aubry et al. (2012), цитологічне дослідження аспірата кісткового мозку залишається найбільш ефективним методом діагностики лімфони / лейкозу.

Біохімічні зміни, як наслідок системних уражень, характеризуються підвищенням активності аланінамінотрансферази, аспаратамінотрансферази, білірубіну, креатиніну, сечовини, збільшенням рівня кальцію, глобулінової фракції (моноклональна гамапатія). Зростання активності ферментів печінки або показників ураження нирок частіше є вторинними і вказують на реактивну гепатопатію і дегідратацію (Zandvliet 2016).

Цитологічні і гістологічні методи діагностики. Основа діагностики лімфом полягає у визначенні гістогенезу пухлини за двома доповнювальними методами: цитологічним і гістологічним. Основним методом діагностики лімфони і гуманна, і ветеринарна медицина визнають гістопатологічний (Marconato et al., 2013). Деякі дослідники рекомендують цитологію як основне тестування для субтипізації лімфони і постановки остаточного діагнозу, оскільки переважна більшість лімфом має типову цитологічну картину, а тонкогілкова біопсія – найменш травматична для собак (Sapierzyński et al., 2016a). Проте, за даними Valli et al. (2013a), мінімальними критеріями для діагностики мультицентричної лімфони собак високого ступеня злоякісності залишаються гістологічне дослідження та імунофенотипування для визначення лінії В- або Т-клітин. Ендоскопічна цитологія в діагностиці кишкової лімфони собак мала чутливість 98,6%, специфічність 73,5%, позитивну прогностичну цінність 72,3% і негативну прогностичну цінність 98,6% (Maeda et al., 2017). Високу специфічність і позитивну прогностичну цінність цитології в діагностичному підході до новоутворень селезінки визначили Tecilla et al. (2019), а поєднання рутинної цитопатології з імунцитохімією при лімфомах собак дозволяє отримати точний діагноз у 90% випадків (Sapierzyński et al., 2012).

Точність цитологічної діагностики залежить від багатьох факторів, саме тому в гуманній медицині рекомендована присутність цитолога або цитопатолога під час процедури відбору матеріалу, його розподілення і виготовлення мазків. Amoges-Fuster et al. (2014) установили, що найбільш поширеними причинами неінформативних цитологічних зразків були відсутність або мала кількість клітин, руйнування їх. Тому автори наголошують на необхідності навчання ветеринарів для поліпшення відбору проб і виготовлення мазків, що підвищить діагностичну цінність цитологічного дослідження лімфатичних вузлів. Sapierzyński et al. (2017b) вважають, що підготовка якісних мазків і подання докладного супровідного листа збільшує ймовірність отримання клінічно корисних результатів цитологічних досліджень. Bonsembiante et al. (2018), порівнюючи способи оцінювання цитологічних препаратів у цифрових зображеннях та звичайною мікроскопією, встановили більш високу точність останнього і підкреслили важливість досвіду патоморфологів у визначенні ступеня злоякісності лімфом собак.

У світовій практиці ветеринарних клінічних лабораторій поширюється використання проточної цитометрії (ПЦ), яка дозволяє вимірювати у суспензії матеріалу хірургічної біопсії лімфатичного вузла або екстранодальної тканини пухлини, крові, аспіраті кісткового мозку тонкогілкової біопсії тощо, множинні характеристики окремих клітин, використовуючи властивості розсіювання світла і люмінесцентні властивості флуоресцентних зондів із специфічністю до клітинних складових (Comazzi & Gelain, 2011; Wilkerson, 2012; Papakonstantinou et al., 2013). Martini et al. (2018) рекомендують включати в діагностику ПЦ у поєднанні з гістопатологічним дослідженням,

при цьому зазначаючи, що ПЦ значно полегшує кількісне оцінювання ураження крові і кісткового мозку. Переконливі результати діагностики лімфоми собак у понад 90% випадків отримані за допомогою ПЦ (Comazzi et al., 2018). ПЦ використовується для імунофенотипування лімфоми собак і, на відміну від імуногістохімії, не потребує біопсії лімфатичного вузла хірургічним шляхом, а результати доступні через декілька годин (Culmsee et al., 2001).

Цей метод являє собою важливий інструмент в об'єктивній діагностиці та подальшій характеристиці лімфоми і лейкемії завдяки можливості дослідження як розміру клітин, складу їх цитоплазми, так і експресії клітинної поверхні, внутрішньоклітинних білків (Rout & Avery, 2017). У комплексному застосуванні методів діагностичної візуалізації і цитоморфологічних досліджень Crabtree et al. (2010) рекомендують проводити аспірацію для виявлення лімфоми в селезінці собак тільки у разі її аномалій під час ультразвукографії, проте цитологію печінки слід виконувати незалежно від її ультразвукового прояву.

Papakonstantinou & O'Brien (2014) презентували перспективний метод кількісної діагностики лімфом із застосуванням напівавтоматичної флуоресцентної мікроскопії із визначенням імунофенотипу лімфоцитів та їх характеристик (площа: клітин, ядра, цитоплазми, а також індекс округлості, зміщення ядра). На жаль, в Україні через недостатнє матеріально-технічне забезпечення метод проточної цитометрії застосовується обмежено навіть у гуманній медицині (Діагностика і лікування лімфом у дорослих. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах, 2013, с. 91).

Гістологічні препарати залишаються «золотим» стандартом для діагностики лімфом. Учені доводять, що знання різних гістотипів лімфом має вирішальне значення для постановки правильного діагнозу і проведення терапії, основними морфологічними критеріями яких постають: характер росту, розмір і морфологія ядра (характер хроматину, розташування і кількість ядерця), мітотичний індекс, імунофенотип (Aresu et al., 2014), архітектоніка лімфатичного вузла або іншої тканини (Rout & Avery, 2017). Гістологічні критерії, які використовуються для діагностики та класифікації лімфоми собак, повністю засновані на системі класифікації ВООЗ. Виходячи із повідомлень дослідників, із гістологічних типів лімфом у собак найчастіше встановлювали дифузну В-великоклітинну лімфому: у 84,3% випадків (Wolf-Ringwall et al., 2019), 52% – (Seelig et al., 2016); лімфому маргінальної зони – у 60,7% (Fracácio et al., 2018), 7,8% (Wolf-Ringwall et al., 2019); Т-клітинну лімфому неуточнену (16%); вузлову Т-зону лімфому (14%) і Т-лімфобластну лімфому (5%) (Valli et al., 2011; Cascione et al., 2019).

Для постановки остаточного гістологічного діагнозу лімфоми собак Seelig et al. (2016) рекомендують використовувати гістологічний алгоритм ВООЗ (зрізи тканини завтовшки 3–5 мкм, забарвлені гематоксиліном і еозином, оцінку архітектоніки, визначення розміру пухлинних клітин відповідно до діаметра еритроцита (RBC) або невеликого лімфоцита тощо) та додаткові діагностичні критерії: цитоплазматичні (обсяг та інтенсивність фарбування), ядерні (форма хроматину і ядерцевої особливості) у поєднанні зі знаннями імунофенотипу клітин. Дослідження ветеринарними патологами точності й узгодженості гістологічних діагнозів лімфом собак у відповідності з критеріями ВООЗ показали загальну точність (17 патологів на 300 випадків) 83% (Valli et al., 2011).

Імунофенотипування засноване на визначенні: В- і Т-лімфоцитів, підгрупи за основними клітинними просторовими антигенами, які присутні на мембранах і навколо генів, що кодують Т-клітини для Т-клітинної лімфоми, а також за молекулами імуноглобулінів у В-клітинних лімфомах. Ідентифікація за клітинними фенотипами дозволяє вибрати адекватний метод лікування і скласти довгостроковий прогноз лімфоми (Seelig et

al., 2014). Лімфоми собак являють собою моноклональну проліферацію В-клітин, що зазвичай експресують легкі ланцюги лямбда-імуноглобуліну і переважають більшість пухлин, що походять із В-клітин, експресують IgM (Sokołowska et al., 2010). Більшість випадків із CD45+ і CD4+ Т-клітинної лімфоми собак демонстрували агресивний перебіг, незалежно від режиму лікування (Avery et al., 2014). Учені, встановили, що собачі антитіла до CD20, позначені як 6C8, зв'язувались із В-клітинами і сприяли фагоцитозу макрофагами клітин В-клітинної лімфоми (Ito et al., 2014). Найчастіше використовуються в діагностиці лімфом собак моноклональні антитіла до антигенів: CD20, CD21, CD25, CD79α, Pax5 для В-клітинної лімфоми (Willmann et al., 2009; Papakonstantinou et al., 2013; Flood-Knapik et al., 2012; Mizutani et al., 2016; Cozzi et al., 2017) і для Т-клітинних лімфом – CD3, CD4 і CD8 (Lurie et al., 2008; Vezzali et al., 2010; Sapierzynski, 2010; Martini et al., 2018; Harris et al., 2019; Martini et al., 2019).

Метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) дозволяє всебічно ідентифікувати молекулярні механізми патогенезу лімфоми. За останні роки у ветеринарній онкології отримано багато досягнень у галузі генетичних досліджень, що сприяє поліпшенню клінічних результатів. Langner et al. (2014) вважають, що ПЛР у реальному часі з подальшим аналізом кривої плавлення для виявлення клонально перебудованих генів рецептора антигену (PARR) – це зручний і надійний метод із високою аналітичною чутливістю у собак з В- і Т-клітинної лімфою. Aresu et al. (2014) пропонують для контролю дифузної В-великоклітинної лімфоми собак застосовувати імунологічні і молекулярні методи разом із моніторингом мінімальних залишків хвороби.

Ефективність ПЛР завизначали виявленням пухлинних лімфоцитів у периферичній крові в 2,5 рази частіше, ніж за звичайного або стандартизованого мікроскопічного оцінювання (Keller et al., 2004). Порівнюючи методи імуногістохімії, проточної цитометрії і ПЛР для виявлення перебудови рецептора антигену, Thalheim et al. (2013) встановили високу ефективність проточної цитометрії в імунофенотипуванні, а за відсутності свіжих зразків підходящим і високоспецифічним – ПЛР для виявлення PARR. Gentilini et al. (2013) підтвердили придатність методу PARR із клон-специфічними праймерами для моніторингу мінімальних залишків хвороби у собак з В-клітинною лімфою. Takanosu et al. (2010) вважають гетеродуплексний аналіз за допомогою ПЛР PARR підходящим інструментом для діагностики лімфоми у собак і зменшення ймовірності діагностичних помилок (псевдоклональності клітин).

Більшість повідомлень дослідників стосується вивчення геномної характеристики дифузної В-великоклітинної лімфоми собак. Young et al. (2019) повідомили про нове розуміння біології дифузної В-великоклітинної лімфоми собак: в результаті геномного аналізу і функціональних протеогеномних досліджень виявили нові способи передачі сигналів від В-клітинного рецептора. Giannuzzi et al. (2019) ідентифікували одностандартні варіанти в РНК-seq, які мають прямий вплив на гени при В-клітинній лімфомі собак. Schmitz et al. (2018) установили чотири генетичні підтипи дифузної В-великоклітинної лімфоми із чітко вираженими генотиповими, епігенетичними і клінічними характеристиками. Aresu et al. (2019) вперше провели великий інтегрований аналіз із секвенуванням транскриптома, аналізом метилування по всьому геному, аналізом варіацій числа копій і клінічним результатом у собак із дифузною В-великоклітинною лімфою.

Прогностичні критерії

Прогноз лімфом у першу чергу спирається на їх клінічну та гістологічну класифікацію. Сприятливий прогноз і більш висо-

ку тривалість життя хворих тварин (з медіаною виживання 637 днів) пов'язують з індолентним перебігом лімфоми і зрілими лімфоцитами (Seelig et al., 2014). Лімфоми високого ступеня тяжкості були більш поширеними (86% усіх випадків) серед усіх діагностованих лімфом (Sapierzyński et al., 2010). За повідомленнями вчених, Т-клітинні лімфоми мають коротший час ремісії і виживання, ніж В-клітинні лімфоми (Valli et al., 2013; Comazzi et al., 2018; Fracácio et al., 2018; Coelho et al., 2019). До того ж, більш злоякісними визнано лімфоми із незрілих «бластних» клітин, так, Т-клітинна лімфома (лімфобластна лімфома) характеризувалась агресивним перебігом захворювання з медіаною виживання 159 днів (Avery et al., 2014).

До несприятливих прогностичних факторів учені відносять активну експресію цитокинів пухлинними і реактивними клітинами, що ведуть до анемії, лімфопенії, гіпоальбумінемії. Анемія – негативний прогностичний фактор для собак із мультицентричною лімфомою, які проходять хіміотерапію. Гіпоальбумінемія була пов'язана з поганим прогнозом, а модифікований прогностичний бал Глазго (mGPS), який присвоює числове значення (0–2) з концентрацією С-реактивного білка й альбуміну, має потенційну прогностичну цінність при лімфомі собак (Fontaine et al., 2017). Негативними прогностичними факторами визнані також: гіпокобаламінемія у собак із мультицентричною лімфомою (Cook et al., 2009), збільшення щільності мікросудин (Ranieri et al., 2005), гіперкальціємія у тварин із мультицентричною Т-клітинною лімфомою (Brodsky et al., 2009).

Порівняння експресії Ki-67 і ядерного антигену проліферуючих клітин (PCNA) як маркерів проліферативної активності лімфоми, показало високий медіанний індекс Ki-67 для Т-клітинних лімфом (Zacchetti et al., 2003; Burnett et al., 2003). Висока позитивна кореляція між експресією Ki67 та індексом мітозу встановлена у Т- і В-клітинних лімфомах собак (Sokolowska et al., 2012). Високий мітотичний індекс клітин відповідав високозлоякісним лімфомам і, навпаки, в індолентних низького ступеня злоякісності був низьким (Valli et al., 2013). Імуноекспресія білка p53 була пов'язана з лімфомами високого ступеня злоякісності (у 24 В-клітинних і семи Т-клітинних) і статистично корелювала із виживанням тварин (Sueiro et al., 2004; Dhaliwal et al., 2013). Експресію IgM з легкими ланцюгами визначали в переважній більшості у В-клітинних лімфомах (Sokolowska et al., 2010). Aresu et al. (2014) вказують на можливу прогностичну роль у групі собак з В-клітинними лімфомами фактора росту ендотелію судин (VEGF) і металопротеїнази (MMP).

Колонізація кісткового мозку пухлинними клітинами із первинного осередку лімфоми пов'язана з поганим прогнозом і медіаною виживання. Найбільше прогностичне значення мав кількісний показник інфільтрації кісткового мозку при В-великоклітинних лімфомах собак (Marconato et al., 2013). Ступінь інфільтрації кісткового мозку і периферичної крові пухлинними клітинами корелює зі специфічним виживанням і періодом ремісії тварин із лімфомою маргінальної зони (Marconato et al., 2019b). Тромбоцитопенія і наявність > 10% пухлинних лімфоцитів у мазках крові були визначені як важливі показники для прогнозування наявності ураження кісткового мозку в собак із мультицентричною великоклітинною лімфомою (Graff et al., 2014). Аномалії (цитопенії) крові не завжди постають прогностичними факторами ураження кісткового мозку, однак ступінь інфільтрації кісткового мозку був значно вищий у собак із тромбоцитопенією, лейкоцитозом або лімфоцитозом (Martini et al., 2013).

З останніх досягнень слід відмітити пропозицію Cascione et al. (2019) використання як прогностичних біомаркерів для визначення експресії довгих некодувальних lncРНК у ПЛІР, на підставі чого автори ідентифікували два основні підтипи дифузної В-великоклітинної лімфоми собак із статистично різними періодами виживання.

Висновки

Аналіз літературних джерел показує, що в цілому спостерігається тенденція до збільшення випадків виявлення лімфом у собак. Учені встановили як факти подібності певних характеристик лімфом собак із неходжкінськими лімфомами людини, так і їх відмінності. Нові досягнення у вивченні патогенезу лімфом собак, використання високотехнологічних засобів діагностики, розвиток цифрових медичних технологій, молекулярно-генетичних досліджень просувають крок за кроком ветеринарних онкологів до вирішення проблеми контролю захворювання. Світова ветеринарна практика збагатилась модифікованими, точними і високочутливими діагностичними методами на основі проточної цитометрії, ПЛІР PARR, комп'ютерної, позитронноемісійної та магнітнорезонансної томографії, при тому залишаючи патогістологічні дослідження базовими в діагностиці лімфом.

Дослідники продовжують пошуки ефективних прогностичних критеріїв лімфом собак, завдяки яким можна здійснювати диференційований підхід до терапії. Актуальність чіткого алгоритму діагностики лімфоми собак зумовлена не тільки складанням адекватної терапії, а й визначенням довгострокового прогнозу та можливістю клінічного контролю пацієнта впродовж тривалого періоду. Перспективою подальших досліджень залишається всебічне вивчення особливостей патогенезу кожного з усіх специфічних підтипів лімфом собак та створення на підставі цього діагностичного алгоритму захворювання.

References

- Abbo, A. H., & Lucroy, M. D. (2007). Assessment of anemia as an independent predictor of response to chemotherapy and survival in dogs with lymphoma: 96 cases (1993–2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231(12), 1836–1842.
- Affolter, V. K., O'Brien, D., Nagle, T. M., & Outerbridge, C. A. (2020). Multicentric B-cell lymphoma with presumed paraneoplastic generalized cutaneous sclerosis in a dog. *Veterinary Dermatology*, 31(3), 250.
- Akiyoshi, M., Hisasue, M., Neo, S., Akiyoshi, M., & Goto-Koshino, Y. (2019). A case of hemophagocytic syndrome progressing into large granular lymphoma in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 48(1), 71–77.
- Amores-Fuster, I., Cripps, P., Graham, P., Marrington, A. M., & Blackwood, L. (2014). The diagnostic utility of lymph node cytology samples in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 56(2), 125–129.
- Aresu, L., Aricò, A., Comazzi, S., Gelain, M.E., Riondato, F., Mortarino, M., Morello, E., Stefanello, D., & Castagnaro, M. (2014). VEGF and MMP-9: biomarkers for canine lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 12(1), 29–36.
- Aresu, L., Ferrareso, S., Marconato, L., Cascione, L., Napoli, S., Gaudio, E., Kwee, I., Tarantelli, C., Testa, A., Maniaci, C., Ciulli, A., Hillmann, P., Bohnacker, T., Wymann, M. P., Comazzi, S., Milan, M., Riondato, F., Rovere, G. D., Giantin, M., Giannuzzi, D., & Bertoni, F. (2018). New molecular and therapeutic insights into canine diffuse large B-cell lymphoma elucidates the role of the dog as a model for human disease. *Haematologica*, 104(6), e256–e259.
- Aresu, L., Martini, V., Rossi, F., Vignoli, M., Sampaolo, M., Aricò, A., Laganga, P., Pierini, A., Frayssinet, P., Mantovani, R., & Marconato, L. (2013). Canine indolent and aggressive lymphoma: clinical spectrum with histologic correlation. *Veterinary and Comparative Oncology*, 13(4), 348–362.
- Aubry, O. A., Spangler, E. A., Schleis, S. E., & Smith, A. N. (2012). Evaluation of bone marrow aspirates from multiple sites for staging of canine lymphoma and mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 12(1), 58–66.

- Avery, A. C. (2020). The genetic and molecular basis for canine models of human leukemia and lymphoma. *Frontiers in Oncology*, 10.
- Avery, P. R., Burton, J., Bromberek, J. L., Seelig, D. M., Elmslie, R., Correa, S., Ehrhart, E. J., Morley, P. S., & Avery, A. C. (2014). Flow cytometric characterization and clinical outcome of CD4+ T-Cell lymphoma in dogs: 67 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(2), 538–546.
- Belotta, A. F., Gomes, M. C., Rocha, N. S., Melchert, A., Giuffrida, R., Silva, J. P., & Mamprim, M. J. (2019). Sonography and sonoelastography in the detection of malignancy in superficial lymph nodes of dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(3), 1403–1413.
- Bergman, P. J. (2013). Paraneoplastic syndromes. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, 83–97.
- Bonsembiante, F., Martini, V., Bonfanti, U., Casarin, G., Trez, D., & Gelain, M. E. (2018). Cytomorphological description and intra-observer agreement in whole slide imaging for canine lymphoma. *The Veterinary Journal*, 236, 96–101.
- Brodsky, E. M., Maudlin, G. N., Lachowicz, J. L., & Post, G. S. (2009). Asparaginase and MOPP treatment of dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), 578–584.
- Buckley, M., Chapman, P., & Walsh, A. (2017). Glucocorticoid-deficient hypoadrenocorticism secondary to intravascular lymphoma in the adrenal glands of a dog. *Australian Veterinary Journal*, 95(3), 64–67.
- Burnett, R. C., Vernau, W., Modiano, J. F., Olver, C. S., Moore, P. F., & Avery, A. C. (2003). Diagnosis of canine lymphoid neoplasia using clonal rearrangements of antigen receptor genes. *Veterinary Pathology*, 40(1), 32–41.
- Cápuá, M. L. B. de, Coleta, F. E. D., Canesin, A. P. M. N., Godoy, A. V., Calazans, S. G., Miotto, M. R., Daleck, C., & Santana, A. E. (2011). Linfoma canino: clínica, hematologia e tratamento com o protocolo de Madison-Wisconsin. *Ciência Rural*, 41(7), 1245–1251.
- Cascione, L., Giudice, L., Ferrareso, S., Marconato, L., Giannuzzi, D., Napoli, S., Bertoni, F., Giugno, R., & Aresu, L. (2019). Long non-coding RNAs as molecular signatures for canine B-cell lymphoma characterization. *Noncoding RNA Non-Coding*, 5, 47.
- Chekhun, V. F., & Mazurkevych, A. I. (2001). Pukhlyny dribnykh sviiskykh tvaryn: klinika, diahnozyka, likuvannia [Tumors of small domestic animals: clinic, diagnosis, treatment]. Kyiv (in Ukrainian).
- Coelho, A. C. B., Echenique, J. V. Z., Lemos, B. S., Estima-Silva, P., Sallis, E. S. V., Raffi, M. B., & Schild, A. L. (2019). Canine lymphomas diagnosed in southern Brazil from 2000 to 2017: epidemiology and immunophenotype. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39(7), 492–498.
- Cook, A. K., Wright, Z. M., Suchodolski, J. S., Brown, M. R., & Steiner, J. M. (2009). Prevalence and prognostic impact of hypocobalaminemia in dogs with lymphoma. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(12), 1437–1441.
- Comazzi, S., Cozzi, M., Bernardi, S., Zanella, D.R., Aresu, L., Stefanello, D., Marconato, L., & Martini, V. (2018). Effects of pre-analytical variables on flow cytometric diagnosis of canine lymphoma: A retrospective study (2009–2015). *The Veterinary Journal*, 232, 65–69.
- Comazzi, S., & Gelain, M. E. (2011). Use of flow cytometric immunophenotyping to refine the cytological diagnosis of canine lymphoma. *The Veterinary Journal*, 188(2), 149–155.
- Comazzi, S., Marelli, S., Cozzi, M., Rizzi, R., Finotello, R., Henriques, J., Pastor, J., Ponce, F., Rohrer-Bley, C., C. Rütgen, B., & Teske, E. (2018). Breed-associated risks for developing canine lymphoma differ among countries: an European canine lymphoma network study. *BMC Veterinary Research*, 14, 232.
- Cozzi, M., Marconato, L., Martini, V., Aresu, L., Riondato, F., Rossi, F., Stefanello, D., & Comazzie, S. (2017). Canine nodal marginal zone lymphoma: descriptive insight into the biological behaviour. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(2), 246–252.
- Crabtree, A.C., Spangler, E., Beard, D., & Smith, A. (2010). Diagnostic accuracy of gray-scale ultrasonography for the detection of hepatic and splenic lymphoma in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 51(6), 661–664.
- Culmsee, K., Simon, D., Mischke, R., & Nolte, I. (2001). Possibilities of Flow Cytometric Analysis for Immunophenotypic Characterization of Canine Lymphoma. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 48(4), 199–206.
- Degl'Innocenti, S., Camera, N. D., Falzone, C., & Cantile, C. (2018). Canine cerebral intravascular lymphoma: neuropathological and immunohistochemical findings. *Veterinary Pathology*, 56(2), 239–243.
- Desmas, I., Burton, J. H., Post, G., Kristal, O., Gauthier, M., Borrego, J. F., Di Bella, A., & Lara-Garcia, A. (2016). Clinical presentation, treatment and outcome in 31 dogs with presumed primary colorectal lymphoma (2001–2013). *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(2), 504–517.
- Dhaliwal, R. S., Kitchell, B. E., Ehrhart, E., Valli, V. E., & Dervisis, N. G. (2013). Clinicopathologic significance of histologic grade, pgg, and p53 expression in canine lymphoma. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 49(3), 175–184.
- Di Donato, P., Zweifel, R., Koehler, K., Golini, L., Ressel, L., Kramer, M., Kiefer, I., Lim, C.K., Kiefer, I., Lim, C.K., & Ondreka, N. (2018). Predominance of hypoechoic tissue changes in nine dogs with malignant prostatic lymphoma. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 60(1), 75–80.
- Köhler, C., Winter, K., Alef, M., Kiefer, I., & Eberhardt, F. (2015). Sonographische Veränderungen abdominalen Lymphknoten bei Hunden mit einem malignen Lymphom. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere*, 43(5), 309–316.
- Edwards, D. S., Henley, W. E., Harding, E. F., Dobson, J. M., & Wood, J. L. N. (2003). Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 1(4), 200–206.
- Ettinger, S. N. (2003). Principles of treatment for canine lymphoma. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18(2), 92–97.
- Flood-Knapik, K. E., Durham, A. C., Gregor, T. P., Sánchez, M. D., Durney, M. E., & Sorenmo, K. U. (2012). Clinical, histopathological and immunohistochemical characterization of canine indolent lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 11(4), 272–286.
- Fontaine, J., Heimann, M., & Day, M. J. (2010). Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review of 30 cases. *Veterinary Dermatology*, 21(3), 267–275.
- Fontaine, S. J., McCulloch, E., Eckersall, P. D., Haining, H., Patterson Kane, J. C., & Morris, J. S. (2017). Evaluation of the modified Glasgow Prognostic Score to predict outcome in dogs with newly diagnosed lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(4), 1513–1526.
- Fracácio, C. P., Sueiro, F. A. R., Anai, L. A., Pucci, M. B., Senhorello, I. L. S., Barata, J. S., & Jark, P. C. (2018). Histopathological and immunophenotypical assessment of canine primary splenic lymphoma according to the World Health Organization. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(11), 2129–2132.
- Gentilini, F., Turba, M. E., & Forni, M. (2013). Retrospective monitoring of minimal residual disease using hairpin-shaped clone specific primers in B-cell lymphoma affected dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 153(3-4), 279–288.
- Giannuzzi, D., Marconato, L., Cascione, L., Comazzi, S., Elgandy, R., Pegolo, S., Cecchinato, A., Bertoni, F., Aresu, L., & Ferrareso S. (2019). Mutational landscape of canine B-cell

- lymphoma profiled at single nucleotide resolution by RNA-seq. *PLoS ONE*, 14, e0215154.
- Graff, E. C., Spangler, E. A., Smith, A., Denhere, M., & Brauss, M. (2014). Hematologic findings predictive of bone marrow disease in dogs with multicentric large-cell lymphoma. *Veterinary Clinical Pathology*, 43(4), 505–512.
- Harris, L. J., Hughes, K. L., Ehrhart, E. J., Labadie, J. D., Yoshimoto, J., & Avery, A. C. (2019). Canine CD4+ T-cell lymphoma identified by flow cytometry exhibits a consistent histomorphology and gene expression profile. *Veterinary and Comparative Oncology*, 17(3), 253–264.
- Holm, F., Hardon, T., Clasen-Linde, E., Hjorth Mikkelsen, L., & Heegaard, S. (2018). B-cell lymphoblastic lymphoma of the nictitating membrane as the first presenting sign in a 2-year-old Springer Spaniel. *Clinical Case Reports*, 6(11), 2246–2251.
- Ito, D., Brewer, S., Modiano, J. F., & Beall, M. J. (2014). Development of a novel anti-canine CD20 monoclonal antibody with diagnostic and therapeutic potential. *Leukemia & Lymphoma*, 56(1), 219–225.
- Jaffe, E.S., Raffeld, M., Medeiros, L.J., & Stetler-Stevenson, M. (1992). An overview of the classification of non-Hodgkin's lymphomas: an integration of morphological and phenotypical concepts. *Cancer Research*, 52, 5447–5452.
- Keller, R. L., Avery, A. C., Burnett, R. C., Walton, J. A., & Olver, C. S. (2004). Detection of neoplastic lymphocytes in peripheral blood of dogs with lymphoma by polymerase chain reaction for antigen receptor gene rearrangement. *Veterinary Clinical Pathology*, 33(3), 145–149.
- Krause, J. R., Drinkard, L. C., & Keglovits, L. C. (2013). Hodgkin lymphoma transformation of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 26(1), 16–18.
- Langner, K. F., Joetzke, A. E., Nerschbach, V., Eberle, N., Schuberth, H. J., Koy, M., Nolte, I., & Betz, D. (2014). Detection of clonal antigen receptor gene rearrangement in dogs with lymphoma by real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 1.
- Lanza, M. R., Musciano, A. R., Dubielzig, R. D., & Durham, A. C. (2017). Clinical and pathological classification of canine intraocular lymphoma. *Veterinary Ophthalmology*, 21(2), 167–173.
- Lechowski, R., Jagielski, D., Hoffmann-Jagielska, M., Żmudzka, M., & Winnicka, A. (2002). Alpha-fetoprotein in canine multicentric lymphoma. *Veterinary Research Communications*, 26(4), 285–296.
- Lennert, K., & Feller, A. C. (1992). The kiel classification. In: *Histopathology of non-Hodgkin's lymphomas*. Springer, Berlin Heidelberg.
- Lurie, D. M., Milner, R. J., Suter, S. E., & Vernau, W. (2008). Immunophenotypic and cytomorphologic subclassification of T-cell lymphoma in the boxer breed. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 125(1-2), 102–110.
- Maeda, S., Tsuboi, M., Sakai, K., Ohno, K., Fukushima, K., Kanemoto, H., Hiyoshi-Kanemoto, S., Goto-Koshino, Y., Chambers, J.K., Yonezawa, T., Uchida, K. & Matsuki, N. (2017). Endoscopic cytology for the diagnosis of chronic enteritis and intestinal lymphoma in dogs. *Veterinary Pathology*, 54(4), 595–604.
- Mangieri, J. (2016). Paraneoplastic syndromes. In: Daleck CR, De Nardi AB. *Oncology in dogs and cats*. 2nd, 325-338
- Mansoor, L. H., Ahmadi-Hamedani, M., Dezfoulian, O., & Selk Ghaffari, M. (2018). Multicentric lymphoma in a Rottweiler dog with bilateral ocular involvement: A case report. *Veterinary Research Forum*, 9(3), 285–288.
- Marconato, L., Aresu, L., Stefanello, D., Comazzi, S., Martini, V., Ferrari, R., Riondato, F., Rouquet, N., Frayssinet, P. & Sabattini, S. (2019a). Opportunities and challenges of active immunotherapy in dogs with B-cell lymphoma: a 5-year experience in two veterinary oncology centers. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 7(1).
- Marconato, L., Comazzi, S., Aresu, L., Riondato, F., Stefanello, D., Ferrari, R., & Martini, V. (2019b). Prognostic significance of peripheral blood and bone marrow infiltration in newly-diagnosed canine nodal marginal zone lymphoma. *The Veterinary Journal*, 246, 78–84.
- Marconato, L., Gelain, M. E., & Comazzi, S. (2012). The dog as a possible animal model for human non-Hodgkin lymphoma: a review. *Hematological Oncology*, 31(1), 1–9.
- Marconato, L., Martini, V., Aresu, L., Sampaolo, M., Valentini, F., Rinaldi, V., & Comazzi, S. (2013). Assessment of bone marrow infiltration diagnosed by flow cytometry in canine large B cell lymphoma: Prognostic significance and proposal of a cut-off value. *The Veterinary Journal*, 197(3), 776–781.
- Martini, V., Aresu, L., Riondato, F., Marconato, L., Cozzi, M., Stefanello, D., & Comazzi, S. (2019). Prognostic role of non-neoplastic lymphocytes in lymph node aspirates from dogs with diffuse large B-cell lymphoma treated with chemo-immunotherapy. *Research in Veterinary Science*, 125, 130–135.
- Martini, V., Melega, M., Riondato, F., Marconato, L., Cozzi, M., Bernardi, S., Comazzi, S. & Aresu, L. (2018). A retrospective study of flow cytometric characterization of suspected extranodal lymphomas in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 30(6), 830–836.
- Martini, V., Melzi, E., Comazzi, S., & Gelain, M. E. (2013). Peripheral blood abnormalities and bone marrow infiltration in canine large B-cell lymphoma: is there a link? *Veterinary and Comparative Oncology*, 13(2), 117–123.
- McAloney, C. A., Sharkey, L. C., Feeney, D. A., Seelig, D. M., Avery, A. C., & Jessen, C. R. (2018). Evaluation of the diagnostic utility of cytologic examination of renal fine-needle aspirates from dogs and the use of ultrasonographic features to inform cytologic diagnosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 252(10), 1247–1256.
- Mikkelsen, L. H., Holm, F., Clasen-Linde, E., Engraff, P., & Heegaard, S. (2018). T cell-lymphoma in the eyelid of a 9-year-old English Setter. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60(1).
- Mizutani, N., Goto-Koshino, Y., Takahashi, M., Uchida, K. & Tsujimoto, H. (2016). Clinical and histopathological evaluation of 16 dogs with T-zone lymphoma. *Journal of Veterinary Medical Science*, 78(8), 1237–1244.
- Moris, J., & Dobson, J. (2001). *Small animals oncology*. Blackwell Science, Oxford, UK, 228-237.
- Münz, C. (2018). Human γ -herpesvirus infection, tumorigenesis, and immune control in mice with reconstituted human immune system components. *Frontiers in Immunology*, 9.
- Neuwald, E. B., Teixeira, L. V., Conrado, F. O., Silva, M. O. D. da, Hlavac, N. R. C., & González, F. H. D. (2014). Epidemiological, clinical and immunohistochemical aspects of canine lymphoma in the region of Porto Alegre, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(4), 349–354.
- Novotný, L., Taylor, F., Claxton, K., Dudova, J., Hanshaw, D., & Misik, J. (2017). Uterine B-cell lymphoma in two dogs – a case report. *Acta Veterinaria Brno*, 86(2), 195–198.
- Nyman, H. T., Lee, M. H., McEvoy, F. J., Nielsen, O. L., Martinussen, T., & Kristensen, A. T. (2006). Comparison of B-mode and Doppler ultrasonographic findings with histologic features of benign and malignant superficial lymph nodes in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 67(6), 978–984.
- Ogilvie, G. K. (1998). Paraneoplastic syndromes. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 14(3), 439–449.
- Papakonstantinou, S., Berzina, I., Lawlor, A., J O'Neill, E., & J O'Brien, P. (2013). Rapid, effective and user-friendly immunophenotyping of canine lymphoma using a personal flow cytometer. *Irish Veterinary Journal*, 66(1), 6.

- Papakonstantinou, S., & O'Brien, P. J. (2014). High Content Imaging for the Morphometric Diagnosis and Immunophenotypic Prognosis of Canine Lymphomas. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*.
- Parachini-Winter, C., Carioto, L. M., & Gara-Boivin, C. (2019). Retrospective evaluation of anemia and erythrocyte morphological anomalies in dogs with lymphoma or inflammatory bowel disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 254(4), 487–495.
- Pinello, K. C., Niza-Ribeiro, J., Fonseca, L., & de Matos, A. J. (2019). Incidence, characteristics and geographical distributions of canine and human non-Hodgkin's lymphoma in the Porto region (North West Portugal). *The Veterinary Journal*, 245, 70–76.
- Ranieri, G., Patruno, R., Lionetti, A., Di Summa, A., Mattioli, E., Bufo, P., Pellecchia, A., Ribatti, D. & Zizzo, N. (2005). Endothelial area and microvascular density in a canine non-Hodgkin's lymphoma: an interspecies model of tumor angiogenesis. *Leukemia & Lymphoma*, 46(11), 1639–1643.
- Raskin, R. E. & Krehbiel, J. D. (1989). Prevalence of leukemic blood and bone marrow in dogs with multicentric lymphoma. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 194(10), 1427–1429.
- Reddy, N., & Thompson-Arildsen, M.A. (2010). Hodgkin's lymphoma: Richter's transformation of chronic lymphocytic leukemia involving the liver. *Journal of Clinical Oncology*, 28(29), 543–544.
- Regan, R. C., Kaplan, M. S. W., & Bailey, D. B. (2012). Diagnostic evaluation and treatment recommendations for dogs with substage-a high-grade multicentric lymphoma: results of a survey of veterinarians. *Veterinary and Comparative Oncology*, 11(4), 287–295.
- Riondato, F., Martini, V., Poggi, A., Massaglia, I., Comazzi, S., Borrelli, A., & Miniscalco, B. (2017). Identification of peripheral blood involvement in dogs with large B-cell lymphoma: Comparison of different methods. *Research in Veterinary Science*, 115, 288–293.
- Rout, E. D., & Avery, P. R. (2017). Lymphoid neoplasia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(1), 53–70.
- Sapierzyński, R. (2010). Practical aspects of immunocytochemistry in canine lymphomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 13(4), 661–668.
- Sapierzyński, R., Czopowicz, M., & Ostrzeszewicz, M. (2016a). Factors affecting the diagnostic utility of canine and feline cytological samples. *Journal of Small Animal Practice*, 58(2), 73–78.
- Sapierzyński, R., Dolka, I., & Fabisiak, M. (2012). High agreement of routine cytopathology and immunocytochemistry in canine lymphomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 15(2), 247–252.
- Sapierzyński, R., Kliczkowska-Klarowicz, K., Jankowska, U., & Jagielski, D. (2016b). Cytodiagnostics of canine lymphomas – possibilities and limitations. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(2), 433–439.
- Sato, M., Yamazaki, J., Goto-Koshino, Y., Setoguchi, A., Takahashi, M., Baba, K., Fujino, Y., Ohno, K. & Tsujimoto, H. (2016). Minimal residual disease in canine lymphoma: An objective marker to assess tumour cell burden in remission. *The Veterinary Journal*, 215, 38–42.
- Savrasov, D. A., Dueva, V. A., & Zolototrubov, A. P. (2016). Verifikacionnyj podhod v diagnostike mul'ticentricheskoj limfomy u sobak. [Verification approach to diagnosis of multicentric lymphomaindogs]. *Mezhdunarodnaja nauchno-prakticheskaja konferencija, Voronezh, dekabr' 09*, 229–230 (in Russian)
- Sayag, D., Fournel-Fleury, C., & Ponce, F. (2017). Prognostic significance of morphotypes in canine lymphomas: A systematic review of literature. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(1), 12–19.
- Schmitz, R., Wright, G. W., Huang, D. W., Johnson, C. A., Phelan, J. D., Wang, J. Q., & Staudt, L. M. (2018). Genetics and pathogenesis of diffuse large b-cell lymphoma. *New England Journal of Medicine*, 378(15), 1396–1407.
- Seelig, D., Avery, A., Ehrhart, E., & Linden, M. (2016). The comparative diagnostic features of canine and human lymphoma. *Veterinary Sciences*, 3(2), 11.
- Seelig, D. M., Avery, P., Webb, T., Yoshimoto, J., Bromberek, J., Ehrhart, E. J., & Avery, A. C. (2014). Canine T-zone lymphoma: unique immunophenotypic features, outcome, and population characteristics. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(3), 878–886.
- Sisó, S., Marco-Salazar, P., Moore, P. F., Sturges, B. K., Vernau, W., Wisner, E. R., Sturges, B. K., Vernau, W., Wisner, E. R., Bollen, A. W., Dickinson, P. J., & Higgins, R. J. (2016). Canine Nervous System Lymphoma Subtypes Display Characteristic Neuroanatomical Patterns. *Veterinary Pathology*, 54(1), 53–60.
- Škor, O. (2019). Clinical staging in canine non-Hodgkin lymphoma. In: *Fourth Meeting of the European Canine Lymphoma Group, CH-Lugano, Zurich, June 22nd*, pp 8-10.
- Sokolowska, J., Micun, J., Malicka, E., & Lechowski, R. (2012). Proliferation activity in canine lymphomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 15(4), 727–734.
- Sokolowska, J., Micuń, J., Zabielska, K., Malicka, E., & Lechowski, R. (2010). Immunohistochemical study of expression of immunoglobulins in canine B-cell lymphomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 13(4), 623–628.
- Stranahan, L. W., Whitley, D., Thaiwong, T., Kiupel, M., & Oliveira, F. (2019). Anaplastic large t-cell lymphoma in the intestine of dogs. *Veterinary Pathology*, 56(6), 878–884.
- Sueiro, F. A. R., Alessi, A. C., & Vassallo, J. (2004). Canine lymphomas: a morphological and immunohistochemical study of 55 cases, with observations on p53 immunexpression. *Journal of Comparative Pathology*, 131(2-3), 207–213.
- Takanosu, M., Tadika, T., & Kobayashi, T. (2010). Heteroduplex polymerase chain reaction is essential for canine receptor rearrangement analysis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22(5), 760–763.
- Tanaka, T., Akiyoshi, H., Nishida, H., Mie, K., Lin, L.-S., Iimori, Y., & Okamoto, M. (2019). Contrast-enhanced computed tomography findings of canine primary renal tumors including renal cell carcinoma, lymphoma, and hemangiosarcoma. *PLOS ONE*, 14(11), e0225211.
- Taylor, A.J., Lara-Garcia, A. & Benigni, L. (2014). Ultrasonographic characteristics of canine renal lymphoma. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 55(4), 441–446.
- Tecilla, M., Gambini, M., Forlani, A., Caniatti, M., Ghisleni, G., & Roccabianca, P. (2019). Evaluation of cytological diagnostic accuracy for canine splenic neoplasms: An investigation in 78 cases using STARD guidelines. *PLOS ONE*, 14(11), e0224945.
- Teske, E. (1994). Canine malignant lymphoma: a review and comparison with human non-hodgkin's lymphoma. *Veterinary Quarterly*, 16, 209–219.
- Teske, E., Wisman, P., Moore, P. F. & van Heerde, P. (1994). Histologic classification and immunophenotyping of canine non-Hodgkin's lymphomas: unexpected high frequency of T cell lymphomas with B cell morphology. *Experimental Hematology*, 22(12), 1179–1187.
- Thalheim, L., Williams, L. E., Borst, L. B., Fogle, J. E., & Suter, S. E. (2013). Lymphoma Immunophenotype of Dogs Determined by Immunohistochemistry, Flow Cytometry, and Polymerase Chain Reaction for Antigen Receptor Rearrangements. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(6), 1509–1516.

- Thuilliez, C., Watrelot-Virieux, D., Chanut, F., Fournel-Fleury, C., Ponce, F., & Marchal, T. (2008). Presumed Primary Muscular Lymphoma in a Dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(6), 824–826.
- Tkachenko, O. A., Alekseeva, N. V., & Gavrilina, O. H. (2019). Osoblyvosti diahnozyky retrovirusnykh infektsii kotiv. [Features of the diagnosis of cat retroviral infections]. *Ahrarnyi Visnyk Prychornomoria*, 93, 214–220 (in Ukrainian).
- Vail, D. M., & Macewen, E. G. (2000). Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. *Cancer Investigation*, 18(8), 781–792.
- Valli, V. E., Kass, P. H., Myint, M. S., & Scott, F. (2013). Canine lymphomas. *Veterinary Pathology*, 50(5), 738–748.
- Valli, V.E., San Myint, M., Barthel, A., Bienzle, D., Caswell, J., Colbatzky, F., Durham, A., Ehrhart, E.J., Johnson, Y., Jones, C., Kiupel, M., Labelle, P., Lester, S., Miller, M., Moore, P., Moroff, S., Roccabianca, P., Ramos-Vara, J., Ross, A., Scase, T., Tvedten, H. & Vernau, W. (2011). Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. *Veterinary Pathology*, 48(1), 198–211.
- Vascellari, M., Tasca, S., Furlanello, T., Carli, E., Patron, C., Mutinelli, F., & Caldin, M. (2007). Vertebral polyostotic lymphoma in a young dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(2), 205–208.
- Vezzali, E., Parodi, A. L., Marcato, P. S., & Bettini, G. (2010). Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8(1), 38–49.
- Villamil, J. A., Henry, C. J., Hahn, A. W., Bryan, J. N., Tyler, J. W., & Caldwell, C. W. (2009). Hormonal and sex impact on the epidemiology of canine lymphoma. *Journal of Cancer Epidemiology*, 2009, 1–7.
- Wilkerson, M. J. (2012). Principles and applications of flow cytometry and cell sorting in companion animal medicine. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 42(1), 53–71.
- Willmann, M., Müllauer, L., Guija de Arespacochaga, A., Reifinger, M., Mosberger, I., & Thalhammer, J. G. (2009). Pax5 immunostaining in paraffin-embedded sections of canine non-Hodgkin lymphoma: A novel canine pan pre-B- and B-cell marker. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(4), 359–365.
- Wolf-Ringwall, A., Lopez, L., Elmslie, R., Fowler, B., Lori, J., Sfiligoi, G., Skope, A., Arnold, E., Hughes, K. L., Thamm, D. H., Ehrhart, E. J., Avery, A. C., & Lana, S. E. (2019). Prospective evaluation of flow cytometric characteristics, histopathologic diagnosis and clinical outcome in dogs with naïve B-cell lymphoma treated with a 19-week CHOP protocol. *Veterinary and Comparative Oncology*.
- Young, R. M., Phelan, J. D., Wilson, W. H., & Staudt, L. M. (2019). Pathogenic B-cell receptor signaling in lymphoid malignancies: New insights to improve treatment. *Immunological Reviews*, 291(1), 190–213.
- Zacchetti, A., van Garderen, E., Teske, E., Nederbragt, H., Dierendonck, J. H. & Rutteman, G. R. (2003). Validation of the use of proliferation markers in canine neoplastic and non-neoplastic tissues: comparison of KI-67 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression versus in vivo bromodeoxyuridine labelling by immunohistochemistry. *APMIS*, 111(3), 430–438.
- Zandvliet, M. (2016). Canine lymphoma: a review. *Veterinary Quarterly*, 36(2), 76–104.