

TRABAJOS ORIGINALES

RESPUESTA LEUCOCITARIA LOCAL EN TUMOR VENEREO TRANSMISIBLE DEL CANINO EN FASE PROGRESIVA Y EN REGRESION INDUCIDA CON VINCRISTINA

González, Carlos.;
Flores, Estefanía;
Cattaneo, Gino;
Cepeda, Raquel*,
Lombardi, César* *

EFFECT OF VINCRISTINE CHEMOTHERAPY ON LOCAL LEUKOCYTE RESPONSE TO CANINE TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR.

SUMMARY

Aspects of the immune response against transmissible venereal tumor (TVT) before and after chemotherapy were studied in 19 dogs with spontaneous TVT, treated with vincristine (0,03 mg/kg i.v. weekly). These animals had hematological tests after every session of chemotherapy. Cytology and histopathology evaluated the proportions of infiltrate leukocytes.

In cytological smears and histopathological sections the main infiltrative leukocytes were lymphocytes, 7% and 8,7% respectively, and these proportions increased significantly to 33,66% y 27,00% ($p < 0,01$) when the percentage of tumor regression reached 50%, and 35,57% and 41,28% ($p < 0,05$) when the percentage of tumor regression reached beyond 50%. No significant differences were found in percentage of infiltrative PMNeutrophils among treated and nontreated groups. Plasma cells were not a frequent finding.

Palabras claves: Tumor venéreo transmisible, TVT, linfocitos, quimioterapia.

Key words: Transmissible venereal tumor, TVT, lymphocytes, chemotherapy.

INTRODUCCION

El tumor venéreo transmisible (TVT), también conocido como sarcoma de Sticker o tumor de Sticker, junto con los mastocitomas, los histiocitomas y los linfosarcomas forma parte

del grupo denominado "tumores de células redondas" . (Meyer y Franks, 1986)

El TVT se desarrolla por trasplante de células tumorales y se ubica, de preferencia, en órganos genitales en animales de ambos sexos. También, suele implantarse en sitios susceptibles como mucosas con abrasiones y, ocasionalmente, en heridas cutáneas (Calvert y col., 1982)

En el TVT espontáneo en fase progresiva de crecimiento tumoral, se establece una respuesta leucocitaria ya que, en el estroma tumoral, se ha observado la presencia de abundantes vasos

* Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias,
Universidad de Chile.
Casilla 2, Correo 15 Santiago, Chile.

** Dpto. Patología Veterinaria,
Facultad de Medicina Veterinaria,
Universidad Nacional de Cajamarca, Perú.

Financiado en parte por Fondecyt 1970194

sanguíneos (Oduye y col., 1973; Yang y Jones, 1973), los que a menudo están rodeados de linfocitos y células plasmáticas diseminadas (Oduye y col., 1973; McEnyee y Nielsen, 1976; Ivoghli, 1977) y ocasionalmente macrófagos y polimorfonucleares neutrófilos (Hall y col., 1976; Otomo y col., 1981)

En improntas de TVT, en fase regresiva inducida por tratamiento quimioterapéutico, se ha descrito un incremento de esos elementos celulares (con excepción de los eosinófilos) y una disminución de las células tumorales, las que a menudo muestran marcada vacuolización, como consecuencia de degeneración celular.

El tratamiento quimioterapéutico de TVT con sulfato de la vincristina conduce, en un alto porcentaje, a remisión total de la neoplasia. Esta droga es un alcaloide obtenido de la planta *Vinca rosea* que actúa a nivel de la fase M del ciclo celular bloqueando, específicamente, la síntesis de tubulina, impidiendo así, la formación del huso mitótico (Adams y col., 1981) y por consiguiente, la proliferación celular.

El interés de este trabajo fue caracterizar el comportamiento de la respuesta leucocitaria intraneoplásica durante la regresión tumoral inducida con Vincristina y establecer si el carácter de esta respuesta es predominantemente de tipo inflamatorio inespecífico o de base inmune.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron 10 hembras y 9 machos caninos, sexualmente maduros, de diferente edad y raza. En todos ellos, se diagnosticó clínicamente la ocurrencia natural de TVT sólo en genitales. A todos los pacientes se les administró sulfato de vincristina (Vincristina SulfatoR Pharmachemie B.V. Holland) por vía intravenosa, cada 7 días, de 0,03 mg/m², diluida en agua bidestilada, hasta lograr la regresión completa del tumor.

De todos los pacientes se obtuvieron muestras para confirmar el diagnóstico y evaluar el comportamiento de las células tumorales e infiltrativas, mediante citología e histopatología, antes y después de someterlos a quimioterapia. Para el examen citológico, los frotis fueron fijados en metanol y teñidos con Giemsa

(González y col., 1984). Las biopsias tumorales se fijaron en solución de formaldehído al 10%, durante 24 a 72 horas y se incluyeron en parafina, de acuerdo a las técnicas histológicas convencionales; se obtuvieron cortes de 5µm de grosor y se tiñeron con hematoxilina y eosina (H-E) (López y col., 1980).

En cada muestra citológica e histopatológica se realizó un recuento de 500 células totales y se obtuvo la relación porcentual entre las células de TVT y las infiltrativas, a las que también se les hizo un recuento diferencial.

Se efectuó un seguimiento clínico de hasta 6 meses verificando, que el paciente no presentó recidivas. Los resultados obtenidos se procesaron estadísticamente en el programa computacional Epiinfo versión 5,0 utilizando el método no paramétrico de Wilcoxon de rangos pareados y prueba de Z (Melgar, 1980).

RESULTADOS

La regresión tumoral, en la mayoría de los pacientes, fue total a los 21 días post-quimioterapia. El número de dosificaciones promedio, con vincristina, hasta obtener la reducción tumoral completa fue de 3,2 con rangos de 2 a 6 tratamientos.

Los caninos, en su mayoría, manifestaron neutropenia marcada luego de la primera y segunda terapia y sólo dos caninos experimentaron vómitos. En las áreas correspondientes a la lesión tumoral se observaron zonas cicatriciales de color gris-parduzco.

Citología

En todos los frotis de TVT progresivo, previo al tratamiento quimioterapéutico, se observó la presencia de numerosas células neoplásicas exfoliadas individualmente, de tamaño variable, forma redondeada u ovalada, con escaso citoplasma vacuolado y mal definido, destacan grandes núcleos redondos de cromatina laxa con nucléolos centrales prominentes, presencia variable de mitosis. La mayoría de las preparaciones presentó fondo hemorrágico e infiltración leucocitaria (Fig. 1).

En las improntas con remisión tumoral, se constató la presencia de muchas células

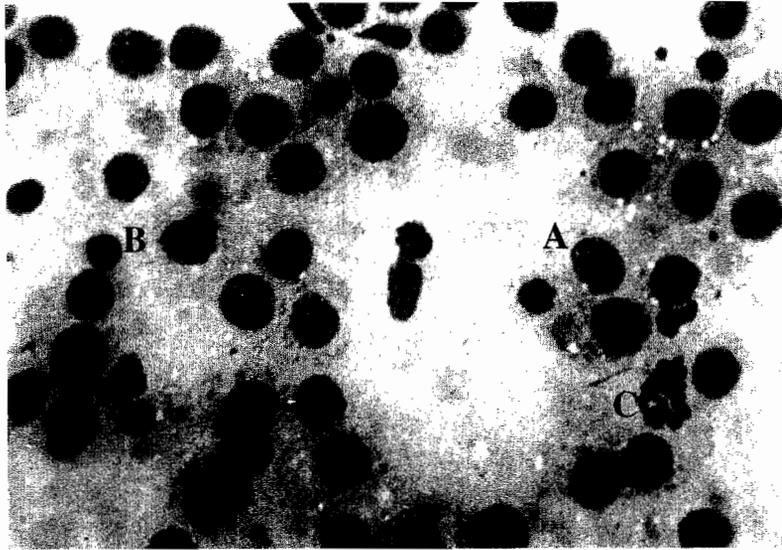


Figura 1.
 Frotis de tumor en fase progresiva, previo tratamiento, mostrando numerosas células de TVT(A) y algunos leucocitos, especialmente linfocitos (B) y PMNneutrófilos (C). Giemsa. 400X.

Figure 1.
 Progressive growth tumor smear showing several TVT cells (A) and some leucocytes, especially lymphocytes (B) and neutrophils (C). Giemsa stain. 400X.

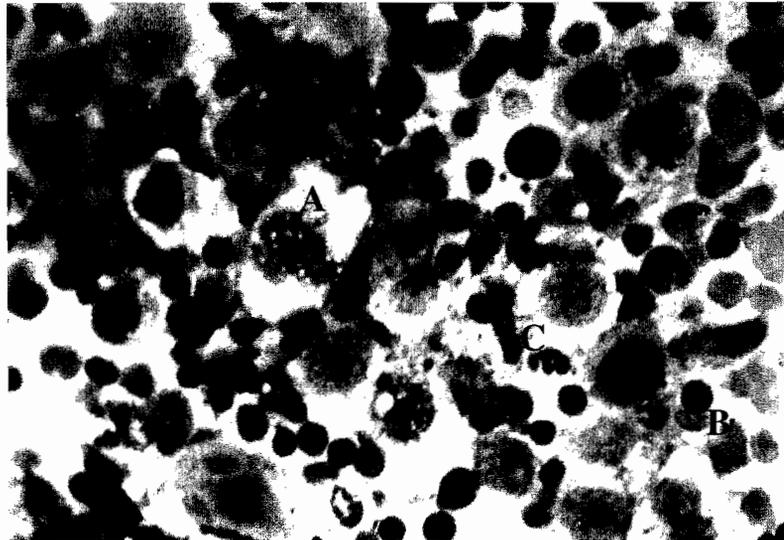


Figura 2.
 Frotis de tumor en fase regresiva pos quimioterapia mostrando células de TVT (A) en proceso degenerativo con marcada vacuolización y numerosos leucocitos, especialmente linfocitos (B) y escasos PMNneutrófilos (C). Giemsa. 400X.

Figure 2.
 Regressive growth tumor smear showing TVT cells (A) in degenerative stage with marked cytoplasm vacuolization. Predominance of lymphocytes (B) and presence of few neutrophils (C). Giemsa stain. 400X.

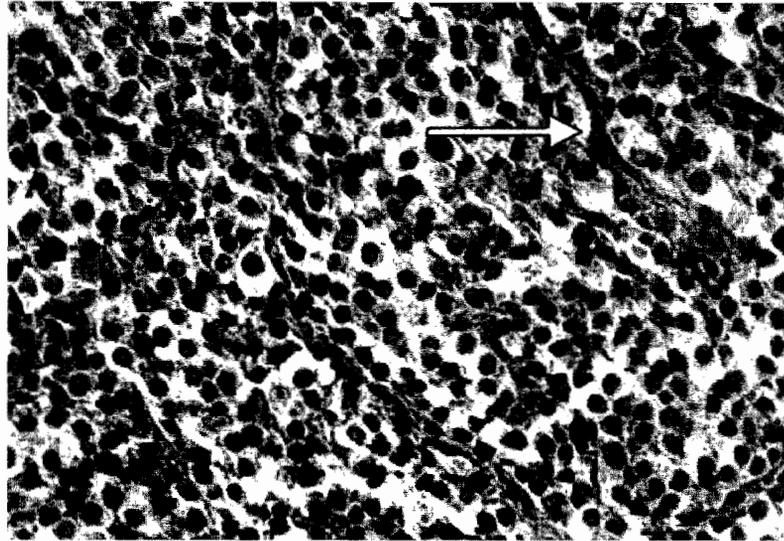


Figura 3.
Cortes histológicos de TVT en estado progresivo, sin quimioterapia. Presencia de células tumorales rodeadas por finos haces de colágeno (flecha), escasa infiltración leucocitaria Tinción H&E. (200 X)

Figure 3.
Tissue sections of TVT in progressive growth before chemotherapy. Presence of tumor cells surrounded by thin collagen bundles (arrow) and scarce leukocyte infiltration. H&E stain. (200 X)

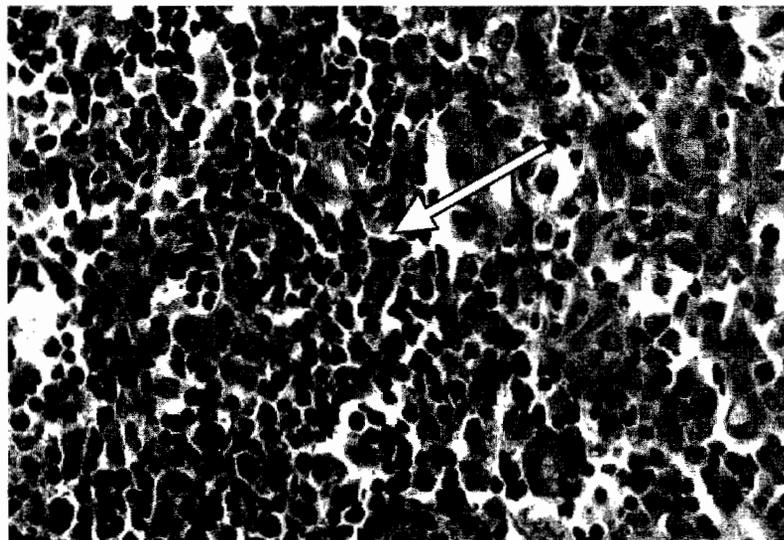


Figura 4.
Cortes histológicos de TVT en regresión mayor del 50% por efecto de quimioterapia. Marcado aumento de células linfocitarias infiltrativas (flecha). Tinción H. & E. 200X.

Figure 4.
Tissue sections of TVT in regressive growth (>50%) after chemotherapy. Marked increase of infiltrative lymphocytes (arrow). H&E stain. (200 X)

**DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CELULAS TUMORALES Y LEUCOCITARIAS
INFILTRATIVAS EN IMPRONTAS DE TUMOR VENEREO TRANSMISIBLE
ANTES Y DESPUES DE QUIMIOTERAPIA**

**CUADRO
N° 1**

**DISTRIBUTION OF TUMORAL AND INFILTRATIVE LEUCOCYTES
CELLS IN TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR
BEFORE AND AFTER CHEMOTHERAPY**

| TIPOS CELULARES | % DE CELULAS EN FAS PROGRESIVA | % DE CELULAS EN FASE REGRESIVA | | |
|--------------------|--------------------------------------|--------------------------------|-----------------|---|
| | | hasta 50% | mayor 50% | |
| TUMORAL | 74,7 ± 15,6 (a) | 51,7 ± 22,1 (b) | 37,0 ± 28,3 © | a vs b p < 0,01 a vs c p < 0,01 b vs c p < 0,05 |
| LINFOCITOS | 7,0 ± 4,7 (a) | 33,7 ± 23,8 (b) | 35,6 ± 23,8 (b) | a vs b p < 0,01 b vs b p > 0,05 |
| NEUTROFILOS | 18,3 ± 16,0 (a) | 14,5 ± 20,0 (a) | 26,6 ± 22,5 (a) | a vs a p > 0,05 |
| n | 19 | 19 | 7 | |

n = número de animales

**DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CELULAS TUMORALES Y LEUCOCITARIA
INFILTRATIVAS EN CORTES HISTOLOGICOS DE TUMOR VENEREO
TRANSMISIBLE ANTES Y DESPUES DE QUIMIOTERAPIA**

**CUADRO
N° 2**

**DISTRIBUTION OF TUMORAL AND INFILTRATIVE
LEUCOCYTES CELLS IN TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR
TISSUE SECTIONS BEFORE AND AFTER CHEMOTHERAPY**

| TIPOS CELULARES | % DE CELULAS EN FAS PROGRESIVA | % DE CELULAS EN FASE REGRESIVA | | |
|--------------------|--------------------------------------|--------------------------------|-----------------|---|
| | | hasta 50% | mayor 50% | |
| TUMORAL | 77,7 ± 6,4 (a)* | 59,0 ± 6,4 (b) | 33,1 ± 14,0 © | a vs b Z < 0,01 a vs c Z < 0,01 b vs c Z < 0,05 |
| LINFOCITOS | 8,7 ± 2,8 (a) | 27,0 ± 7,0 (b) | 41,3 ± 19,9 (b) | a vs b Z < 0,01 b vs b Z > 0,05 |
| NEUTROFILOS | 13,5 ± 5,7 (a) | 13,0 ± 5,4 (a) | 24,7 ± 12,4 (a) | a vs a Z > 0,05 |
| n | 19 | 19 | 7 | |

n = número de animales * = letras distintas indican diferencia estadística significativa

tumorales con cambios degenerativos de leves a severos, de formas irregulares, tumefacción, núcleos vesiculosos con nucléolos prominentes y abundante citoplasma intensamente vacuolado. La infiltración leucocitaria fue más marcada que la observada en la fase progresiva (Fig. 2).

Como se observa en la Tabla 1, el recuento de células tumorales en las preparaciones citológicas antes de la quimioterapia, fue de 74,7% en promedio, valor que disminuyó significativamente después del tratamiento ($p < 0,01$). En improntas de tumores, cuya regresión alcanzó hasta un 50 de reducción, el porcentaje de células neoplásicas, fue de 51,7% y, en aquellas en que la regresión superó el 50%, fue de 37,0%, siendo esta diferencia significativa ($p < 0,05$).

Al comparar los porcentajes de linfocitos de las muestras de TVT antes y después del tratamiento, se pudo constatar que estas células aumentaron significativas ($p < 0,01$) después de la regresión, inducida por quimioterapia. Sin embargo, no hubo diferencias ($p > 0,05$) entre los dos grupos de remisión. (Cuadro 1).

Los porcentajes de polimorfonucleares neutrófilos, en las improntas, correspondieron al 18,3%, 14,5% y 26,6%, para las perros con TVT antes de la quimioterapia, con una regresión hasta del 50% y con regresión de la masa tumoral mayor del 50%, respectivamente, como se ve en la Tabla 1. Estadísticamente todos los grupos fueron iguales.

Histopatología:

Las preparaciones histopatológicas, de tumores sin tratamiento, revelaron la presencia de grupos compactos de células de una morfología similar a la observada en el examen citológico. También se observó tejido conectivo en escasa cantidad y pequeños focos aislados de infiltración leucocitaria, principalmente de ubicación perivasculares (Fig.3).

Luego de la quimioterapia, las células neoplásicas mostraron cambios degenerativos y rodeadas de grandes focos de células infiltrativas (Fig. 4). A medida que la regresión tumoral progresó, el tejido neoplásico fue reemplazado por tejido conectivo (fibrosis) y la infiltración linfocitaria persistió (Fig. 5).

En la Tabla 2 se muestra la distribución porcentual de células tumorales y leucocitarias infiltrativas en cortes histológicos de TVT, antes y después de la quimioterapia. El porcentaje promedio de las células tumorales, antes del tratamiento, fue de 77,7%, el que disminuyó significativamente ($p < 0,01$) después de la quimioterapia. En la fase de remisión tumoral, el valor más alto (58,5%) de células neoplásicas se registró cuando la reducción alcanzó el 50%, siendo esta diferencia significativamente mayor ($p < 0,05$) que en aquellos cortes en que la regresión superó el 50%.

Como se ve en el Cuadro 2, los linfocitos aumentaron en forma significativa ($p < 0,01$), después de la regresión inducida por quimioterapia, al compararlos con las muestras de TVT antes del tratamiento. Sin embargo, en los dos grupos de remisión posquimioterapia la proporción de infiltración linfocitaria fue similar ($p > 0,05$). Los porcentajes promedio de los polimorfonucleares neutrófilos correspondieron al 13,5%, 13,0% y 24,7%, para los perros con TVT progresivo, con regresión hasta del 50% y con regresión de la masa tumoral mayor del 50%, respectivamente y no hubo diferencias entre los grupos estudiados.

Las células plasmáticas, así como la presencia de macrófagos, no fue hallazgo muy frecuente en los cortes de tumores con y sin tratamiento con vincristina.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran, que la vincristina es una eficiente modalidad terapéutica en el tratamiento de TVT y que, además de ser efectiva, es práctica, económica y con pocos efectos colaterales (Brown y col., 1980; Calvert y col., 1982; Booth, 1994; Weller, 1994; Jeglum, 1994).

El número de dosificaciones totales con vincristina hasta obtener la reducción tumoral completa (3,2 con rangos de 2 a 6 tratamientos), coincide con los resultados obtenidos por otros autores (Brown y col., 1980; Calvert y col., 1982; Booth, 1994; Weller, 1994). Esta remisión se debería a la acción citotóxica de la droga y a la inhibición de la proliferación de las células

tumorales por el impedimento que se produzcan mitosis. (Brown y col., 1980; Booth, 1994; Jeglum, 1994).

Algunos efectos colaterales como neutropenia y vómitos, observados en este estudio, concuerdan con los descritos por Brown y col. (1980) y Calvert y col. (1982). Sin embargo, no se observaron otros efectos colaterales descritos (Booth, 1994; Weller, 1994), tales como, irritación perivascular, anorexia leve, constipación y signos neurológicos. Esto debido, probablemente, a la baja concentración, número de dosificaciones por animal y vía de aplicación de la droga utilizada.

El aumento significativo, observado en este estudio, en las proporciones de linfocitos infiltrativos durante la regresión del TVT, inducida por la quimioterapia, es compatible con lo informado en TVT inducido experimentalmente, donde también encontraron una intensa respuesta inmune celular durante la misma fase tumoral (Trail y Yang, 1985). Estos cambios indicarían una relación directa con el estado de regresión tumoral. Esta observación coincide con Hill y col. (1984), quienes establecen, que la infiltración linfocitaria está más correlacionada con el estado de regresión, que con la edad o volumen de la masa tumoral

Estudios *in vitro*, han demostrado que la destrucción de células de TVT ocurre a través de la acción directa de linfocitos citotóxicos y de mecanismos de citotoxicidad dependiente de anticuerpos (ADCC) (Cohen, 1979; Cohen, 1980).

En caninos, con TVT progresivo, la pérdida de la reactividad de inhibición leucocitaria (LAI) sugiere la presencia de significativos niveles de factores bloqueadores séricos específicos, capaces de anular tal reactividad *in vitro* e *in vivo*. En contraste, una significativa reactividad LAI, en tumores regresivos, asegura la presencia de un mecanismo celular efector, asociado con regresión espontánea de trasplantes tumorales (Harding y Yang, 1981).

Por otra parte, los anticuerpos a menudo facilitan el crecimiento tumoral ya que pueden, eventualmente, bloquear la inmunidad celular (Trail y Yang, 1985). En TVT, se ha demostrado la aparición, ya a los 7 días pos inoculación, de

anticuerpos específicos de clase IgG en suero (Epstein y Bennett, 1974; Cohen, 1979). Estos anticuerpos, podrían contribuir a bloquear la respuesta de linfocitos citotóxicos en la fase progresiva de la neoplasia.

Aunque las neoplasias son accesibles a los linfocitos éstas, generalmente, logran evadir la destrucción inmunológica debido, probablemente, a la capacidad de la célula neoplásica de eliminar, desde su membrana celular, antígenos que pudieran llegar a bloquear la respuesta inmune celular (Cohen, 1980). Esto sugiere, que la respuesta inmune antitumoral no sería eficiente frente a grandes masas de tumor.

Como lo señalan los resultados citológicos e histopatológicos, del presente trabajo, las dosis utilizadas de Vincristina mostraron no parecen estar asociadas a un efecto deteriorante sobre la respuesta inmune celular local de los animales. Por esto, postulamos que la reducción de la masa tumoral del TVT, obtenida a través la quimioterapia con Vincristina, favorecería el establecimiento de la respuesta inmune celular local y por consiguiente la remisión de la neoplasia.

RESUMEN

Se evaluó la respuesta leucocitaria local en el tumor venéreo transmisible (TVT) en fase progresiva de crecimiento tumoral y en regresión inducida por quimioterapia, se estudiaron 19 caninos con TVT de ocurrencia natural, a los cuales se les administró Vincristina, por vía intravenosa, en dosis de 0,03 mg/kg cada 7 días, hasta obtener la remisión completa del tumor. El recuento de células tumorales y leucocitarias se realizó en improntas teñidas con Giemsa y en cortes histológicos teñidos con HE.

En las improntas de TVT progresivo, el promedio de células linfocitarias fue de 7,0% y aumentó en forma significativa ($p < 0,01$) durante la remisión tumoral, alcanzando valores promedios de 33,7% en aquellos casos con regresión de hasta 50%, y de 35,6% en los casos de regresión sobre 50%.

Un resultado similar se obtuvo en cortes histológicos donde se registró un promedio de 8,7% células linfocitarias infiltrativas en TVT progresivo, valor que aumentó significativamente ($p < 0,01$) durante la fase de regresión,

(27% y 41,3% para las remisiones de hasta el 50% y más del 50% respectivamente). Los polimorfonucleares no presentaron diferencias significativas entre los grupos estudiados.

Los resultados sugieren que el protocolo de tratamiento con vincristina utilizado no afectaría a los leucocitos, por lo que se podría inferir, que como consecuencia del tratamiento quimioterapéutico la masa tumoral se reduce en volumen, disminuyendo también el efecto de sus mecanismos bloqueadores, así la respuesta inmunitaria se vería facilitada, favoreciendo la remisión tumoral

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, E.; CARTER, L.; SAPP, W. 1981. Cytogenetic observations on the canine venereal tumor in long-term culture. *Cornell Vet* 71 (3): 336-346.
- AMBER, E.; HENDERSON, R. 1982. Canine transmissible venereal tumor: Evaluation of surgical excision of primary and metastatic lesions in Zaria-Nigeria. *J Am Anim Hosp Assoc* 18(2): 350-352.
- BESCHORHER, W.; HESS, A.; NERENBERG, S.; EPSTEIN, R. 1977. Characterization of serum blocking and inhibition of canine venereal tumors. *Proc Am Assoc Cancer Res* 18: 187.
- BOOTH, M.J. 1994. Canine transmissible venereal tumour and ovarian papillary cystadeno-carcinoma in a bitch. *J Small Anim Pract* 35: 39-42.
- BROWN, N.; CALVERT, C.; MacEWEN, G. 1980. Chemotherapeutic management of transmissible venereal tumors in 30 dogs. *J Am Vet Med Assoc* 176(10): 983-986.
- CALVERT, C.; LEIFER, C.; MacEWEN, G. 1982. Vincristine for treatment of transmissible venéreo al tumor in the dog. *J Am Vet Med Assoc* 181(2): 163-164.
- COHEN, D. 1979. Cell-mediated cytotoxicity to the transmissible venereal tumor of the dog. *Israel J Med Sci* 15(2): 176.
- COHEN, D. 1980. In vitro cell-mediated cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity to the transmissible venereal tumor of the dog. *J Natl Cancer Inst* 64(2): 317-321.
- EPSTEIN, R. y BENNETT, T. 1974. Histocompatibility typing and course of canine venereal tumors transplanted into unmodified random dogs. *Cancer Res* 34: 788-793.
- FLORES, E.; DIEZ, X.; DIAZ, A.; URCELAY, S.; CATTANEO, G. 1993. Comparación de dos períodos (1981-1985 y 1986-1988) del Registro de Neoplasias del Servicio de Cirugía de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. *Av. Cs. Vet.* 8(1): 61-65.
- GONZALEZ, C.; FLORES, E.; DIAZ, M.; SEGOVIA, P. 1984. Citología diagnóstica. IV. Caracterización citológica del tumor venéreo transmisible del canino. V Congreso de Med. Vet. Valdivia, Chile.
- HALL, W.; NIELSEN, S.; McENTEE, K. 1976. Tumours of the prostata and penis. *Bull WHO* 53(2/3):217-226.
- HARDING, M. y T.J. YANG. 1981. Canine transmissible venereal sarcoma: Leucocyte adherence inhibition (LAI) Reactivity of various limphoid tissues of dogs with tumors at different stages of growth. *Int J Cancer* 27 (3): 349-356.
- HERNANDEZ, P.; GONZALES, A.; DE LA VEGA, G. 1973. Ultraestructural and histochemical pattern of regressing canine venereal lymphoma after cyclophosphanide treatment. *J Natl Cancer Inst* 51(4): 1187-1196.
- HIGGINS, D.A. 1966. Observations on canine transmissible venereal tumour as seen in the Bahamas. *Vet Rec* 79(3):67-71.
- HILL, D.; YANG, T.; WACHTEL, A. 1984. Canine transmissible venereal sarcoma: tumor cell and infiltrating leucocyte ultraestructural at different growth stage. *Vet Pathol* 21: 39-45.
- IDOWU, A.L. 1984. A retrospective evaluation of four surgical methods of treating canine transmissible venereal tumor. *J Small Anim Pract* 193-198.

- IVOGHLI, B. 1977. Canine transmissible venereal tumor in Iran. *Vet Pathol* 14(3): 289-290.
- JEGLUM, K.A. 1994. Principios de la terapia anticancerosa. Adaptado por Villouta, G. En: *Compendio del Curso Internacional de Oncología Veterinaria*. Villouta, G. y González, C. editores, Universidad de Chile. pp 26-30.
- LÓPEZ, M.; LEYTON, C.; GRAFF, M. 1982. *Técnicas de histología y citología*. 2ª edición, Universidad de Chile. Facultad de Medicina. Chile. pp.242
- MELGAR, M. 1980. *Manual de Estadística de Técnicas Simplificadas*. Manuel Melgar. editor. Universidad San Carlos de Guatemala. 265 p.
- McENTEE, K.; NIELSEN, S. 1976. Tumors of the female genital tract. *Bull WHO* 53(2/3): 217-226.
- MEYER, D.; FRANKS, P. 1986. Clinical Cytology. Part 2: Cytologic characteristics of tumors. *Mod Vet Pract* 67 (5): 440-445.
- ODUYE, O.; IKEDE, B.; ESURUOSO, G.; AKPOKODJE, J. 1973. Metastatic transmissible venereal tumour in dogs. *J Small Anim Pract* 14: 625-637.
- OTOMO, K.; KOIKE, T.; KUDO, T.; SAKAI, T. 1981. Histological and ultrastructural findings of regressing canine transmissible venereal tumor after repeated transplantation. *J Jpn Vet Sci* 43(6): 823-832.
- PEREZ, L.; VERGARA, K.; VENTURA, M.; LETELIER, I. 1978. Tratamiento quirúrgico y quimioterápico del tumor venéreo transmisible de localización nasal en caninos. *Arch Med Vet* 10(2): 149-152.
- TRAIL, P.A. y T.J. YANG. 1985. Canine transmissible venereal sarcoma: Cuantification of T-lymphocyte populations during progressive growth and spontaneous tumor regression. *J Natl Cancer Inst* 74(2): 461-467.
- WEIR, F.; M. POND; J. DUNCAN y J. POLZIN. 1978. Extragenital occurrence of transmissible venereal tumor in the dog: literature review and case reports. *J Am Anim Hosp Assoc* 14(4): 532-536.
- WELLER, R.E. 1994. Complications of anticancer chemotherapy. En: *Compendio del Curso Internacional de Oncología Veterinaria*. Villouta, G. y González, C. editores, Universidad de Chile. pp 31-38, 86-87.
- YANG, T.; JONES, J. 1973. Canine transmissible venereal sarcoma: transplantation studies in neonatal and adults dogs. *J Natl Cancer Inst* 51(6): 1915-1918.