

# Zaburzenia cytogenetyczne w nowotworach komórek hemolinfatycznych u psów

Rafał Sapieryński, Tomasz Huć\*

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Mechanizm udziału mutacji genetycznych i aberracji chromosomalnych w onkogenezie jest rozmaity. Do najpowszechniejszych zaburzeń sekwencji materiału genetycznego należą:

- mutacje punktowe (zmiana jednej zasady w sekwencji genu),
- delecje – utrata fragmentu chromosomu,
- inwersje – odwrócenie sekwencji zasad,
- addycje, duplikacje i multiplikacje – dodanie, podwojenie i wielokrotnienie kopii genu lub genów,
- translokacje – przeniesienie genu z jednej pozycji na inną.
- liczbowe anomalie chromosomów – aneuploidie – zmniejszenie lub zwiększenie liczby chromosomów w danej parze – monosomia, trisomia itd. oraz poliploidie – zwiększenie zestawu chromosomów – triploidia, tetraploidia itd.

W onkologii medycznej w przypadkach rozrostów obejmujących szpik kostny oraz limfocyty badania cytogenetyczne są powszechnie stosowane, w pierwszej kolejności w celach diagnostycznych, a ponadto służą do przewidywania reakcji na zastosowane leczenie, co więcej: pozwalają zaplanować takie leczenie dla konkretnego pacjenta. W onkologii weterynaryjnej ta technika nie jest, niestety, powszechna, co ma związek z czaso- i kosztochłonnością, dlatego też jak na razie ma niewielkie znaczenie praktyczne (1). Co więcej, ocena kariotypu psa jest trudna z dwóch zasadniczych powodów. Po pierwsze, liczba chromosomów tego gatunku zwierząt jest stosunkowo wysoka ( $2n=78$ ), a po drugie (co jest ważniejsze) większość chromosomów morfologicznie wygląda prawie tak samo, przez co ich identyfikacja jest utrudniona. Analizę cytogenetyczną z zastosowaniem technik klasycznych w onkologii weterynaryjnej wykonuje się już od 30 lat (2, 3, 4). Dzięki wprowadzeniu technik hodowli komórek psich chłoniaków i białaczek możliwe jest prowadzenie analizy cytogenetycznej, która pozwala na ustalenie zaburzeń struktury i liczby chromosomów (5). Starsze badania przeprowadzone na psach z różnymi typami białaczek wykazały powszechne występowanie aberracji chromosomalnych,

w szczególności aneuploidię (głównie hiperploidię oraz tetraploidię) i obecność dodatkowych chromosomów metacentrycznych. Liczba chromosomów wahała się od 54 do 156, chociaż u większości pacjentów była ona w normie (2). Jednak w badaniach tych nie wykazano obecności specyficznych nieprawidłowości w zależności od typu białaczki, a także nie wykazano predykcyjnej wartości takiej analizy (2).

Porównawcze badania cytogenetyczne z użyciem techniki FISH (fluorescent in situ hybridization – fluorescencyjna hybridyzacja in situ) wykazały, że niektóre z aberracji chromosomalnych, zarówno strukturalnych, jak i liczbowych stwierdzanych w przypadkach nowotworów komórek hemolinfatycznych u psów są identyczne z tymi rozpoznawanymi u ludzi (6). Wykrycie specyficznych nieprawidłowości w materiale genetycznym pozwala, przynajmniej potencjalnie, na bardziej precyzyjną charakterystykę rozrostu (bardziej precyzyjną diagnozę), a tym samym pozwala sprecyzować rokowanie, a także dopasować terapię do indywidualnego przypadku (3, 7, 8). Badania cytogenetyczne pozwalają wykazać obecność wyraźnych różnic dotyczących genomu w obrębie komórek takich samych rozrostów pod względem cytomorfologicznym. Przykładowo, opisano przypadki ostrej białaczki limfoblastycznej u dwóch psów, które pomimo podobnego obrazu cytologicznego charakteryzowały się odmiennym kariotypem. Jeden przypadek dotyczył 4-miesięcznego szczeniaka rasy owczarek niemiecki, a drugi 7-letniego boksera, co według autorów pracy może sugerować odmienny patomechanizm w różnych podtypach tej samej białaczki (3). Wykazano, że analizę cytogenetyczną w przypadku chłoniaków u psów można z powodzeniem przeprowadzić, poddając procedurze krew obwodową zamiast materiału z węzłów chłonnych objętych rozrostem, co wydaje się być przydatne w przypadku, gdy nie ma możliwości pobrania materiału tkankowego do badania (8). Badanie obejmujące 25 psów z chłoniakiem wykazało pełną zgodność pod względem występowania aberracji chromosomalnych, bez

## Cytogenetic abnormalities in hemolymphatic canine tumors

Sapieryński R., Huć T., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article aims at the presentation of cytogenetic disorders in hemolymphatic tumors in dogs. Numerous cytogenetic alterations, typical for hematopoietic diseases, have been described in humans. However, only few reports were published on the cytogenetic analysis of hematopoietic tumors in dogs, despite high prevalence of these neoplasms. In one previous study, the conventional cytogenetic techniques revealed chromosomal aberrations in lymphoma cells, including aneuploidy and chromosomal translocations. Translocation between the ABL and BCR genes (Philadelphia chromosome; Ph), was observed in approximately 95% of chronic myelogenous leukemia cases in humans. Equivalent of Ph chromosome, called Raleigh chromosome, was recognized in dogs with chronic monocytic leukemia and with at least one case of acute myelogenous leukemia. It seems that introduction of the new, easy and more available test for assessment of cytogenetic alterations may allow to characterize better hematopoietic tumors and probably to introduce more advanced individual therapeutic strategies for veterinary patients.

**Keywords:** cytogenetics, dog, leukemia, lymphoma, Philadelphia chromosome, translocation.

względem na to, czy materiał pobrano z zajętego węzła chłonnego, krwi obwodowej, czy aspiratów szpiku kostnego (8).

Pomimo potencjalnych korzyści, jak dotąd nie wykazano przydatności prognostycznej oceny kariotypu komórek rozrostów tkanki hemolinfatycznej u psów, jednak uważa się, że wprowadzanie coraz to nowych metod badawczych na poziomie genomu pozwoli w przyszłości na takie ich zastosowanie (9). Różnorodne zmiany cytogenetyczne (kariotypowe) zostały wykryte w przypadku wielu rozrostów nowotworowych wywodzących się z komórek układu hemolinfatycznego (układu obejmującego komórki linii limfoidalnej – limfocytów oraz linii mieloidalnej, czyli granulocytów, erytrocytów, linii monocytarnej i płytkowej).

## Aberracje chromosomalne a nowotworzenie

Uznaje się jako pewnik, że poza zaburzeniami ekspresji genów (zaburzenia epigenetyczne – przebiegające bez zmiany sekwencji materiału genetycznego) podstawą nowotworzenia są zaburzenia genetyczne wyrażające się zmianami dotyczącymi sekwencji zasad w obrębie genów. Geny zaangażowane w nowotworzenie można

\* Student VI roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

podzielić na trzy podstawowe typy: protoonkogeny/onkogeny, geny supresorowe oraz geny mutatorowe.

### Zmiany obejmujące protoonkogeny

Protoonkogeny to geny występujące w prawidłowych komórkach, których produkty kontrolują procesy proliferacji, różnicowania, dojrzewania i migracji. Zmiany dotyczące struktury, lokalizacji i liczby kopii protoonkogenów prowadzą do powstania onkogenów różniących się od tych pierwszych funkcją, aktywnością czy strukturą (choć nie zawsze tak jest). W części przypadków funkcja produktu białkowego takiego genu nie jest zmieniona, ale zwiększa się jego ekspresja, dlatego że zostanie on przeniesiony w inne miejsce chromosomu (translokacja, np. w obszar promotora innego genu, który podlega stałej ekspresji) – konsekwencją tego będzie nagromadzenie prawidłowego produktu białkowego o właściwościach promowania podziałów mitotycznych, co przełoży się na wzrost aktywności proliferacyjnej komórek nowotworowych. W przypadku innych zmian w obrębie protoonkogenu (mutacje punktowe, delecje, inwersje) powstaje produkt o innej aktywności niż produkt prawidłowy, często charakteryzujący się hiperaktywnością. Produktem zmienionego protoonkogenu może być też białko o nieprawidłowej strukturze przestrzennej. Jeżeli takie białko wchodzi w skład receptora dla czynników wzrostowych, to zmiana konformacji cząsteczki białkowej może powodować, że receptor ten jest stale aktywowany, nawet bez udziału ligandu, jakim jest specyficzny czynnik wzrostu. W innych przypadkach powielenie genów (duplikacje, multiplikacje) w obrębie zmienionego chromosomu skutkuje wytworzeniem dodatkowych kopii protoonkogenu/onkogenu; niekiedy liczba kopii danego onkogenu w materiale genetycznym komórek nowotworowych wynosi do kilku tysięcy, co skutkuje wysoką aktywnością jego produktu i nasileniem proliferacji.

### Zmiany obejmujące geny supresorowe oraz geny mutatorowe

Mutacje i aberracje chromosomalne mogą dotyczyć genów supresorowych (produkty tych genów w warunkach prawidłowych chronią komórki przed transformacją nowotworową) oraz genów mutatorowych (produkty tych genów są zaangażowane w naprawę uszkodzonego materiału genetycznego). W takich przypadkach zazwyczaj dochodzi do zmiany sekwencji lub całkowitej utraty genu, co skutkuje powstaniem nieprawidłowej formy białkowego produktu, zupełnym brakiem produktu białkowego. To z kolei skutkuje osłabieniem lub utratą możliwości wykrycia uszkodzenia materiału genetycznego i/lub

jego naprawy, a w konsekwencji prowadzi do transformacji nowotworowej. W przypadku mutacji punktowych, delecji, insercji lub translokacji powstający produkt białkowy wykazuje obniżoną aktywność lub tej aktywności jest całkowicie pozbawiony.

### Zaburzenia cytoogenetyczne w chłoniakach u psów

Pomimo powszechności występowania i rozpoznawania chłoniaków u psów, niewiele jest dostępnych informacji odnośnie do zaburzeń cytoogenetycznych stwierdzanych w komórkach tych nowotworów. W pracy Thomas i wsp. (10) wykazano, że chociaż generalnie powszechne, to aberracje chromosomalne w komórkach chłoniaków mają mniejsze nasilenie niż np. w komórkach psich kostniakomięsaków czy guzów pochodzenia histiocytarnego. W starszych badaniach do najpowszechniej opisywanych nieprawidłowości w komórkach chłoniaków u psów zaliczono aneuploidię, a w szczególności trisomię chromosomów 1, 2, 13, 34 i 36, tetrasomię chromosomu 9 oraz utratę chromosomu 13, 29, i 36 (11, 12). Nie obserwowano jednak zależności pomiędzy tymi nieprawidłowościami chromosomalnymi w komórkach nowotworowych a immunofenotypem komórek nowotworowych, typem histologicznym rozrostów, ani, co szczególnie istotne z punktu widzenia klinicznego, czasem przeżycia pacjentów poddanych chemioterapii (11).

W analizie przeprowadzonej przez Hahn i wsp. (13) na 15 z 61 poddanych ocenie psów z chłoniakiem stwierdzono klonalną trisomię chromosomu 13. Co interesujące, wykazano także, że u psów z tym typem aberracji czas trwania pierwszej remisji oraz całkowity okres przeżycia po chemioterapii były dłuższe niż u pacjentów z innymi typami nieprawidłowości genetycznych (13). U psa z chłoniakiem immunoblastycznym wykazano między innymi trisomię chromosomu 8. Psi chromosom 8 wykazuje znaczne podobieństwo do chromosomu 14 człowieka. W genomie człowieka na długim ramieniu chromosomu 14 w pozycji q32 znajduje się onkogen *Bcl-1*. W wielu przypadkach nowotworów tkanki hemolinfatycznej (w tym chłoniaków i białaczek szpikowych) u ludzi obserwuje się trisomię chromosomu 14 lub też translokację fragmentu tego chromosomu zawierającego onkogen *Bcl-1*.

Oprócz innych funkcji biologicznych, białka z grupy Bcl-2 indukują apoptozę komórek (między innymi z uszkodzonym DNA). U ludzi translokacja obejmująca region zawierający gen kodujący białko z grupy Bcl-2 często leży u podstaw onkogenezy, bowiem dochodzi w takich przypadkach do supresji lub całkowitego zahamowania apoptozy w komórkach z uszkodzonym materiałem genetycznym – uszkodzony jest gen,

którego produkt uruchamia proces apoptozy komórek (12).

U psa z chłoniakiem limfoblastycznym (chłoniak o wysokiej złośliwości) zidentyfikowano liczne zaburzenia chromosomalne, takie jak utrata chromosomów 11, 30 i 38 oraz wielokrotnienie chromosomu 36. Komórki tego nowotworu charakteryzowały się nietypowym immunofenotypem, bowiem 95% komórek nowotworowych wykazywało jednoczesną ekspresję antygenów powierzchniowych typowych zarówno dla linii T – antygen CD3, jak i linii B – antygen CD79alfa (14). Aberracje numeryczne dotyczące chromosomów 11, 13, 14 i 31 zostały też potwierdzone w komórkach chłoniaków wieloogniskowych metodą mikromacierzową (7).

Przeprowadzona ostatnio szczegółowa analiza 150 przypadków psich chłoniaków z zastosowaniem bardziej precyzyjnych metod badawczych wykazała, że najpowszechniej obserwowane nieprawidłowości były związane ze zwiększeniem liczby kopii w obrębie chromosomów 13 i 31 (14). Zaobserwowano ponadto, że aberracje chromosomalne są bardziej złożone i silniej wyrażone w komórkach chłoniaków T-komórkowych w porównaniu do chłoniaków wydłużających się z komórek B. Mianowicie, w komórkach chłoniaków T-komórkowych (głównie chłoniaków z obwodowych komórek T) stwierdzano powszechnie zarówno zwiększenie liczby kopii genów (szczególnie w obrębie chromosomów 6, 9, 13, 20, 29, 31 i 36), jak i ich zmniejszenie (w obrębie chromosomów 11, 17, 22, 28 i 38). Niestety, jak dotąd nie udało się w sposób jednoznaczny określić, czy obserwowane nieprawidłowości mogą mieć przydatność terapeutyczną, chociaż wydaje się, że analiza cytogenetyczna może przyczynić się do bardziej precyzyjnej charakterystyki chłoniaków u psów (14).

### Zaburzenia cytoogenetyczne w białczkach u psów

Aberracje chromosomalne są często stwierdzane w komórkach białczek u psów, jednak są one raczej rzadko opisywane w literaturze, a ponadto brak jest badań obejmujących duże grupy zwierząt z tymi rodzajami nowotworów. Jedną z powszechniej stwierdzanych nieprawidłowości w komórkach ostrych białczek szpikowych jest trisomia chromosomu 1, która może być zaangażowana w powstawanie rozrostu nowotworowego, jednak, jak wykazano, może też pojawiać się w trakcie progresji procesu z formy przewlekłej w ostrą (15). Z kolei w przypadku przewlekłej białczki mielomonocytarnej również wykryto trisomię, jednak dotyczyła ona głównie chromosomu 7 i była obserwowana aż w 42% komórek nowotworowych (4). Dowiedziono też, że rozrosty

tego samego typu mogą wykazywać zróżnicowanie pod względem aberracji chromosomalnych, co obserwowano na przykładzie ostrych białaczek limfoblastycznych o tych samych cechach cytomorfologicznych (3).

Powszechną nieprawidłowością cytogenetyczną rozpoznawaną w komórkach białaczek jest translokacja BCR-ABL. Translokacja BCR-ABL (określana skrótem: 7/9q+; 22q-) jest obserwowana powszechnie (90–95% przypadków) w komórkach przewlekłej białaczki szpikowej u ludzi, rzadziej (6–30% przypadków) w ostrych białczkach limfoblastycznych u ludzi i wyjątkowo (około 1% przypadków) w komórkach ostrych białczek szpikowych u ludzi. Efektem translokacji jest przeniesienie genu BCR (jego produktem jest kinaza serynowo-treoninowa) z krótkiego ramienia chromosomu 22 pary na długie ramię chromosomu 9 w rejon genu ABL (gen mysiej białaczki Abelsona, którego produktem jest kinaza tyrozynowa). W efekcie tej delecji powstaje gen fuzyjny BCR-ABL, którego produktem jest nieprawidłowa kinaza tyrozynowa BCR-ABL, wykazująca stałą aktywność, co powoduje wzmoczoną aktywność proliferacyjną komórek białaczki, a w dodatku ich uniezależnienie się od czynników wzrostowych.

Gen ABL jest protoonkogenem kodującym białko z rodziny kinaz tyrozynowych, które w prawidłowych komórkach reguluje podziały komórkowe, dojrzewanie i adhezję. Po przyłączeniu się do genu BCR gen ABL ulega stałej aktywacji. Efektem fuzji tych dwóch genów jest też hamowanie naprawy DNA, a więc powstałych mutacji, a dodatkowo upośledzony jest proces apoptozy zmutowanych komórek. Finalnie ta aberracja chromosomalna skutkuje nasiloną proliferacją komórek i pojawieniem się przełomu blastycznego (przejście białaczki przewlekłej w kierunku formy blastycznej, ostrej), który bez odpowiedniego leczenia, lub pomimo niego prowadzi do zgonu (16). Morfologicznym wykładnikiem tej translokacji u ludzi jest wydłużenie chromosomu 9 i skrócenie chromosomu 22, który określa się mianem chromosomu Philadelphia (Ph). U ludzi stwierdzenie obecności chromosomu Ph umożliwia rozpoznanie przewlekłej białaczki szpikowej.

Wykrycie translokacji BCR-ABL jest niezwykle istotne w hematologii medycznej, bowiem warunkuje przebieg choroby, a w szczególności rokowanie. Obecność chromosomu Ph w ostrej białczce limfoblastycznej wiąże się z gorszym rokowaniem, z kolei w przewlekłej białczce szpikowej jest czynnikiem rokowniczo korzystnym. Co więcej, wykrycie obecności chromosomu Philadelphia jest podstawą do wdrożenia terapii celowanej inhibitorami kinazy tyrozynowej, np. imatinib (Glivec®), który w przypadku przewlekłej białaczki szpikowej u ludzi umożliwia uzyskanie całkowitej remisji.

Odpowiednikiem chromosomu Philadelphia występującego w komórkach białaczek człowieka jest chromosom Raleigh wykrywany w komórkach psich białaczek, który powstaje w wyniku translokacji fragmentu chromosomu 26 na chromosom 9, co skutkuje powstaniem genu fuzyjnego BCR-ABL (17). Obecność chromosomu Raleigh była obserwowana w komórkach z ostrej białaczki mieloblastycznej bez dojrzewania (AML-M1) u labradora, ostrej białaczki limfoblastycznej u innego psa oraz w komórkach przewlekłej białaczki szpikowej i przewlekłej białaczki monocytarnej u kolejnych 6 psów (17, 18). Powyższą aberrację obserwuje się umiarkowanie często – zmiany notowano w 17 do 32% przeanalizowanych komórek nowotworowych (17).

W grupie psów z ostrą białczką szpikową w 71% przypadków obserwowano mutacje w obrębie genów kodujących białka FLT3 (jest receptorem o aktywności kinazy tyrozynowej obecnym na komórkach macierzystych szpiku kostnego, jego aktywacja między innymi nasila proliferację komórkową), C-KIT (jest receptorem o aktywności kinazy tyrozynowej, który kontroluje między innymi proliferację komórkową) i RAS, chociaż znaczenie tych mutacji dla patogenezy i przebiegu choroby u psich pacjentów jest na razie nieznanne (9). Mutacje w obrębie genów RAS (*RAS-N*, *RAS-K* i *RAS-H*) obserwowano w większości przypadków ostrych białczek szpikowych i limfoblastycznych u psów (19). Geny RAS (oraz ich zmutowane formy – onkogeny RAS) kodują produkty białkowe, odpowiedzialne za przenoszenie sygnałów z receptorów powierzchniowych komórek do cytoplazmy i jądra komórkowego, które to sygnały wywierają stymulujący wpływ na aktywność proliferacyjną komórek. Mutacje dotyczące genu RAS obserwowano w wielu typach komórek nowotworowych, mutacje te bardzo często skutkują ciągłą aktywacją genu i stałą stymulacją cyklu komórkowego, tym samym intensywną proliferacją komórek nowotworowych.

## Podsumowanie

Pomimo znacznego rozpowszechnienia rozrostów komórek tkanki hemolinfatycznej, w szczególności chłoniaków, a także powszechnie akceptowanej wiedzy odnośnie do genetycznego podłoża karcynogenezy dane dotyczące występowania zaburzeń cytogenetycznych u psów są nieliczne. Chociaż wiadomo, że takie zaburzenia są obserwowane w komórkach białaczek i chłoniaków stosunkowo często, to jak dotąd niewiele wiadomo na temat molekularnych podstaw rozwoju tych nowotworów. Należy mieć nadzieję, że wprowadzenie nowych technik badawczych pozwoli poznać mechanizmy rządzące zjawiskami zachodzącymi w czasie onkogenezy, a co więcej:

będzie je można użyć w praktyce dla łatwiejszego rozpoznawania poszczególnych typów rozrostów oraz do określania indywidualnego podejścia terapeutycznego.

## Piśmiennictwo

- McManus P.M.: Classification of myeloid neoplasms: a comparative review. *Vet. Clin. Pathol.* 2005, **34**, 189–212.
- Grindem C.B., Buoen L.C.: Cytogenetic analysis of leukaemic cells in the dog. A report of 10 cases and a review of the literature. *J. Comp. Pathol.* 1986, **96**, 623–635.
- Nolte M., Werner M., Nolte I., Georgii A.: Different cytogenetic findings in two clinically similar leukaemic dogs. *J. Comp. Pathol.* 1993, **108**, 337–342.
- Culver S., Ito D., Borst L., Bell J.S., Modiano J.F., Breen M.: Molecular characterization of canine BCR-ABL positive chronic myelomonocytic leukemia before and after chemotherapy. *Vet. Clin. Pathol.* 2013, **42**, 314–322.
- Carter R.F., Kruth S.A., Valli V.E., Dubé I.D.: Long-term culture of canine marrow: cytogenetic evaluation of purging of lymphoma and leukemia. *Exp. Hematol.* 1990, **18**, 995–1001.
- Breen M., Modiano J.F.: Evolutionary 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.
- Thomas R., Smith K.C., Ostrander E.A., Galibert F., Breen M.: Chromosome aberrations in canine multicentric lymphomas detected with comparative genomic hybridization and a panel of single locus probes. *Brit. J. Cancer.* 2003, **89**, 1530–1537.
- Devitt J.J., Maranon D.G., Ehrhart E.J., Bachand A.M., Lana S.E., LaRue S.M.: Correlations between numerical chromosomal aberrations in the tumor and peripheral blood in canine lymphoma. *Cytogenet. Genome Res.* 2009, **124**, 12–18.
- Juopperi T.A., Bienze D., Berneruter D.C., Vernau W., Thrall M.A., McManus P.M.: Prognostic markers for myeloid neoplasms: a comparative review of the literature and goals for future investigation. *Vet. Pathol.* 2011, **48**, 182–197.
- Thomas R., Seiser E.L., Motsinger-Reif A., Borst L., Valli V.E., Kelly K., Suter S.E., Argyle D., Burgess K., Bell J., Lindblad-Toh K., Modiano J.F., Breen M.: Refining tumor-associated aneuploidy through 'genomic recording' of recurrent DNA copy number aberrations in 150 canine non-Hodgkin's lymphomas. *Leuk. Lymphoma* 2011, doi: 10.3109/10428194.2011.559802.
- Teske E., Rutteman G.R., Kuipers-Dijkshoorn N.J., van Dieendonck J.H., van Heerde P., Cornelisse C.J.: DNA ploidy and cell kinetic characteristics in canine non-Hodgkin's lymphoma. *Exp. Hematol.* 1993, **21**, 579–584.
- Winkler S., Escobar H.M., Reimann-Berg N., Bullerdiek J., Nolte I.: Cytogenetic investigations in four canine lymphomas. *Anticancer. Res.* 2005, **25**, 3995–3998.
- Hahn K.A., Richardson R.C., Hahn E.A., Chrisman C.L.: Diagnostic and prognostic importance of chromosomal aberrations identified in 61 dogs with lymphosarcoma. *Vet. Pathol.* 1994, **31**, 528–540.
- Thomas R., Smith K.C., Gould R., Gower S.M., Binns M.M., Breen M.: Molecular cytogenetic analysis of a novel high-grade canine T-lymphoblastic lymphoma demonstrating co-expression of CD3 and CD79a cell markers. *Chromosome Res.* 2001, **9**, 649–657.
- Reimann N., Bartzitzke S., Bullerdiek J., Mischke R., Nolte I.: Trisomy 1 in a canine acute leukemia indicating the pathogenetic importance of polysomy 1 in leukemias of the dog. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1998, **101**, 49–52.
- Comazzi S., Aresu L., Marconato L.: Transformation of canine lymphoma/leukemia to more aggressive disease: anecdotes or reality? [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org). Provisional PDF published on 22 sep 2015.
- Figueiredo J.F., Culver S., Behling-Kelly E., Breen M., Friedrichs K.R.: Acute myeloblastic leukemia with associated BCR-ABL translocation in a dog. *Vet. Clin. Pathol.* 2012, **41**, 362–368.
- Cruz Cardona J.A., Milner R., Allemen A.R., Williams C., Vernau W., Breen M., Tompkins M.: BCR-ABL translocation in a dog with chronic monocytic leukemia. *Vet. Clin. Pathol.* 2011, **40**, 40–47.
- Usher S.G., Radford A.D., Villers E.J., Blackwood L.: RAS, FLT3 and C-KIT mutations in immunophenotyped canine leukemias. *Exp. Hematol.* 2009, **37**, 65–77.

Dr hab. Rafał Sapierzyński, prof. nadzw. SGGW,  
e-mail: sapieh@wp.pl