

Tumor venéreo transmissível canino em laringe com metástase pulmonar

Canine Transmissible Venereal Tumor in the Larynx with Pulmonary Metastasis

Thiago Souza Costa¹, Felipe Noleto de Paiva², Gabriel Marchiori Gonzaga³, Bruna Martins dos Santos³, Cristiano Chaves Pessoa da Veiga¹, Bruno Ferreira Spíndola¹, Luciano da Silva Alonso¹ & Julio Israel Fernandes¹

ABSTRACT

Background: Canine transmissible venereal tumor (TVT) is one of the most common canine neoplasms in Brazil. Lesions develop mainly in the genital tissue and less frequently in other areas, in the extragenital form. Metastasis is rare, and the disease progression depends on the patient's immune status. The treatment of choice is chemotherapy with vincristine sulfate, considered an effective and safe modality. The present work describes the first case of extragenital TVT in the larynx with pulmonary metastasis at the time of diagnosis.

Case: An approximately 4-month-old mixed-breed bitch was attended manifesting acute clinical respiratory signs. The patient had been rescued from the street 2 months beforehand. Physical examination revealed pale mucous membranes and crackling pulmonary auscultation. Thoracic radiography was performed in 3 projections, showing multiple nodules in the lung parenchyma, followed by cytopathological examination using fine needle puncture guided by thoracic ultrasound, confirming the diagnosis of TVT. Considering the cytological finding and the absence of primary tumor lesions in the genital, oral, cutaneous or nasal regions, endoscopy was performed in order to locate a possible primary focus. The exam revealed a small erythematous tumor with smooth and regular surface, measuring approximately 2.5 cm, located in the larynx, between the arytenoid cartilages. Chemotherapy was performed with vincristine sulfate with radiographic follow-up throughout the treatment. Full remission of the pulmonary and laryngeal nodules was achieved at the end of the protocol. The animal remained in complete remission for a period of 2 years.

Discussion: TVT is more frequently observed in animals of active reproductive age, and rarely in animals under 1 year of age, as in the case described here. When considering extragenital lesions, the manifestation can be single or multiple, occurring more frequently in the cutaneous, oral and nasal forms. This case describes a laryngeal lesion with pulmonary involvement, without lesion in the genitalia or any other site. Cases of TVT in young and prepubescent animals, associated with extragenital involvement and aggressive behavior, similar to this case, have been described in literature, but never in this location. Literature suggests there is a relationship with the immune status of such patients, which do not have a well-developed immune system, facilitating disease progression. In these animals, transmission can be maternal, since in some cases the patient develops the disease without having contact with other animals except the mother. This form of transmission would facilitate the extragenital form in the oral cavity, airways and ocular region, related to licking, lactation and direct contact. Vincristine sulfate chemotherapy, considered the treatment of choice, was effectively used in this case, despite the atypical form. The TVT prognosis tends to be favorable, with the exception of the aggressive presentations with the presence of distant metastases. However, in the case described here, even though metastatic pulmonary nodules were present, complete remission was achieved, with survival exceeding 2 years. The development of TVT in the larynx is a rare form of the disease, and this report is possibly the first description of this tumor location. Thus, we highlight the importance of a complete investigation of the patient and of TVT as a differential diagnosis in this location.

Keywords: dog, bitch, coitus, neoplasm, round cells, extragenital.

Descritores: cão, cadela, coito, neoplasia, células redondas, extragenital.

DOI: 10.22456/1679-9216.120292

Received: 22 November 2021

Accepted: 6 February 2022

Published: 13 March 2022

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brazil. ²Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" (UNESP), Campus Jaboticabal, Jaboticabal, SP, Brazil. ³Private Veterinary Practitioner, Rio de Janeiro, RJ. CORRESPONDENCE: F.N. Paiva [n-paiva@hotmail.com] & J.I. Fernandes [vetjulio@yahoo.com.br]. UFRRJ. Rodovia BR 465, Km 07. CEP 23897-000 Seropédica, RJ, Brazil.

INTRODUÇÃO

Tumores transmissíveis de ocorrência natural são raros na natureza, sendo TVT o maior foco de estudos [1,20,32]. Suas particularidades quanto a forma de transmissão, imunologia e patogênese, fazem do TVT um modelo único para o entendimento das interações entre as neoplasias e o sistema imunológico do hospedeiro [10].

Por ser um tumor imunogênico, o comportamento biológico do TVT está relacionado ao estado imunológico do hospedeiro. Animais adultos e em bom estado geral de saúde, tendem a desenvolver uma forma mais branda da doença e apresentar remissão espontânea com desenvolvimento de anticorpos protetores contra reinfecção [32,33]. Já animais muito jovens, idosos ou imunossuprimidos, tendem a desenvolver uma forma mais disseminada e grave, com possível desenvolvimento de focos metastáticos regionais e à distância [11,25].

A principal forma de transmissão ocorre pela de transplantação de células tumorais através do coito, motivo que explica a distribuição dessa neoplasia e uma maior prevalência nos países em desenvolvimento, relacionado a uma maior população de cães errantes [14,20]. Outras formas de transmissão celular por mordidas, lambeduras e inalação também tem papel importante nas formas extragenitais da doença [11,21].

O objetivo do trabalho é relatar um caso de TVT em laringe associado a focos pulmonares, enfatizando o acompanhamento clínico e radiográfico, além da apresentação atípica do caso relacionada à idade do paciente e a forma de acometimento.

CASO

Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) uma cadela impúbere, sem raça definida (SRD), com idade estimada em 4 meses, manifestando sinais clínicos respiratórios. A cadela, sem sintomatologia, fora resgatada da rua 2 meses e adotada. Posteriormente, passando a manifestar tosse, dispnéia e secreção nasal sanguinolenta, além de prostração e hiporexia, com evolução aguda. No exame físico foram observadas mucosas hipocoradas, crepitação áspera à ausculta pulmonar, além da confirmação da taquipneia e dispnéia. Não foram observadas alterações em linfonodos, lesões cutâneas ou genitais.

O animal foi então encaminhado para a realização de exame de radiografia torácica em 3 projeções (ventro-dorsal, latero-lateral esquerda e latero-lateral

direita) que evidenciou múltiplos nódulos dispersos em todo o parênquima pulmonar (Figura 1), configurando acometimento difuso. Em seguida foi realizado exame citopatológico das lesões pulmonares através de punção por agulha fina guiada por ultrassonografia torácica.

A análise das amostras citológicas possibilitou a identificação de população monomórfica de células redondas, com núcleo arredondado, nucléolos proeminentes e excêntricos, além de citoplasma vacuolizado, e presença de figuras de mitose, com diagnóstico de TVT (Figura 2).

Diante do diagnóstico de TVT e na ausência de lesões tumorais em regiões genital, oral, cutânea ou nasal, preconizou-se a realização de uma varredura mais ampla, sendo realizado exame de endoscopia que possibilitou a visualização de uma pequena tumorização eritematosa de superfície lisa e regular, com aproximadamente 2,5 cm localizada na laringe, entre as cartilagens aritenóides (Figura 3).

Para a avaliação do estado geral do animal foi realizado exame de hemograma, sendo evidenciada trombocitopenia severa (valor observado de 20.000 células/ μ L - normalidade: 180.000 a 500.000 células/ μ L), com os demais parâmetros dentro da normalidade. Devido ao histórico prévio de exposição a carrapatos e diante do observado no hemograma, instituiu-se protocolo de tratamento para agentes infecciosos transmitidos por carrapatos como *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys*, através do uso de doxiciclina¹ [Doxitrat[®] - 5 mg/kg, via oral (VO), BID, durante 28 dias], prednisolona² [Prediderm[®] - 1 mg/kg, VO, SID, durante 15 dias] e omeprazol¹ [Gaviz[®] - 1 mg/kg, VO, BID, durante 28 dias].

O animal foi encaminhado para atendimento oncológico especializado, sendo repetidos os exames de radiografia torácica e hemograma após 10 dias. Em parênquima pulmonar foi observada melhora no aspecto geral, atribuído ao uso de corticosteroides, porém sem alteração quanto ao número ou tamanho dos nódulos. Não houve melhora na contagem plaquetária no hemograma (20.000 células/ μ L). Devido à ausência de resposta ao tratamento para as primeiras suspeitas diagnósticas da trombocitopenia, esta foi atribuída ao quadro neoplásico, como uma provável síndrome paraneoplásica, e optou-se por iniciar o tratamento quimioterápico devido a gravidade do quadro clínico do paciente.

Foi iniciado protocolo quimioterápico utilizando o sulfato de vincristina³ [Oncovin[®] - 0,7 mg/m², via intravenosa (IV), a cada 7 dias, 6 aplicações]

como agente único. Uma semana após a primeira sessão o animal apresentou melhora dos sinais clínicos respiratórios, sem manifestação de efeitos adversos. Foi realizado novo exame de hemograma 6 dias após o primeiro ciclo de quimioterapia, e foi observada normalização da contagem plaquetária. Após o segundo ciclo do tratamento quimioterápico, os sinais respiratórios cessaram por completo e o animal permaneceu assintomático até o final do protocolo, totalizando 6 ciclos de administrações. Durante todo período de tratamento foi

realizado acompanhamento radiográfico evidenciando a melhora gradual no parênquima pulmonar (Figura 4).

Ao final do protocolo foi repetido exame de endoscopia que evidenciou ausência de lesão em laringe. O animal permaneceu em acompanhamento e foi submetido a exames de radiografia torácica e hemograma mensais até 3 meses após o final do protocolo terapêutico, permanecendo em remissão completa das lesões. O paciente já apresenta sobrevida superior a 2 anos, sem evidências de recidiva da lesão.

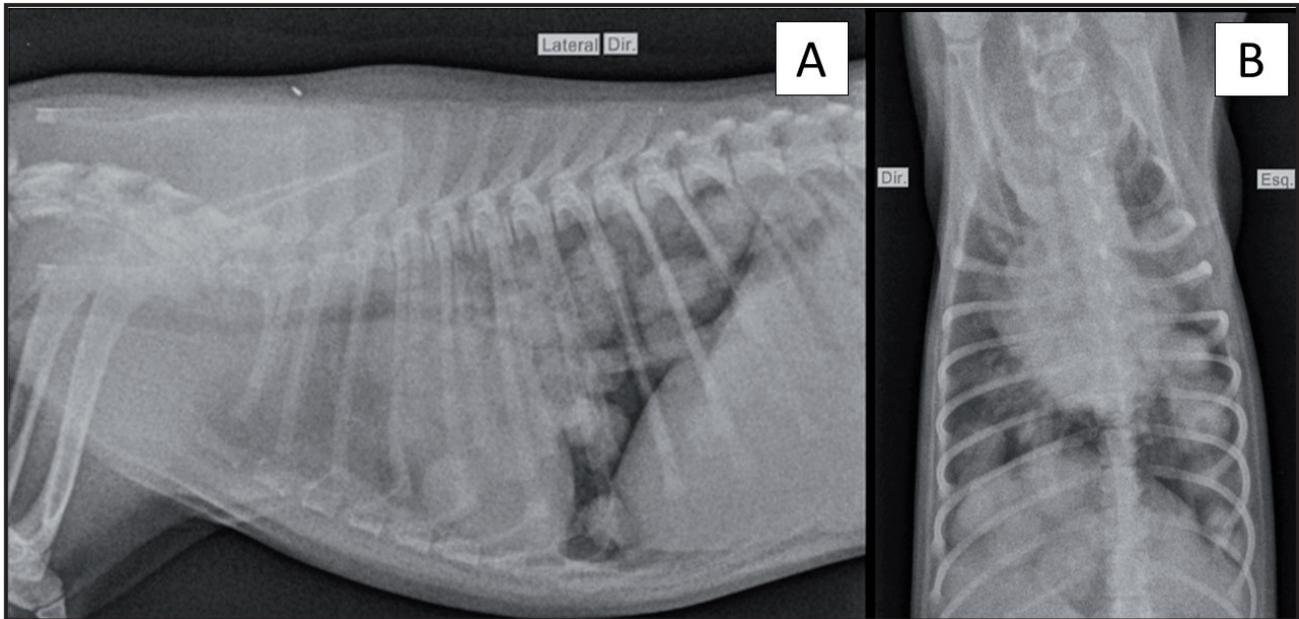


Figura 1. Exame radiográfico realizado durante o atendimento inicial evidenciando a presença de múltiplos nódulos de tamanhos variados, distribuídos pelo parênquima pulmonar. A-Projeção latero-lateral direita. B- Projeção ventro-dorsal.

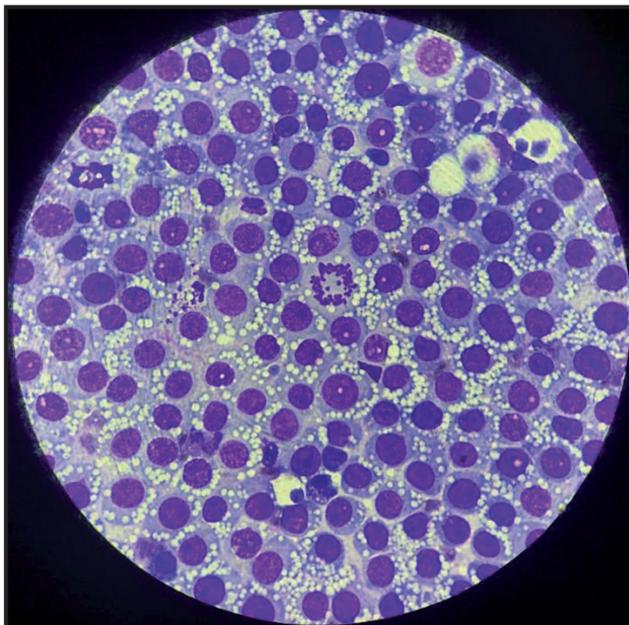


Figura 2. Fotomicrografia de amostra citopatológica oriunda de nódulo pulmonar. Amostra hiper celular monomórfica composta por células redondas, com núcleo redondo a oval, nucléolo proeminente e citoplasma vacuolizado, com diagnóstico de TVT. [Coloração panóptico; 40x].



Figura 3. Massa tumoral eritematosa de superfície lisa e regular, com aproximadamente 2,5 cm localizada na laringe. Imagem obtida durante exame de endoscopia.

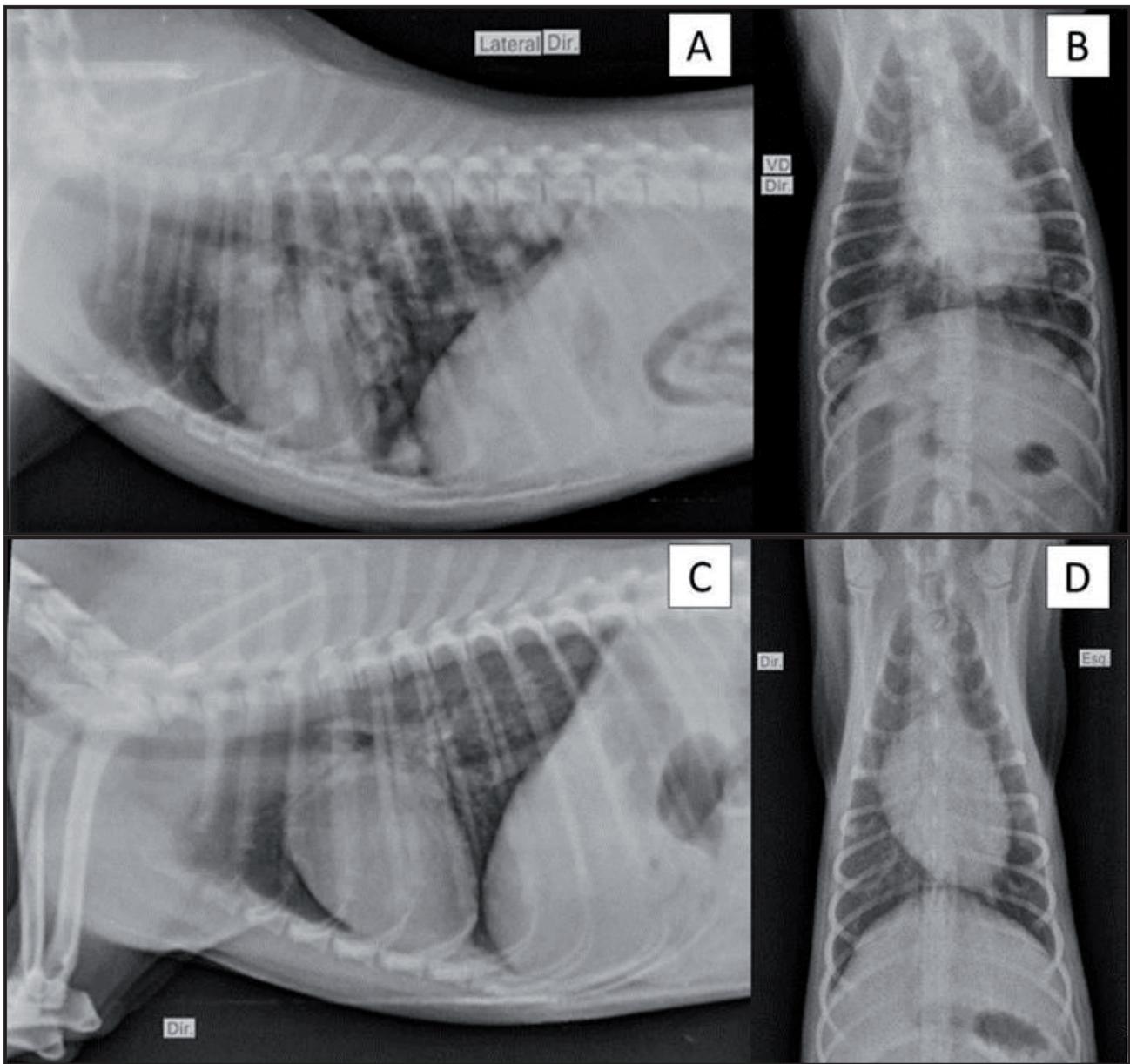


Figura 4. Acompanhamento da resposta terapêutica através de exames radiográficos da região torácica, evidenciando redução em tamanho e quantidade das lesões pulmonares. A- Exame realizado após o segundo ciclo de tratamento quimioterápico com sulfato de vincristina em projeção latero-lateral direita. B- Exame realizado após o segundo ciclo de tratamento quimioterápico com sulfato de vincristina em projeção ventro-dorsal. C- Exame realizado após 6 ciclos de tratamento quimioterápico com sulfato de vincristina em projeção latero-lateral direita. D- Exame realizado após 6 ciclos de tratamento quimioterápico com sulfato de vincristina em projeção ventro-dorsal.

DISCUSSÃO

Avaliando o fator etário, os animais mais acometidos pelo TVT são aqueles em idade reprodutiva, geralmente entre 2 e 8 anos de idade [3,4,11,14,15,21,24,26,29], sendo considerado raro o acometimento em animais abaixo de 1 ano de idade [4,24,29]. A idade descrita no caso, de aproximadamente 4 meses no momento do diagnóstico, é inferior aos relatos semelhantes de acometimento em pacientes juvenis [8,12,13,17,19,31].

Na apresentação macroscópica, as lesões extragenitais se manifestam única ou múltiplas, e podem

ou não estar relacionadas a um tumor primário genital [2,5,11]. No caso descrito se observou 1 lesão em laringe com acometimento pulmonar associado, sem lesão em genitália. O surgimento das lesões geralmente se faz presente após um período de 2 a 6 meses após a transmissão [2,5,11], cursando com um desenvolvimento mais rápido e agressivo no caso relatado, e sugerindo que a transmissão possa ter ocorrido nos estágios iniciais da vida.

Quando no acometimento de animais jovens e impúberes, são descritos em literatura casos semelhantes que cursam com manifestação extrage-

nital associadas a comportamentos mais agressivos [8,12,13,17,19,30,31], como observado neste caso. Esses achados podem estar relacionados ao status imunológico de tais pacientes, que ainda não tem o seu sistema imune bem desenvolvido, o que facilitaria o desenvolvimento e progressão da doença.

Sugere-se ainda, que a transmissão possa ocorrer via materna, uma vez que tais pacientes, se contaminam ainda muito jovens, possivelmente sem manter contato com outros animais, com exceção da mãe e da ninhada. A transmissão materna favorece ainda o desenvolvimento da neoplasia em áreas extragenitais, mais comumente em cavidade oral, vias respiratórias e região ocular, configurando o contágio pelos hábitos de lambadura, lactação e contato direto, e não pela transmissão sexual [11]. Tal hipótese é corroborada pelos achados descritos no presente relato.

O TVT em região extragenital é considerado pouco frequente, e quando presente, ocorre principalmente na forma cutânea, ocular, em cavidade oral e plano nasal [3,4,6,12,14,15,21,26,27]. Não foi encontrada, na base de dados consultada pelos autores, caso semelhante de desenvolvimento do TVT em região de laringe em forma primária ou metastática, configurando o primeiro relato dessa natureza. O TVT não é relacionado entre os possíveis tumores de acometimento em região de laringe [18].

O desenvolvimento pulmonar, já foi relatado como acometimento metastático [3,6-9,23] e primário [17], não sendo possível realizar tal diferenciação no presente trabalho. Nos casos de contaminação de vias aéreas, bem como no caso descrito, sugere-se que a transmissão ocorra por inalação [20,32] resultando na implantação das células tumorais nessa região.

O diagnóstico presuntivo nos casos de TVT é baseado no histórico e sinais clínicos, geralmente característicos. No entanto, principalmente nos casos de acometimento extragenital, o diagnóstico definitivo pode ser mais desafiador, sendo necessários exames citológico ou histopatológico [6,32]. No presente caso, optou-se pela citologia guiada devido à localização de difícil acesso da neoplasia. O exame citológico é eficaz

na investigação diagnóstica do TVT, sendo conclusivo na maior parte dos casos [3,16].

Múltiplas modalidades terapêuticas são descritas com eficácia reconhecida para o tratamento do TVT, como a cirurgia, radioterapia, quimioterapia convencional, eletroquimioterapia e imunoterapia [1,11], no entanto a quimioterapia com sulfato de vincristina permanece como tratamento de eleição, mesmo nos casos extragenitais e metastáticos [1,11,22,28] como observado no caso reportado, sendo evidenciada a melhora clínica, e em exames radiográficos e hematológicos.

O prognóstico do TVT é favorável na maior parte dos casos, contudo, apresentações agressivas com presença de metástases à distância, podem levar ao óbito [11,32]. No caso descrito, apesar da presença de focos metastáticos pulmonares, foi obtida remissão completa da doença e o animal permaneceu livre da doença em um período de 2 anos após o tratamento, até o presente momento.

O desenvolvimento do TVT em laringe representa uma forma rara, sendo possivelmente a primeira descrição de tal acometimento. Ressalta-se assim, a importância da investigação completa do paciente, e a inclusão do TVT como diagnóstico diferencial também nessa localização, principalmente em animais resgatados ou aqueles que têm acesso à rua. A manifestação agressiva em animais impúberes pode representar um padrão de acometimento do TVT ainda pouco difundido, porém observado em relatos ocasionais. Mais estudos são necessários para validar tal hipótese.

MANUFACTURERS

¹Agener União Saúde Animal. Embu-Guaçu, SP, Brazil

²Ourofino Saúde Animal. Cravinhos, SP, Brazil.

³Laboratório Bergamo. Taboão da Serra, SP, Brazil.

Acknowledgements. Our thanks to the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) and to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) for supporting this study.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper.

REFERENCES

- 1 **Abeka Y.T. 2019.** Review on Canine Transmissible Venereal Tumor (CTVT). *Cancer therapy and Oncology International Journal*. 14(4): 1-9.
- 2 **Agnew D.W. & MacLachlan N.J. 2017.** Tumors of genital system. In: Meuten D.J. (Ed). *Tumors in Domestic Animals*. 5th edn. Ames: Willey Blackwell, pp.689-722.

- 3 Amaral A.S., Silva S.B., Ferreira I., Fonseca L.S., Andrade F.H.E., Gaspar L.F.J. & Rocha N.S. 2007. Cyto-morphological characterization of transmissible canine venereal tumor. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 103(8): 253-260.
- 4 Araújo D.C.C., Antonioli T., Costa T.S., Carvalho J.R.G., Laguna A.G.V., Ramadilha R.R. & Fernandes J.I. 2016. Occurrence and location of Transmissible Venereal Tumors in Dogs seen at the University Federal Rural of Rio de Janeiro Veterinary Hospital: Oncology Sector between 2010 and 2014. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 38(3): 277-280.
- 5 Birhan G. & Chanie M. 2015. A review on canine transmissible venereal tumor: from morphologic to biochemical and molecular diagnosis. *Academic Journal of Animal Diseases*. 4(3): 185-195.
- 6 Brandão C.V.S., Borges A.G., Ranzani J.J.T., Rahal S.C., Teixeira C.R. & Rocha N.S. 2002. Tumor venéreo transmissível: estudo retrospectivo de 127 casos (1998-2000). *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia*. 1(5): 25-31.
- 7 Cruz G.D., Santos C.F., Santos C.R., Ruschi C.S., Elias T., Xavier J.G. & Bonamin L.V. 2009. Metástase visceral de tumor venéreo transmissível em cão. *Veterinária e Zootecnia*. 16(3): 465-470.
- 8 Faccini L.S., Legramanti W.M., Castro L.T., Coelho A.C.B., Teixeira M.C., Shild A.L. & Pereira C.M. 2019. Multiple metastases of a transmissible venereal tumor in a dog. *Acta Scientiae Veterinariae*. 47(Suppl 1): 444. 5p.
- 9 Fernandes C.P.M., Gaspar L.F.J., Meinerz A.R.M., Grecco F.B., Nobre M.O. & Cleff M.B. 2013. Tumor venéreo transmissível canino com metástase encefálica. *Semina: Ciências Agrárias*. 34(6): 3929-3934.
- 10 Frampton D., Schwenzer H., Marino G., Butcher L.M., Pollara G., Kriston-Vizi J., Venturini C., Austin R., De Castro K.F., Ketteler R., Chain B., Goldstein R.A., Weiss R.A., Beck S. & Fassati A. 2018. Molecular signatures of regression of the canine transmissible venereal tumor. *Cancer Cell*. 33(4): 620- 633.
- 11 Ganguly B., Das U. & Das A.K. 2013. Canine Transmissible Venereal Tumour: a Review. *Veterinary Comparative Oncology*. 14(1): 1-12.
- 12 Grandez R.R., Priego G.C.M., Yi P.A. & Torres L.P. 2011. Extragenital transmissible venereal tumor: retrospective study of 11 cases. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 22(4): 342-350.
- 13 Horta R.S., Fonseca L.S., Miranda D.F.H., Quessada A.M., Rocha Neto H.J. & Silva S.M.M.A. 2014. Tumor venéreo transmissível (TVT) com metástase para a glândula mamária. *Acta Scientiae Veterinariae*. 42(Suppl 1): 46. 6p.
- 14 Huppés R.R., Silva C.G., Uscategui R.A.R., Nardi A.B., Souza F.W., Costa M.T., Amorim R.L., Pazzini J.M. & Faria J.L.M. 2014. Venereal Transmissible Tumor (TVT): Retrospective Study of 144 Cases. *Ars Veterinaria*. 30(1): 13-18.
- 15 Lima E.R., Almeida E.L., Freitas A.A., Menezes M.M., Pereira M.F. & Fukahori F.L.P. 2011. Frequência, aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento de tumor venéreo transmissível (TVT) em cães atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE. *Medicina Veterinária (UFRPE)*. 5(1): 24-29.
- 16 Lima C.R.O., Rabelo R.E., Vulcani V.A.S., Furtado A.P., Helrigel P.A., Brito L.A.B. & Moura V.M.B.D. 2013. Morphological patterns and malignancy criteria of transmissible venereal tumor in cytopathological and histopathological exams. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 50(3): 238-246.
- 17 Lizardo D.H.S., Girodo G.S. & Coelho D.M. 2020. Tumor venéreo transmissível canino em campos pulmonares-relato de caso. *Veterinária e Zootecnia*. 27: 1-4.
- 18 MacPhail C.M. 2020. Laryngeal disease in dogs and cats: an update. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 50(2): 295-310.
- 19 Marcos R., Santos M., Marrinhas C. & Rocha E. 2006. Cutaneous transmissible venereal tumor without genital involvement in a prepubertal female dog. *Veterinary Clinical Pathology*. 35(1): 106-109.
- 20 Murchison E.P., Wedge D.C., Alexandrov L.B., Fu B., Martincorena I., Ning Z., Tubio J.M.C., Werner E.I., Allen J., De Nardi A.B., Donelan E.M., Marino G., Fassati A., Campbell P.J., Yang F., Burt A., Weiss R.A. & Stratton M.R. 2014. Transmissible dog cancer genome reveals the origin and history of an ancient cell lineage. *Science*. 343(6169): 437-440.
- 21 Peixoto P.V., Teixeira R.S., Mascarenhas M.B., França T.N., Azevedo S.C.S., Reinacher M., Costa T.S. & Ramadilha R.R. 2016. Formas atípicas e aspectos clínico- epidemiológicos do tumor venéreo transmissível canino no Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 38(Supl.2): 101-107.

- 22 **Ramadinha R.R., Teixeira R.S., Bonfim P.C., Mascarenhas M.B., França T.N., Peixoto T.C., Costa S.Z.R. & Peixoto P.V. 2016.** Resposta do tumor venéreo transmissível canino à quimioterapia com sulfato de vincristina e vimblastina. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 38(Supl.1): 65-69.
- 23 **Salamanca S., Santader-Baquero A., Triana-García P.A., Romero S. & Rondón- Barragán I.S. 2008.** Tumor venéreo transmissível (TVT) con metástasis pulmonar: reporte de caso. *Orinoquia*. 12(2): 162-170.
- 24 **Santos I.F.C., Ferreira C.M., Silva B.M., Branco M.P., Ferro B.S., Rahal S.C., Sakata S. & Gallina M.F. 2021.** Estudo retrospectivo de tumor venéreo transmissível em cães (*Canis lupus familiaris*) na região de Garça, São Paulo, Brasil. *Medicina Veterinária (UFRPE)*. 15(1): 7-14.
- 25 **Siddle H.V. & Kaufman J. 2015.** Immunology of naturally transmissible tumours. *Immunology*. 144(1): 11-20.
- 26 **Silva M.C.V., Barbosa R.R., Santos R.C., Chagas R.S.N. & Costa W.P. 2007.** Avaliação epidemiológica, diagnóstica e terapêutica do tumor venéreo transmissível (TVT) na população canina atendida no Hospital Veterinário da UFRSA. *Acta Veterinaria Brasilica*. 1(1): 28-32.
- 27 **Silva R.S., Jank J.A., Torres S.S., Angst J.P.S., Wolkmer P., Brendler S., Rossato C.K. & Dornelles G.L. 2020.** Diagnósticos citológicos de tumor venéreo transmissível (TVT) na região de Cruz Alta/RS: estudo retrospectivo. *Brazilian Journal of Development*. 6(12): 94205-94215.
- 28 **Setthawongsin C., Teewasutrakul P., Tangkawattana S., Techangamsuwan S. & Rungsipipat A. 2019.** Conventional-Vincristine Sulphate vs. Modified Protocol of Vincristine Sulphate and L- asparaginase in Canine Transmissible Venereal Tumor. *Frontiers in veterinary Science*. 6: 300. doi.org/10.3389/fvets.2019.00300
- 29 **Srivastava A.K., Singh B., Srivastava A.K., Sharama A.K. & Sinha N. 2013.** Canine transmissible venereal tumours (CTVT): a study on occurrence and distribution pattern. *Indian Journal of Canine Practice*. 5(1): 65-71.
- 30 **Uma Rani R. & Pazhanivel N. 2015.** Rare cases of primary canine extragenital transmissible venereal tumours. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology*. 4(1): 149-152.
- 31 **Varela Y.D.M., Queiroz G.F., Filgueira K.D., Reis P.F.C.C. & Lima R.K.R. 2013.** Transmissible extragenital venereal tumor in impuberal canine. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 6(3): 123-127.
- 32 **Woods J.P. 2020.** Canine Transmissible Venereal Tumor. In: Vail D., Thamm D.H. & Liptak J.M. (Eds). *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 6th edn. St. Louis: Elsevier, pp.781-784.
- 33 **Yang T., Palker T.J. & Harding M.W. 1991.** Tumor size, leukocyte adherence inhibition and serum levels of tumor antigen in dogs with the canine transmissible venereal sarcoma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 33(4): 255-262.