

Terapia utilizată în melanomul canin - abordări actuale și perspective viitoare Therapy used in canine melanoma - current approaches and future perspectives

Diana Mihaela Alexandru^{1,*}, Diana Larisa Ancuța²

1. Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară, Facultatea de Medicină Veterinară, București, România
2. Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară „Cantacuzino”, București, România

*Corresponding author: albu.dm@gmail.com

Cuvinte cheie: *melanom canin, imunoterapie, terapie multimodală, chimioterapie, oncologie veterinară*

Keywords: *canine melanoma, immunotherapy, multimodal therapy, chemotherapy, veterinary oncology*

Rezumat

Melanomul canin este o tumoră agresivă, frecvent localizată la nivel bucal, digital, ocular sau cutanat, caracterizată printr-un potențial ridicat de invazie locală și metastazare. Opțiunile terapeutice includ excizia chirurgicală ca tratament principal, completată adesea de radioterapie, chimioterapie și imunoterapie. În ultimii ani, imunoterapia, în special vaccinurile ADN, a demonstrat un potențial promițător în prelungirea supraviețuirii și îmbunătățirea calității vieții pacienților canini. Scopul acestui scurt review este de a oferi o sinteză a celor mai recente date privind tratamentul melanomului canin, evidențiind importanța unei abordări multimodale și personalizate pentru optimizarea prognosticului.

Abstract

Canine melanoma is an aggressive tumor, commonly located in the oral cavity, digits, eyes, or skin, characterized by a high potential for local invasion and metastasis. Therapeutic options include surgical excision as the primary treatment, often complemented by radiotherapy, chemotherapy, and immunotherapy. In recent years, immunotherapy, particularly DNA vaccines, has shown promising potential in prolonging survival and improving the quality of life in canine patients. The aim of this brief review is to provide a synthesis of the most recent data regarding the treatment of canine melanoma, highlighting the importance of a multimodal and personalized approach to optimize prognosis.

Introducere

Melanomul canin este o neoplazie extrem de agresivă, frecvent întâlnită la câini, caracterizată de proliferarea anormală a melanocitelor.

Acesta poate apărea la orice rasă, fiind localizat în cavitatea bucală (în procent de 44-62%), pe piele (27-44%), la nivelul degetelor (8-10%) și ocular (1-3%).

Melanomul canin reprezintă aproximativ 4-7% din toate tumorile maligne canine, iar melanomul oral reprezintă 30-40% din toate tumorile orale canine [18].

Majoritatea formațiunilor sunt pigmentate și apar negre datorită conținutului ridicat de

melanină, dar există și melanoame nepigmentate (melanoame amelanotice).

Prognosticul melanomului canin depinde de localizarea tumorii, cel mai agresiv fiind cel bucal care prezintă o rată ridicată de metastazare și potențial ridicat de invazie locală [32,35].

Având în vedere incidența și agresivitatea melanomului atât la oameni, cât și la câini, este crucial să se conceapă noi tratamente, în special pentru cazurile avansate în care opțiunile disponibile sunt de eficacitate limitată.

De asemenea, ținând cont de faptul că diagnosticarea precoce influențează semnificativ prognosticul, la fel de necesar

este și să se dezvolte tehnici și protocoale noi de diagnostic, care să ofere posibilitatea depistării timpurii a acestei neoplazii.

În ultimele decenii, progresele din domeniul oncologiei veterinare au condus la dezvoltarea unor noi metode de investigație, capabile să diferențieze melanomul de alte tumori, să evalueze gradul de agresivitate al tumorii și să ofere informații esențiale pentru stabilirea unei conduite terapeutice personalizate.

Astfel, biomarkerii imunohistochimici precum Melan-A, PNL2 sau Ki-67, precum și testele genetice care vizează mutații specifice (de exemplu, în gena BRAF), joacă un rol tot mai important în evaluarea neoplasmelor melanocitare [33].

Carcinogeneza melanomului canin

Carcinogeneza melanomului canin este un proces complex, implicând multiple căi de semnalizare și mecanisme de evadare imună.

Progresele în înțelegerea acestor procese oferă oportunități pentru dezvoltarea unor terapii mai eficiente și personalizate pentru câinii afectați de această neoplazie agresivă [30].

Microambientul tumoral joacă un rol crucial în progresia melanomului canin.

Celulele tumorale pot exprima molecule de checkpoint imunitar, cum ar fi PD-L1, care inhibă activarea limfocitelor T și permit evadarea imună a tumorii.

De asemenea, infiltrarea tumorală cu limfocite T reglatoare (Tregs) contribuie la imunosupresia locală și favorizează progresia tumorală [24,33].

Mecanisme moleculare implicate în carcinogeneză :

a) Dereglarea căilor de semnalizare celulară: Căile de semnalizare MAPK (RAS/RAF/MEK/ERK) și PI3K/AKT/mTOR sunt frecvent activate în melanomul canin, contribuind la proliferarea necontrolată și supraviețuirea celulelor tumorale.

Deși mutațiile în genele BRAF și NRAS sunt rare în melanomul canin, activarea

acestor căi poate apărea prin alte mecanisme, cum ar fi pierderea funcției genelor supresoare de tumori [16].

b) Inactivarea genelor supresoare de tumori: Genele TP53 și PTEN sunt implicate în controlul ciclului celular și apoptoză.

Mutațiile sau pierderea expresiei acestor gene au fost raportate în melanomul canin, contribuind la evadarea celulelor tumorale de la mecanismele de control celular [33].

c) Alterări ale genelor implicate în reglarea ciclului celular: Inactivarea genei CDKN2A, care codifică pentru proteina p16, a fost observată în melanomul canin, ducând la dereglarea punctului de control G1/S al ciclului celular și favorizând proliferarea celulară necontrolată [29].

Înțelegerea mecanismelor moleculare implicate în carcinogeneza melanomului canin a condus la dezvoltarea unor terapii țintite. Inhibitorii căilor PI3K/AKT/mTOR și MAPK sunt în curs de evaluare pentru eficacitatea lor în tratamentul melanomului canin. De asemenea, imunoterapiile, cum ar fi anticorpii monoclonali anti-PD-1/PD-L1, au arătat rezultate promițătoare în studii preclinice [30].

Tratamentul în melanomul canin

Terapiile multimodale

Tratamentul melanomului canin implică adesea terapii multimodale care integrează diverse modalități de tratament pentru a îmbunătăți rezultatele pacientului. Aceste terapii pot include chirurgie, radioterapie, chimioterapie, imunoterapie, electrochimioterapie și terapie genică [4,9].

Pentru o mai bună sintetizare a opțiunilor terapeutice disponibile în cazul melanomului malign canin. În Tabelul 1 sunt prezentate succint avantajele și limitările principalelor metode de tratament utilizate în practica veterinară.

Intervențiile chirurgicale

Chirurgia rămâne standardul de aur în tratamentul oncologic, fiind frecvent folosită

pentru gestionarea locală a tuturor melanoamelor, inclusiv melanoamele orale, cutanate și digitale [6,38].

Tabel 1.

Principalele opțiuni terapeutice pentru melanomul canin

Tratament	Mecanism de acțiune	Avantaje	Limitări
Chirurgia	Excizia completă a tumorii	Tratament de primă linie	Risc de recidivă, limitată în zone inaccesibile
Radioterapia	Distruge locală a celulelor tumorale	Utilă post-operator sau paliativ	Costisitoare, disponibilitate redusă
Chimioterapia	Inhibă diviziunea celulelor tumorale	Complementară altor terapii	Eficiență variabilă, efecte secundare
Imunoterapia	Stimulează sistemul imunitar împotriva celulelor tumorale	Neinvazivă, inovatoare	Cost ridicat
Terapii combinate	Abordare multimodală	Crește șansele de control tumoral	Complexitate terapeutică

Rezeecția chirurgicală cu margini largi a fost întotdeauna una dintre abordările recomandate pentru melanomul canin, asociată cu limfadenectomie regională.

Rezeecțiile chirurgicale cu margini largi (2–3 cm osoase și 1 cm de țesut moale) au fost aplicate în 70 de cazuri de melanom malign oral canin, obținându-se excizie completă în 72,9% dintre cazuri.

Recurența locală a fost observată la 10% dintre pacienți. Câinii tratați exclusiv chirurgical au avut un interval fără progresie >567 zile și un timp mediu de supraviețuire (MST) de 874 zile [14,34].

Într-un alt studiu, Boston et al. au raportat o rată de excizie completă de 79,3% și o recurență de 8,3%, cu un MST de 354 zile [6].

Într-un studiu realizat de Williams și Packer pe 100 de câini cu melanom malign oral, 53% au prezentat dovezi citologice sau histopatologice de metastaze în ganglionii limfatici mandibulari, chiar și în ganglionii limfatici de dimensiuni normale. Prin urmare, se recomandă îndepărtarea ganglionilor limfatici regionali, în special la câinii cu melanoame orale. În melanoamele digitale, trebuie evaluat și drenajul limfatic la nivelul membrilor, iar îndepărtarea ganglionului limfatic regional este recomandată în planificarea chirurgicală [37].

Deși tratamentul chirurgical este principala alegere, Liptak și Withrow și Boston

și colab. recomandă ca, datorită potențialului său metastatic ridicat, terapia sistemică să fie, de asemenea, considerată ca o opțiune terapeutică pentru melanoame [6,23].

Radioterapia

Radioterapia este o formă de tratament localizat, eficientă împotriva celulelor tumorale proliferative din câmpul iradiat. În melanomul canin, radioterapia se utilizează ca terapie adjuvantă postoperatorie sau paliativă, incluzând, ideal, și ganglionii limfatici regionali, indiferent de prezența semnelor clinice de metastază. Efectele adverse sunt, în general, ușoare și localizate, incluzând alopecie, modificări de pigmentare, radiodermatită uscată și mucozită orală [14].

Rata globală de răspuns tumoral este raportată între 75–85%, iar supraviețuirea medie variază între 230 și 363 de zile [8,15].

Într-un studiu realizat de Cunha et al., radioterapia ortovoltaj a fost aplicată la 24 de câini, cu o rată de răspuns de 93% (64% parțial, 29% complet), iar supraviețuirea medie a variat între 390 zile (stadiul I) și 90 zile (stadiul IV) [10].

Chimioterapia

Chimioterapia reprezintă o componentă frecvent utilizată în tratamentul melanomului canin, adesea în asociere cu alte modalități terapeutice precum chirurgia și radioterapia [20].

Ideal, un agent chimioterapeutic trebuie să prezinte toxicitate selectivă față de celulele tumorale, distribuție eficientă în masa tumorală, lipsa dezvoltării rezistenței și un profil de siguranță favorabil pentru pacient [27].

Printre agenții evaluați în literatura de specialitate se numără: carboplatina [11], implanturile intralezionale de cisplatină [21], mesilatul de masitinib [17], mitoxantrona [26], combinația cisplatină–piroxicam [5], artesunatul și olomoucina [27].

Carboplatina a oferit cei mai lungi timpi mediani de supraviețuire (MST), cu valori de 440 și 389 de zile raportate în studii în care supraviețuirea a fost calculată de la momentul diagnosticului [7, 11].

În schimb, pentru alte tratamente, precum masitinibul, combinația cisplatină–piroxicam și implanturile intralezionale cu cisplatină, MST-ul raportat a fost mai scurt, fiind măsurat de la inițierea chimioterapiei, în contextul unor tumori nerezecabile sau recidivante. Lipsa standardizării în raportarea datelor și includerea neclară a cazurilor cu sau fără intervenție chirurgicală anterioară limitează evaluarea impactului specific al chimioterapiei ca adjuvant [27].

Totuși, studiile realizate de Brockley și colab. și Boston și colab. nu au evidențiat diferențe semnificative de supraviețuire între câinii tratați doar chirurgical (495 și 335 de zile, respectiv) și cei care au beneficiat de intervenție chirurgicală urmată de chimioterapie cu carboplatină (389 și 352 de zile) [6, 7].

În plus, conform datelor publicate de Tuohy și colab., chimioterapia adjuvantă post-rezecție a fost asociată cu un risc mai mare de progresie a bolii, fără a influența semnificativ riscul de deces, după ajustarea pentru dimensiunea tumorală și prezența metastazelor [34].

Masitinibul, evaluat în stadii avansate (III și IV) refractare la tratamente convenționale, a oferit timpi de supraviețuire comparabili cu alte

regimuri, deși majoritatea cazurilor din aceste grupuri erau în stadii mai puțin avansate [17, 27].

Imunoterapia

În ultimele decenii, imunoterapia a căpătat un rol central în oncologie, datorită creșterii semnificative a eficacității terapeutice și a ratelor de supraviețuire în rândul pacienților oncologici.

Deși conceptul conform căruia sistemul imunitar poate recunoaște și elimina celulele tumorale nu este nou, observațiile clinice privind regresia spontană a tumorilor și asocierea pozitivă dintre infiltratul limfocitar tumoral și prognostic au revitalizat interesul pentru teoria imunosupravegherii tumorale [14].

În cazul melanomului malign, terapiile convenționale continuă să ofere rezultate limitate, ceea ce justifică explorarea strategiilor imunoterapeutice.

Printre acestea se numără vaccinul ADN canin împotriva melanomului, imunoterapia cu celule dendritice și livrarea de gene terapeutice prin vectori virali și non-virali.

Deși răspunsurile clinice pot varia de la regresii parțiale la complete, eficacitatea imunoterapiei este adesea compromisă de reprogramarea imună indusă de celulele tumorale.

Acest fenomen determină un microambient tumoral imunosupresor, care limitează capacitatea efectivă a sistemului imun de a genera un răspuns antitumoral robust [1, 13, 36].

Limitările terapiilor convenționale utilizate în melanomul canin sunt determinate, în parte, de dificultatea realizării unei rezecții chirurgicale complete și de eficiența redusă a chimioterapiei în prezența maselor tumorale mari. În acest context, imunoterapia a apărut ca o opțiune terapeutică promițătoare, capabilă să îmbunătățească prognosticul și să inducă remisiuni de lungă durată în diverse tipuri de cancer [14].

Un exemplu este nano-imunoterapia OncoTherad, un complex nanostructurat pe bază de fosfat anorganic și proteină glicozidică, dezvoltat la Universitatea din Campinas (Brazilia), cu proprietăți imunostimulatoare și antitumorale.

OncoTherad acționează prin activarea receptorilor Toll-like (TLR2 și TLR4), stimulând calea de semnalizare a interferonului (IFN) și amplificând răspunsul imun înăscut [3,12].

Un alt exemplu care evidențiază eficiența imunoterapiei în managementul terapeutic al melanomului canin este vaccinul Oncept.

Acesta reprezintă o opțiune imunoterapeutică inovatoare în tratamentul melanomului oral canin, în special în stadiile II și III, după obținerea controlului loco-regional al tumorii prin intervenții chirurgicale și/sau radioterapie. Este un vaccin ADN xenogenic care vizează tirozinaza, o enzimă implicată în sinteza melaninei, puternic conservată între speciile de mamifere.

Vaccinul Oncept® utilizează ADN uman care codifică această enzimă, inserat într-o plasmidă bacteriană și administrat la câini, stimulând un răspuns imun specific [2,28].

Tehnologia a fost adaptată dintr-un vaccin experimental testat anterior la pacienți umani cu melanom avansat, unde s-a dovedit sigur și imunogen. Datorită omologiei de peste 85% între tirozinaza umană și cea canină, antigenul este suficient de diferit pentru a declanșa imunitatea, dar și suficient de similar pentru a viza celulele tumorale canine în mod eficient [28,39].

Terapia genică

Imunoterapia s-a dovedit a fi cea mai promițătoare utilizare a vectorilor virali în terapia genică a melanomului, exemple notabile fiind IMLYGIC și celulele CAR-T. Aceste abordări urmăresc oncoliza mediată imun, prin activarea răspunsului imun antitumoral [22,31].

La Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (Facultatea de Medicină, Universitatea din São Paulo), a fost dezvoltat un vector adenoviral nereplicant, AdRGD-PG, cu eficiență de transducție crescută datorită inserției peptidei RGD și activare transcripțională controlată de promotorul PG, sensibil la p53.

Deoarece multe celule de melanom păstrează p53 de tip sălbatic, acest sistem poate stimula expresia genică și induce moarte celulară.

Platforma AdRGD-PG a fost utilizată pentru transferul genelor p14ARF și IFN β , demonstrând în modelul murin B16F10 inducerea unei morți celulare imunogenice (ICD) și activarea unui răspuns imun Th1 [14,19].

În vederea translației către medicina veterinară, au fost creați vectori AdRGD-PG ce exprimă ADNc-urile canine ale p14ARF și IFN β .

De asemenea, au fost izolate trei linii celulare de melanom oral canin, care exprimă p53 sălbatic și sunt permissive la transducție. Aceste linii sunt în curs de testare *in vitro* și *in vivo* (la șoareci BALB/c nuzi), urmând să servească drept dovadă de concept pentru aplicarea în cazuri spontane de melanom oral canin [14,25].

Perspective și direcții viitoare

Viitorul cercetării în melanomul canin ar putea depinde în mare măsură de integrarea tehnologiilor avansate și a medicinei personalizate în practicile standard.

Progresele sunt esențiale nu doar pentru îmbunătățirea diagnosticării și prognosticului, ci și pentru facilitarea dezvoltării unor strategii terapeutice mai eficiente și personalizate pentru melanomul canin, cu potențial de a crește ratele de supraviețuire.

Având în vedere agresivitatea melanomului canin și limitările terapiilor convenționale, cercetarea viitoare ar trebui să

se concentreze pe dezvoltarea unor abordări terapeutice personalizate, integrate și bazate pe profilul molecular al tumorii.

În acest sens, extinderea studiilor privind biomarkerii moleculari și imunologici specifici speciei canine poate contribui la identificarea timpurie a subtipurilor tumorale cu prognostic nefavorabil și la optimizarea tratamentelor. Imunoterapia, în special prin vaccinuri ADN, terapii celulare și inhibitori ai punctelor de control imun, rămâne una dintre cele mai promițătoare direcții, fiind necesare studii clinice de amploare pentru validarea eficienței și siguranței acestor metode.

De asemenea, terapia genică și nano-imunoterapia, prin utilizarea unor vectori specifici și a sistemelor de livrare țintită, oferă un potențial considerabil pentru controlul bolii sistemice și prevenirea metastazelor.

O altă direcție esențială este standardizarea protocoalelor de diagnostic, tratament și urmărire post-terapeutică, pentru a asigura comparabilitatea rezultatelor între studii și pentru a fundamenta ghiduri terapeutice clare în medicina veterinară oncologică. În final, o colaborare mai strânsă între cercetarea oncologică veterinară și cea umană ar putea accelera descoperirea unor soluții terapeutice inovatoare, într-o abordare translatională One Health.

Concluzii

Melanomul canin reprezintă o provocare majoră în oncologia veterinară, datorită agresivității, potențialului crescut de metastazare și răspunsului limitat la terapiile convenționale.

În ciuda progreselor semnificative în înțelegerea patogenezei, tratamentul rămâne dificil, mai ales în stadiile avansate ale bolii.

Terapia chirurgicală rămâne de referință pentru controlul local al tumorii, iar strategiile adjuvante precum radioterapia, chimioterapia și imunoterapia pot contribui la prelungirea supraviețuirii.

Noile abordări, inclusiv terapiile genice și vaccinurile ADN, deschid perspective promițătoare pentru obținerea unui răspuns terapeutic mai eficient și durabil.

Integrarea tehnologiilor moderne de diagnostic și tratament, bazate pe biomarkerii moleculari și imunologici, va juca un rol esențial în personalizarea tratamentului și îmbunătățirea prognosticului câinilor afectați de melanom malign.

Bibliografie

1. **Almela R.M., Ansón A.** (2019). A review of immunotherapeutic strategies in canine malignant melanoma. *Vet. Sci.*, 6:15. doi: 10.3390/vetsci6010015
2. **Bergman P.J., McKnight J., Novosad A., Charney S., Farrelly J., Craft D., Wulderk M., Jeffers Y., Sadelain M., Hohenhaus A.E., et al.** (2003). Long-term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with xenogeneic human tyrosinase: A phase I trial. *Clin. Cancer Res.*, 9:1284–1290.
3. **Böckelmann P.K., Tizziani S.H.S., Durán N., Fávoro W.J.** (2019). New therapeutic perspective for bladder cancer in dogs: toxicological and clinical effects of OncoTherad nanostructured immunotherapy. *J. Phys. Conf. Ser.*, 1323:012022. doi: 10.1088/1742-6596/1323/1/012022.
4. **Bongiovanni L., Brachelente C., Dow S., Bergman P.J.** (2023). Editorial: Canine melanoma in comparative oncology: Translate research advances to develop new diagnostic and therapeutic options. *Front. Vet. Sci.*, 9:1127527. doi: 10.3389/fvets.2022.1127527.
5. **Boria P.A., Murry D.J., Bennett P.F., Glickman N.W., Snyder P.W., Merkel B.L., Schlittler D.L., Mutsaers A.J., Thomas R.M., Knapp D.W.** (2004). Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 224:388–394. doi: 10.2460/javma.2004.224.388.
6. **Boston S.E., Lu X., Culp W.T., Montinaro V., Romanelli G., Dudley R.M., Liptak J.M., Mestrinho L.A., Buracco P.** (2014). Efficacy

- of systemic adjuvant therapies administered to dogs after excision of oral malignant melanomas: 151 cases (2001–2012). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 245:401–407. doi: 10.2460/javma.245.4.401.
7. **Brockley L.K., Cooper M.A., Bennett P.F.** (2013). Malignant melanoma in 63 dogs (2001–2011): The effect of carboplatin chemotherapy on survival. *N. Z. Vet. J.*, 61:25–31. doi: 10.1080/00480169.2012.699433.
 8. **Cancedda S., Rohrer Bley C., Aresu L., Dacasto M., Leone V.F., Pizzoni S., et al.** (2016). Efficacy and side effects of radiation therapy in comparison with radiation therapy and temozolomide in the treatment of measurable canine malignant melanoma. *Vet. Comp. Oncol.*, 14:e146–e157. doi: 10.1111/vco.12122.
 9. **Cristina R.T., Dumitrescu E., Chirilă A.B.** (2019). Elemente de chimioterapie si radioterapie la animale. *Medicamentul Veterinar / Veterinary Drug*, 13(1):8-42
 10. **Cunha S.C.S., Corgozinho K.B., Silva F.B.F., Silva K.V.G.C., Ferreira A.M.R.** (2018). Radiation therapy for oral melanoma in dogs: a retrospective study. *Ciência Rural Santa Maria*, 48:e20160396. doi: 10.1590/0103-8478cr20160396.
 11. **Dank G., Rassnick K.M., Sokolovsky Y., Garrett L.D., Post G.S., Kitchell B.E., Sellon R.K., Kleiter M., Northrup N., Segev G.** (2014). Use of adjuvant carboplatin for treatment of dogs with oral malignant melanoma following surgical excision. *Vet. Comp. Oncol.*, 12:78–84. doi: 10.1111/j.1476-5829.2012.00338.x.
 12. **Durán N., Dias Q.C., Fávoro W.J.** (2019). OncoTherad: a new nanobiological response modifier, its toxicological and anticancer activities. *J. Phys. Conf. Ser.*, 1323:012018. doi: 10.1088/1742-6596/1323/1/012018.
 13. **Escors D.** (2014). Tumour immunogenicity, antigen presentation and immunological barriers in cancer immunotherapy. *New J. Sci.*, 2014:734515. doi: 10.1155/2014/734515.
 14. **Fonseca-Alves C.E., Ferreira Ê., de Oliveira Massoco C., Strauss B.E., Fávoro W.J., Durán N., Oyafuso da Cruz N., Dos Santos Cunha S.C., Castro J.L.C., Rangel M.M.M., Brunner C.H.M., Tellado M., Dos Anjos D.S., Fernandes S.C., Barbosa de Nardi A., Biondi L.R., Dagli M.L.Z.** (2021). Current status of canine melanoma diagnosis and therapy: Report from a colloquium on canine melanoma organized by ABROVET (Brazilian Association of Veterinary Oncology). *Front. Vet. Sci.*, 8:707025. doi: 10.3389/fvets.2021.707025.
 15. **Freeman K.P., Hahn K.A., Harris F.D., King G.K.** (2003). Treatment of dogs with oral melanoma by hypofractionated radiation therapy and platinum-based chemotherapy (1987–1997). *J. Vet. Intern. Med.*, 17:96–101. doi: 10.1892/0891-6640(2003)017<0096:TODWOM>2.3.CO;2.
 16. **Gillard M., Cadieu E., De Brito C., et al.** (2014). Naturally occurring melanomas in dogs as models for non-UV pathways of human melanomas. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 27(1):90–102.
 17. **Giuliano A., Dobson J.** (2020). Prospective clinical trial of masitinib mesylate treatment for advanced stage III and IV canine malignant melanoma. *J. Small Anim. Pract.*, 61:190–194. doi: 10.1111/jsap.13111.
 18. **He X., Gao Y., Deng Y., He J., Nolte I., Murua Escobar H., Yu F.** (2024). The comparative oncology of canine malignant melanoma in targeted therapy: A systematic review of in vitro experiments and animal model reports. *Int. J. Mol. Sci.*, 25(19):10387. doi: 10.3390/ijms251910387.
 19. **Hunger A., Medrano R.F., Zanatta D.B., Del Valle P.R., Merkel C.A., Salles T.A., et al.** (2017). Reestablishment of p53/Arf and interferon-beta pathways mediated by a novel adenoviral vector potentiates antiviral response and immunogenic cell death. *Cell Death Discov.*, 3:17017. doi: 10.1038/cddiscovery.2017.17.
 20. **Ioniță F., Ancuța D., Baciú D.D., Suhăianu V., Gal C., Coman C.** (2020). Evaluation of doxorubicin efficiency in murine melanoma treatment. *Romanian Archives of Microbiology and Immunology*, 79(4):243-251
 21. **Kitchell B.E., Brown D.M., Luck E.E., Woods L.L., Orenberg E.K., Bloch D.A.** (1994). Intralesional implant for treatment of primary oral malignant melanoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 204:229–236.
 22. **Larocca C.A., LeBoeuf N.R., Silk A.W., Kaufman H.L.** (2020). An update on the role

- of talimogene laherparepvec (T-VEC) in the treatment of melanoma: Best practices and future directions. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 21:821–832. doi: 10.1007/s40257-020-00554-8.
23. **Liptak J.M., Withrow S.J.** (2013). Cancer of gastrointestinal tract. In: Withrow S.J., Vail D.M., Page R.L. (Eds.), *Oncologia Clínica de Pequenos Animais*, 5th ed., Elsevier Saunders, St. Louis, MO, pp. 381–395.
 24. **Maekawa N., Konnai S., Ikebuchi R., et al.** (2017). A canine chimeric anti-PD-L1 monoclonal antibody for immunotherapy of canine oral malignant melanoma and undifferentiated sarcoma. *Sci. Rep.*, 7(1):1–11.
 25. **Medrano R.F., Catani J.P., Ribeiro A.H., Tomaz S.L., Merkel C.A., Costanzi-Strauss E., et al.** (2016). Vaccination using melanoma cells treated with p19Arf and interferon beta gene transfer in a mouse model: a novel combination for cancer immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 65:371–382. doi: 10.1007/s00262-016-1807-8.
 26. **Ogilvie G.K., Obradovich J.E., Elmslie R.E., Vail D.M., Moore A.S., Straw R.C., Dickinson K., Cooper M.F., Withrow S.J.** (1991). Efficacy of mitoxantrone against various neoplasms in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 198:1618–1621.
 27. **Pazzi P., Steenkamp G., Rixon A.J.** (2022). Treatment of canine oral melanomas: A critical review of the literature. *Vet. Sci.*, 9(5):196. doi: 10.3390/vetsci9050196.
 28. **Pellin M.A.** (2022). The use of Oncept melanoma vaccine in veterinary patients: A review of the literature. *Vet. Sci.*, 9(11):597. doi: 10.3390/vetsci9110597.
 29. **Prouteau A., André C.** (2019). Canine melanomas as models for human melanomas: Clinical, histological, and genetic comparison. *Genes*, 10(7):501.
 30. **Silveira P.A., Pang L.Y., Di Domenico M., et al.** (2021). COX-2 silencing in canine malignant melanoma inhibits malignant behaviour. *Vet. Comp. Oncol.*, 19(4):571–580.
 31. **Simon B., Uslu U.** (2018). CAR-T cell therapy in melanoma: A future success story? *Exp. Dermatol.*, 27:1315–1321. doi: 10.1111/exd.13792.
 32. **Simpson R.M., Bastian B.C., Michael H.T., Webster J.D., Prasad M.L., Conway C.M., Prieto V.M., Gary J.M., Goldschmidt M.H., Esplin D.G., et al.** (2014). Sporadic naturally occurring melanoma in dogs as a preclinical model for human melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.*, 27:37–47.
 33. **Stevenson V.B., Klahn S., LeRoith T., Huckle W.R.** (2023). Canine melanoma: A review of diagnostics and comparative mechanisms of disease and immunotolerance in the era of the immunotherapies. *Front. Vet. Sci.*, 9:1046636.
 34. **Tuohy J.L., Selmic L.E., Worley D.R., Ehrhart N.P., Withrow S.J.** (2014). Outcome following curative-intent surgery for oral melanoma in dogs: 70 cases (1998–2011). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 245:1266–1273. doi: 10.2460/javma.245.11.1266.
 35. **van der Weyden L., Brenn T., Patton E.E., Wood G.A., Adams D.J.** (2020). Spontaneously occurring melanoma in animals and their relevance to human melanoma. *J. Pathol.*, 252:e5505.
 36. **Ventola C.L.** (2017). Cancer immunotherapy, Part 3: challenges and future trends. *P. T.*, 42:514–521.
 37. **Williams L.E., Packer R.A.** (2003). Association between lymph node size and metastasis in dogs with oral malignant melanoma: 100 cases (1987–2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 222:1234–1236. doi: 10.2460/javma.2003.222.1234.
 38. **Wobeser B.K., Kidney B.A., Powers B.E., Withrow S.J., Mayer M.N., Spinato M.T., et al.** (2007). Diagnoses and clinical outcomes associated with surgically amputated canine digits submitted to multiple veterinary diagnostic laboratories. *Vet. Pathol.*, 44:355–361. doi: 10.1354/vp.44-3-355.
 39. **Wolchok J.D., Yuan J., Houghton A.N., Gallardo H.F., Rasalan T.S., Wang J., Zhang Y., Ranganathan R., Chapman P.B., Krown S.E., et al.** (2007). Safety and immunogenicity of tyrosinase DNA vaccines in patients with melanoma. *Mol. Ther.*, 15:2044–2050. doi: 10.1038/sj.mt.6300290.