

Esposizione degli animali domestici al fumo di tabacco: importanza del modello animale

Exposure of domestic animals to tobacco smoke: the importance of the animal model

Matteo Cerquetella, Massimo Cecaro, Alessandro Fruganti, Vincenzo Zagà

Riassunto

Nel presente articolo vengono presi in considerazione i principali effetti negativi del fumo di tabacco, cercando di indagare anche i meccanismi attraverso i quali questi si possono determinare. In particolare, viene fatto il punto della situazione sugli effetti del fumo passivo sull'uomo, riportando successivamente anche i risultati di studi, retrospettivi e sperimentali, mirati a valutare le conseguenze dell'esposizione, attiva e passiva, sugli animali (bronchite, enfisema, aterosclerosi, linfoma maligno, tumore polmonare), mostrando come talvolta questi possano essere simili a quelli riscontrati nell'umana specie. L'obiettivo degli Autori è quello di puntare l'attenzione sull'importanza del fumo passivo non solo per l'uomo ma anche per gli animali domestici, esaltando il modello animale come fonte di dati utili in medicina umana nello studio delle patologie fumo correlate, soprattutto a fini epidemiologici e prognostici.

Parole chiave: *modello animale, animali domestici, fumo passivo, patologie fumo correlate.*

Summary

In the present article the principal negative effects of tobacco smoke are considered, trying also to investigate mechanisms able to determine them.

Passive-smoke related damages (Bronchitis, emphysema, atherosclerosis, malignant lymphoma, pulmonary neoplasm), will be examined in men and in animals, through retrospective and experimental studies, showing that these can be sometimes considered similar between the two species.

The aim of the Authors is to underline the significance of passive smoke both in men and in animals, showing the importance of the animal model in studying smoke related diseases; results obtained in veterinary medicine can be used in the human one, mainly with epidemiologic and prognostics purposes.

Keywords: *animal model, domestic animals, second hand smoke, smoke related diseases.*

INTRODUZIONE

Lo stretto legame, finanche simbiotico, che a volte si instaura tra animali domestici, cani e gatti in particolare, ed uomo, ha determinato un crescente interesse in medicina veterinaria per patologie che in passato erano appannaggio esclusivo della medicina umana; ciò a motivo, in particolare, dell'esposizione degli animali alle stesse condizioni ambientali dei rispettivi proprietari. In un tale contesto possono essere presi in considerazione anche gli effetti dell'esposizione al fumo di tabacco. La finalità del presente articolo non risulta essere solamente quella di esaminare le conseguenze dell'esposizione al fumo di

tabacco negli animali, cercando di comprendere gli eventuali rischi verso cui questi possono essere esposti nell'ambito della convivenza con l'uomo, ma anche quella di capire quanto il modello animale possa fornire dati epidemiologici e prognostici utili per lo studio delle patologie fumo correlate da poter poi mutuare per l'umana specie, come peraltro ipotizzato da altri Autori¹.

FUMO PASSIVO E DANNI RICONOSCIUTI NELL'UOMO

Dalla combustione di sigaretta, che avviene tra gli 830 e gli 880°C, si sprigionano oltre 4.000 sostanze di diversa natura

chimica² che vengono introdotte tanto nell'organismo del fumatore attivo, in modo volontario, quanto nell'organismo del fumatore passivo, in modo involontario, ma con ovvie differenze quali-quantitative³. Il fumo aspirato direttamente dal fumatore ("main-stream smoke") è diverso per composizione da quello inalato dal non fumatore ("fumo passivo" o "second-hand smoke")⁴ il quale è costituito dal "hexaled main-stream smoke" (corrente terziaria), ossia dal fumo aspirato e successivamente riversato nell'ambiente, e dal "side-stream smoke" (corrente secondaria), cioè dal fumo che si genera per combustione della sigaretta e che passa direttamente nell'ambiente. Più precisamente il fumo passivo

Matteo Cerquetella (*matteo.cerquetella@unicam.it*)
Medico Veterinario, Ricercatore Universitario,
Dipartimento di Scienze Veterinarie
Sezione Clinica, Facoltà di Medicina Veterinaria,
Università degli Studi di Camerino

Alessandro Fruganti
Dipartimento di Scienze
Veterinarie - Facoltà di Medicina
Veterinaria, Università degli
Studi di Camerino

Massimo Cecaro
Medico Veterinario, Libero
Professionista, Giornalista
dell'Associazione Stampa
Medica Italiana

Vincenzo Zagà
U.O. di Pneumotisiologia
Territoriale Azienda USL
di Bologna, Società Italiana
di Tabaccologia (SITAB)

è una miscela che contiene per l'85% "side-stream smoke" e per il 15% "hexaled main-stream smoke"^{2,3}. Come detto, il fumo è costituito da numerose sostanze chimiche, alcune delle quali risultano essere estremamente importanti in particolare a fronte della loro azione cancerogena^{2,3,5}, come ad esempio nel caso del radionuclide Polonio-210⁶. Per tale motivo, l'analisi degli effetti dell'assunzione e dell'esposizione al fumo di tabacco sull'uomo è importante argomento di studio ed è stato favorito nel tempo dalla possibilità di disporre di *markers* biochimici, quali ad esempio il monossido di carbonio⁷, i tiocianati⁸ e la cotinina^{9,10}, principale metabolita della nicotina, il cui dosaggio, sia su siero che su urine, risulta essere un valido indice di esposizione passiva¹¹.

Quello del fumo passivo rappresenta un problema reale come si può evincere dai numerosi studi effettuati in merito e come peraltro si può desumere ad esempio dai dati riportati da Cummings *et al.*¹² i quali ricercando la presenza di cotinina nelle urine di 663 non fumatori hanno rilevato quantità dosabili nel 91% degli indagati, nonostante l'84% delle persone valutate non vivessero con fumatori ed il 76% dichiarasse di non aver avuto contatti con fumatori nei 4 giorni precedenti. Ulteriori dati forniti dal Ministero della Salute risultano essere utili ai fini della comprensione dell'estensione del problema; i risultati di uno studio recente riferiscono, infatti, che circa un adulto su quattro (26.5%) è esposto al fumo passivo in casa¹³. Tra i più rilevanti effetti che il fumo passivo è potenzialmente in grado di determinare nell'uomo ricordiamo quelli a carico dei sistemi cardio-circolatorio e respiratorio. In particolare si è dimostrato nell'uomo che l'esposizione al fumo passivo provoca o è associata ad un aumento della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa¹⁴, nonché della concentrazione di carbossiemoglobina¹⁵; anche l'aggregabilità piastrinica risulta essere aumentata¹⁴, così come si assiste ad una promozione dell'attività neutrofilica¹⁶. In soggetti esposti è stata inoltre evidenziata una correlazione tra fumo e disfunzioni endoteliali^{15,17}, anche a motivo della riduzione delle difese antiossidanti sieriche, di una più veloce perossidazione lipidica e dell'accumulo



di colesterolo nei macrofagi¹⁸; in soggetti esposti si è evidenziata anche una ridotta capacità elastica dell'aorta toracica¹⁹, una riduzione delle *performances* sportive²⁰ e della tolleranza all'esercizio²¹. Altri studi riportano, inoltre, una correlazione tra fumo passivo e otiti medie recidivanti in bambini esposti al fumo²². Come accennato in precedenza, gli effetti del fumo passivo sono evidenti soprattutto a carico dell'apparato respiratorio in adulti e bambini²³ e riguardano condizioni più o meno gravi, tra cui infiammazioni respiratorie, incluse tracheiti e laringiti²⁴, e il peggioramento dei sintomi bronchitici²⁵. Anche l'asma è stata associata al fumo^{26,27}, in particolare la sua insorgenza, le eventuali riacutizzazioni e l'aggravamento di forme preesistenti²⁵; esiste inoltre una associazione dimostrata tra fumo passivo e riduzione della funzionalità respiratoria (FEV1) sia in adulti²⁸ che in bambini esposti²⁹. Infine, il fumo di tabacco è stato associato a tumori polmonari³, anche a fronte di un'assunzione passiva dello stesso⁴, essendo stata peraltro documentata l'associazione tra mortalità per tumori polmonari ed esposizione al fumo passivo domestico³⁰ e il maggior rischio di tumore polmonare in soggetti esposti in ambienti lavorativi³¹. Oramai assodato è dunque il *link* tra processi neoplastici a carico del polmone e il fumo di tabacco, il quale è rappresentato in particolare dalla flogosi cronica bronchiale³² che, evolvendo progressivamente in senso ostruttivo con forte compromissione della *clearance* mucociliare^{33,34}, può associarsi ad una stasi cronica di muco e di particelle della fase *tar*, tra cui anche potenziali cancerogeni^{6,35,36}.

ESPOSIZIONE DEGLI ANIMALI AL FUMO DI TABACCO

Come è facilmente ipotizzabile, dalla stretta convivenza uomo-animale deriva inevitabilmente un aumento reciproco

dei fattori di rischio relativi a patologie differenti, tra cui nella fattispecie si inserisce a pieno titolo l'assunzione del fumo di tabacco ambientale da parte degli animali. La conferma di tale considerazione si ha in letteratura, dove alcuni Autori riferiscono della presenza, nelle urine di animali esposti, di livelli di uno dei *markers* utilizzati in medicina umana, la cotinina, significativamente maggiori rispetto a quanto non evidenziato in soggetti non esposti, similmente peraltro a quanto accade nell'uomo. Lo stesso studio rileva inoltre un rapporto piuttosto diretto tra l'entità dell'esposizione e i livelli di tale molecola nelle urine¹. Relativamente all'esposizione al fumo di tabacco ambientale, va poi ricordato che negli animali domestici e nel gatto in particolare, le vie di assunzione dello stesso possono addirittura essere più numerose rispetto a quelle riconosciute per l'uomo. Alla più frequente inalazione/aspirazione si vanno infatti ad aggiungere l'ingestione delle polveri depositatesi sul mantello, come conseguenza di comportamenti stereotipati quali il leccamento/pulizia dello stesso, e l'assorbimento transdermico a motivo dello stretto contatto diretto che gli animali possono avere con le superfici su cui la componente particolata del fumo può posarsi^{1,37}.

Nel tempo sono stati condotti diversi studi utilizzando il modello animale, sia sperimentali su animali di laboratorio, cani inclusi, che retrospettivi. In particolare sono stati indagati gli effetti del fumo sull'apparato respiratorio di ratti, dove l'esposizione a questo si è dimostrata in grado di indurre non solo ipertrofia, iperplasia ed metaplasia mucosale³⁴, ma anche di determinare un diminuito ritorno elastico polmonare ed altre alterazioni compatibili con lesioni enfisematose, similmente a quanto accadrebbe nell'uomo³⁸. Sempre con l'ausilio di una tracheostomia in cani esposti al fumo è stato rilevato un significativo aumento della resistenza passiva della parete arteriosa quando sottoposta a carichi pressori elevati³⁹. Sempre nel ratto l'esposizione al fumo di sigaretta è stata anche associata ad alterazioni del DNA⁴⁰ e a modificazioni del pattern proteomico polmonare⁴¹. Anche altri modelli animali sono stati presi in considerazione, tra cui: criceti, topi (è

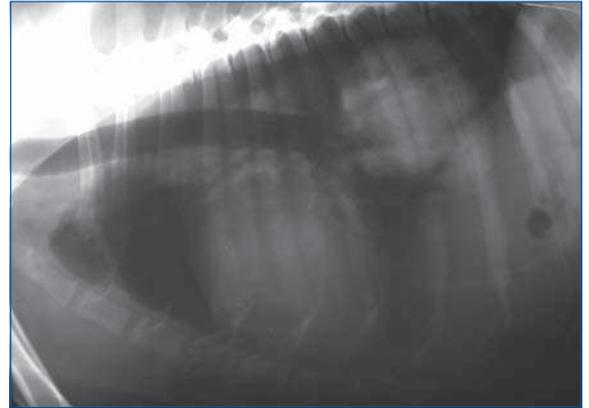
stato riferito lo sviluppo di adenocarcinomi polmonari⁴², scimmie ed anche pecore (l'esposizione è stata correlata ad ipertrofia della mucosa respiratoria tracheale)³⁴. Come accennato, in letteratura sono poi riportati studi effettuati su cani, nei quali, similmente ad altre specie, l'esposizione al fumo di tabacco è stata associata, in particolare, ad un aumentato rischio neoplastico^{37,43} o, più in generale, ad alterazioni parenchimali⁴⁴. Alcuni degli effetti del fumo evidenziati nell'ambito di protocolli di ricerca sperimentali, in cui il fumo veniva somministrato previa tracheostomia, si caratterizzavano per alterazioni della mucosa tracheale e bronchiale sovrapponibili a quelle precedentemente riportate, e simili a quelle evidenziate in soggetti sottoposti al fumo di tabacco con l'ausilio di maschere facciali³⁴. Altri studi hanno, invece, mostrato come l'esposizione al fumo di sigaretta fosse correlabile allo sviluppo di forme neoplastiche (tumori bronchioloalveolari), soprattutto in soggetti per i quali erano state utilizzate sigarette senza filtro⁴⁵. Risultati altrettanto interessanti derivano da studi retrospettivi i quali riportano un aumento del rischio di sviluppare neoplasie polmonari e nasali in cani esposti al fumo di tabacco nel loro ambiente di vita^{46,47}. In particolare è stato messo in evidenza un maggiore rischio di tumore nasale in soggetti dolicocefali e, quindi, dotati di una superficie nasale piuttosto estesa, rispetto ai soggetti brachicefali dove veniva, invece, riportato un maggior rischio di neoplasie polmonari, lasciando ipotizzare quindi un ruolo protettivo nei confronti del polmone da attribuire alla superficie filtrante nasale, a fronte però di un aumento del rischio locale^{46,47}.



Un'ulteriore indicazione che la lunghezza del naso possa influire sull'assorbimento del fumo, riducendone il quantitativo in grado di raggiungere il parenchima polmonare, viene anche fornita da un altro studio retrospettivo che riferisce di maggiori livelli di cotinina urinaria in cani brachicefali rispetto ai dolicocefali¹. Studi recenti effettuati nel gatto hanno inoltre mostrato un aumentato rischio di sviluppare un linfoma maligno in soggetti esposti al fumo di tabacco, riportando anche una correlazione con la durata dell'esposizione e il numero di fumatori presenti⁵. Infine, altri gruppi di lavoro, pur fornendo dati non supportati da una significatività statistica, riferiscono di un aumentato rischio, nel gatto, a sviluppare carcinoma squamo-cellulare orale in gatti esposti al fumo di tabacco per lunghi periodi. Il dato appare ancor più interessante se si considera la correlazione tra carcinoma squamo-cellulare e tabacco, presente nell'uomo³⁷.

MODELLO ANIMALE

Da quanto precedentemente riportato si evince come, anche per gli animali da compagnia, cane e gatto in particolare, sia possibile parlare di rischio correlato all'esposizione al fumo di tabacco ambientale. È, infatti, evidente come alcune delle conseguenze di tale esposizione riscontrabili nell'uomo, possano essere rinvenute in modo analogo anche negli animali. L'importanza di un modello animale come aiuto nel comprendere le complesse dinamiche delle patologie fumo-correlate nell'uomo, deriva, infatti, dalla possibilità di rinvenire nel paziente umano, patologie simili a quelle riscontrate negli animali, dove simili risultano essere talvolta anche gli aspetti istopatologici di alcune delle proliferazioni neoplastiche riscontrate⁴⁸. La presenza di alterazioni vascolari negli animali esposti, similmente a quanto accade nell'uomo (es. aterosclerosi coronarica e aortica o aneurismi aortici)^{39,49} e la correlazione tra fumo e cancro delle cavità nasali, riscontrata tanto in medicina umana^{42,47}



Cane, esame radiografico del torace, proiezione latero-laterale sinistra, decubito destro; si evidenzia la presenza di una neoformazione dorso-caudalmente alla base del cuore.

quanto in veterinaria, sono soltanto alcuni degli esempi che rafforzano il possibile parallelismo tra uomo e animale. La validità del modello animale può essere sicuramente attribuita alla stretta convivenza uomo-animale che porta alla condivisione dei rischi di esposizione, ma anche alle analogie che recenti studi avrebbero messo in evidenza tra il genoma canino e quello umano⁴⁸. Studi effettuati in passato, ad esempio relativi alla fisiopatologia polmonare, confermano l'importanza del modello animale nello studio delle malattie dell'uomo⁵⁰.

CONCLUSIONI

Le patologie correlate al fumo sono oggetto di numerosi ed approfonditi studi in medicina umana, sia per quanto riguarda il fumo attivo che passivo. In letteratura sono presenti lavori che riferiscono di un coinvolgimento in tali problematiche anche degli animali, con particolare riferimento a quelli domestici, i quali sono spesso esposti agli stessi fattori di rischio ambientali, relativi al fumo passivo, cui sono esposti gli esseri umani conviventi con fumatori. La possibilità di utilizzare il modello di studio animale, sia per migliorare la qualità della vita che per abbassare i rischi correlati al fumo, nell'uomo e negli animali con esso conviventi, rappresenta dunque una possibilità concreta e stimolante. ■

Disclosure: Gli autori dichiarano l'assenza di qualsiasi conflitto di interesse.

Ringraziamenti: al dott. Fabrizio Dini per la concessione dell'immagine RX.

Bibliografia

1. Bertone-Johnson ER, Procter-Gray E, Gollenberg AL, Bundga ME, Barber LG. Environmental tobacco smoke and canine urinary cotinine level. *Environ Res* 2008; 106(3): 361-364.
2. Lodovici M, Bigagli E. Biomarkers of Induced active and Passive Smoking Damage. *Int J Environ Res Public Health* 2009; 6: 874-888.
3. Domagala-Kulawik J. Effects of cigarette smoke on the lung and systemic immunity. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59(6): 19-34.
4. Ellis JA, Gwynn C, Garg RK, Philburn R, Aldous KM, Perl SB et al. Secondhand smoke exposure among nonsmokers nationally and in New York City. *Nicotine Tob Res* 2009; 11(4): 362-370.
5. Bertone ER, Snyder LA, Moore AS. Environmental Tobacco Smoke and Risk of Malignant Lymphoma in Pets Cats. *Am J Epidemiol* 2002; 156(3): 268-273.
6. Zagà V, Gattavecchia E. Polonio 210 nel fumo di tabacco: il killer radioattivo/ Polonium 210 in tobacco smoke: the radioactive killer. *Tabaccologia* 2006; 4: 22-28. (http://www.tabaccologia.org/PDF/4_2006/6_42006.pdf)
7. Zagà V, Mura M, Invernizzi G. Monossido di Carbonio e fumo di tabacco/ Carbon monoxide and tobacco smoke. *Tabaccologia* 2007; 4: 27-33. (http://www.tabaccologia.org/PDF/4_2007/13_42007.pdf)
8. Fortntann SP, Rogers T, Vranizan K, Haskell WL, Solomon DS, Farquhar JW. Indirect measures of cigarette use: expired-air carbon monoxide versus plasma thiocyanate. *Prev Med* 1984; 13: 127-135.
9. Hukkanen J, Peyton J III, BENDOWITZ NL. Metabolism and Disposition Kinetics of Nicotine. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 79-115.
10. Benowitz NL, Zevin S, Jacob P. Sources of variability in nicotine and cotinine levels with use of nicotine nasal spray, transdermal nicotine, and cigarette smoking. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 43: 259-267.
11. Rosa M, Pacifici R, Altieri L, Pichini S, Ottavini G, Zuccaro P. How the steady-state cotinine concentration in cigarette smokers is directly related to nicotine intake. *Clin Pharmacol Therap* 1992; 52: 324-329.
12. Cummings KM, Markello SJ, Mahoney M, Bhargava AK, McElroy PD, Marshall JR. Measurement of current exposure to environmental tobacco smoke. *Arch Environ Health* 1990; 45: 74-79.
13. Piano di Applicazione del Divieto di Fumo nei Locali Chiusi. Rassegna degli Effetti del Fumo Passivo sulla Salute: http://www.ministerosalute.it/imgs/c_17_pubblicazioni_649_allegato.pdf.
14. Roscelli F, Tanzi C. Effetti sulla salute del fumo passivo: <http://www.legatumoreggio.it/docs/Materiale%20Didattico%20per%20Formazioni/Pianificatori%20per%20il%20tabagismo/Lega%20Tumori%20Guida%20didattica.pdf#page=130>.
15. Leone A, Balbarini A. Exposure to passive smoking: a test to predict endothelial dysfunction and atherosclerotic lesions. *Angiology* 2008; 59: 220-223.
16. Anderson R, Theron AJ, Richards GA, Myer MS, van Rensburg AJ. Passive smoking by humans sensitizes circulating neutrophils. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 570-574.
17. Kato T, Inoue T, Morooka T, Yoshimoto N, Node K. Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in nonsmokers. *Can J Physiol Pharmacol* 2006; 84(5): 523-529.
18. Valkonen M, Kuusi T. Passive smoking induces atherogenic changes in low-density lipoprotein. *Circulation* 1998; 97: 2012-2016.
19. Stefanadis C, Vlachopoulos C, Tsiamis E, Diamantopoulos L, Toutouzas K, Giatrakos N et al. Unfavorable effects of passive smoking on aortic function in men. *Ann Intern Med* 1998; 128: 426-434.
20. McMurray RG, Hick LL, Thompson DL. Effects of passive inhalation of cigarette smoke on exercise performance. *Eur J Appl Physiol* 1985; 54: 196-200.
21. Glantz SA, Parmley WW. Passive smoking and heart disease: epidemiology, physiology, and biochemistry. *Circulation* 1991; 83: 1-12.
22. Kitchens G. Relationship of environmental tobacco smoke to otitis media in young children. *Laryngoscope* 1995; 105: 1-13.
23. La Grutta S. L'impatto dell'esposizione al fumo di tabacco sulla salute respiratoria in età pediatrica/ *Tobacco Smoke Exposure impact on children's respiratory health*. *Tabaccologia* 2008; 4: 36-42.
24. Tager J. Health effects of passive smoking in children. *Chest* 1989; 96: 1161-1164.
25. Pistelli F. Fumo Passivo e Inquinamento In ed Outdoor. *Tabaccologia* 2009; 1: 18-24.
26. Stoddard JJ, Miller T. Impact of parental smoking on the prevalence of wheezing respiratory illness in children. *Am J Epidemiol*, 1995; 141(2): 96-102.
27. Jindal SK, Gupta D. The relationship between tobacco smoke & bronchial asthma. *Indian J Med Res*. 2004 Nov; 120(5): 443-453.
28. Chan-Yeung M, Dimich-Ward H. Respiratory health effects of exposure to environmental tobacco smoke. *Respirology* 2003; 8(2): 131-139.
29. Cook DG, Strachan DP. Parental smoking, bronchial reactivity and peak flow variability in children. *Thorax* 1998; 53: 295-301.
30. Hackshaw AK, Law MR, Wald NJ. The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. *BMJ* 1997; 315(7114): 980-988.
31. Wells AJ. Lung cancer from passive smoking at work. *Am J Public Health* 1998; 88: 1025-1029.
32. Day MJ. Does inflammation trigger cancer in cats? Proceedings of the WSAVA Congress, Sydney, Australia 2007.
33. Pavia D, Thomson ML, Pocock SJ. Evidence for temporary slowing of mucociliary clearance in the lung caused by tobacco smoking. *Nature*, 1971; 231: 325-326.
34. Nikula KJ, Green FHY. Animal model of chronic bronchitis and their relevance to studies of particle-induced disease. *Inhal Toxicol* 2000; 12: 123-153.
35. Dally H, Hartwig A. Induction and repair inhibition of oxidative DNA damage by nickel(II) and cadmium(II) in mammalian cells. *Carcinogenesis* 1997; 18:1 021-1026.
36. Stohs SJ, Bagchi D, Hassoun E, Bagchi M. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2001; 20: 77-88.
37. Moore AS. Environmental causes of cancer in pets. Proceedings of the WSAVA Congress, Sydney, Australia 2007.
38. Cendon SP, Battlehner C, Lorenzi-Filho G, Dohnikoff M, Pereira PM, Conceicao GMS et al. Pulmonary Emphysema induced by passive smoking: an experimental study in rats. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30(10): 1241-1247.
39. Cox RH, Tulenko T, Santamore WP. Effects of chronic cigarette smoking on canine arteries. *Am J Physiol* 1984; 246: H97-H103.
40. Lima PH, Damasceno DC, Sinzato YK, de Souza Mda S, Salvadori DMF, Calderon Ide M et al. Levels of DNA damage in blood leukocyte samples from non-diabetic and diabetic female rats and their fetuses exposed to air or cigarette smoke. *Mutat Res* 2008; 653: 44-49.
41. Zhang S, Xu N, Nie J, Dong L, Li J, Tong J. Proteomic alteration in lung tissue of rats exposed to cigarette smoke. *Toxicol Lett* 2008; 178: 191-196.
42. Hecht SS. Carcinogenicity studies of inhaled cigarette smoke in laboratory animals: old and new. *Carcinogenesis* 2005; 26(9): 1488-1492.
43. Ogilvie GK, Moore A, Kirpenstein F. Top ten advances in veterinary oncology 2005/2006. 2006 World Congress WSAVA/FECAVA/CSAVA 566-569.
44. Hammond EC, Auerbach O, Kirman D, Garfinkel L. Effects of cigarette smoking on dogs. I. Design of experiment, Mortality, and Findings in Lung Parenchyma. *Arch Environ Health* 1970; 21: 748-753.
45. Auerbach O, Hammond EC, Kirman D, Garfinkel L. Effects of cigarette smoking on dogs. II. Pulmonary neoplasms. *Arch Environ Health* 1970; 21: 754-768.
46. Reif JS, Dunn K, Ogilvie GK, Harris CK. Passive Smoking and Canine Lung Cancer Risk. *Am J Epidemiol* 1992; 135(3): 234-239.
47. Reif JS, Bruns C, Lower KS. Cancer of the Nasal Cavity and Paranasal Sinuses and Exposure to Environmental Tobacco Smoke in Pet Dogs. *Am J Epidemiol* 1998; 147(5): 488-492.
48. Khanna C. Informing the Development Path of New Cancer Drugs through a Comparative Approach. Proceedings of Annual Meeting of ACVP and ASVCP, Tucson, Arizona 2006.
49. Cox RH, Santamore WP, Tulenko TN. Alterations in canine coronary arteries produced by chronic cigarette smoking. *Proc Soc Exp Biol Med* 1986; 181(1): 157-162.
50. Thomas RD, Vigerstad TJ. Use of Laboratory Animal Models in Investigating Emphysema and Cigarette Smoking in Humans. *Regul Toxicol Pharmacol* 1989; 10: 264-271.