



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Linfoma Multicêntrico Canino

Jéssica Andreia Coelho Macarrão

Orientador(es) | David Orlando Ferreira
Gonçalo Nuno Petrucci Maurício
Maria Teresa Oliveira

Évora 2021



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Linfoma Multicêntrico Canino

Jéssica Andreia Coelho Macarrão

Orientador(es) | David Orlando Ferreira
Gonçalo Nuno Petrucci Maurício
Maria Teresa Oliveira

Évora 2021



O relatório de estágio foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora)

Vogais | David Orlando Ferreira (Universidade de Évora) (Orientador)
Felisbina Luísa Pereira Guedes Queiroga (Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro) (Arguente)

Agradecimentos

Aos meus pais, um grande obrigado por serem os meus melhores amigos e tornarem-me a pessoa que sou hoje, pelos valores que represento e por todos os objetivos que consegui alcançar. Tudo isso só foi possível devido ao exemplo excepcional que trago de casa e ao apoio incondicional que tenho constantemente. Espero um dia poder chegar aos vossos calcanhares e ser metade daquilo que vocês são como pais e como profissionais.

Ao Professor David Ferreira, um grande obrigado por todo o companheirismo, ajuda, disponibilidade, paciência e calma tanto a nível da realização da tese como a nível pessoal. Não existem palavras suficientes para prestar os meus agradecimentos por tudo o que fez por mim, espero que continue a ser o excelente profissional e professor que é.

Ao Dr Gonçalo Petrucci, quero agradecer por todos os ensinamentos e espírito de entre ajuda demonstrado durante o estágio, e por toda a amizade gerada que trago com muito carinho no meu coração. À sua prontidão para auxiliar no enriquecimento deste relatório, pela disponibilidade demonstrada e por todo o conhecimento partilhado. De facto, foi uma bênção no meu estágio curricular ter sido acompanhada por este grande exemplo tanto a nível profissional como pessoal, que para além de médico, será um professor excepcional.

Ao meu irmão, por ser o ídolo da minha vida, um exemplo a seguir, tanto pela perseverança e determinação demonstrada como pelo apoio nesta luta que é a tese e a vida em geral. Obrigada por teres lutado as minhas batalhas quando me faltavam forças para lutar. Sem ti, a minha base do alicerce, nunca poderia ter me tornado tão forte. Sabes que és o meu orgulho e espero um dia poder ser tão boa profissional como tu.

Ao Tiago, o meu namorado, obrigada pela cumplicidade e companheirismo, tens um lugar muito especial no meu coração. Obrigado por seres o Yin para o meu Yang.

À minha família que acompanhou a minha vida e esta longa jornada nestes seis anos, com especial carinho à avó Veva que foi a melhor companheira de casa e de vida universitária que alguma vez me podia ter calhado. Obrigada por seres a pessoa mais genuína e bondosa que conheço, és o exemplo pelo qual a sociedade se devia reger.

À Pimba, a minha verdadeira “madrinha”, a minha companheira de longas noites de estudo, de saídas, de conversas, de “cafés”, sem ti esta tese não podia ter sido realizada. Obrigada pela amizade e companheirismo vivenciados antes, durante e após a universidade.

À minha afilhada, por toda a confiança depositada, pelas longas conversas e pelos guinchos e gargalhadas. Obrigada por seres um “mini mim”.

Às grandes amigas que se criaram na Mui Nobre e Sempre Leal Cidade de Évora, em especial à Sofs, à Guida, à Charol, à Mesqui, à Rachel e ao Frieza, com quem pude vivenciar os melhores e piores momentos da minha vida, irei para sempre recordar tanto as noites sem fim, tanto de estudo como de farra. Muito obrigada por mostrarem o valor da verdadeira amizade.

Ao “Tio” Luís e à Barroso, obrigada pelo vosso apoio excecional e pelos ser humanos incríveis que são.

Às minhas amigas de Vizela, Márcia, Benedita, Filipa e Joana pela amizade duradoura e genuína. Sei que posso sempre contar convosco e agradeço todo o apoio demonstrado.

Aos meus queridos amigos de estágio, pela partilha de conhecimentos e vivências, pela camaradagem e amizade, nos momentos de maior aperto sempre se sobressaiu a união entre nós. Um especial obrigada ao Virgílio e à Joana que sei que levo a vossa amizade para a vida.

A toda a equipa do HVP, pela evolução a nível profissional e pessoal que me proporcionaram, pela ajuda, paciência e pelas amizades que levo para a vida.

A toda as pessoas que por algum motivo fizeram parte deste percurso académico, um profundo agradecimento repleto de amor e de memórias.

Por último, mas não menos importante, a todos os “patudos” que tive a sorte de terem passado na minha vida, em especial ao Caia, ao Kenai, ao Riscas, ao Anúbis, ao Farrusco, e ao Max. Caia, estrelinha no céu mais brilhante e cintilante obrigada por me mostrares o que é bondade mais genuína num animal. Espero que estejas sempre a olhar por mim e que a oncologia em medicina veterinária possa continuar a progredir para que nenhum animal tenha que sofrer como tu sofreste.

Resumo

O presente relatório de estágio foi elaborado no âmbito da conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora, estando dividido em duas partes. A primeira parte engloba a análise estatística de toda a casuística presenciada pela autora ao longo do estágio curricular realizado no Hospital Veterinário do Porto (HVP), desde 1 de setembro de 2020 a 28 de fevereiro de 2021. A segunda parte inclui uma monografia sobre o tema “Linfoma Multicêntrico Canino”, seguindo-se a descrição e discussão de um caso clínico.

A prevalência tumoral tem vindo a aumentar ao longo dos anos, sendo uma das maiores causas de morte nos animais de companhia. O linfoma multicêntrico é o tumor mais comum na espécie canina. Devido ao grande impacto na saúde e bem-estar animal, surgiu a necessidade de adquirir um conhecimento mais amplo e rigoroso da doença.

Palavras chaves: Linfoma multicêntrico canino, oncologia, cirurgia, linfoma, cão.

Canine Multicentric Lymphoma

Abstract

The present internship report was elaborated to conclude the master's degree in Veterinary medicine from the University of Évora and it is divided in two parts. The first part includes statistical analysis of all followed clinical cases during the internship on Hospital Veterinário do Porto, from 1st of September of 2020 to 28th of February of 2021. The second part consist of a monograph about “Canine multicentric lymphoma” followed by the presentation and discussion of a clinical case.

Tumor prevalence has increased over the years, being one of the biggest causes of death in domestic animals. Multicentric lymphoma is the most common tumor in the canine species. Due to the major impact on animal health and welfare, there is a growing need to acquire a broader and more rigorous knowledge of the disease.

Key words: Canine multicentric lymphoma, oncology, surgery, lymphoma, dog.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract.....	iv
Índice	v
Índice de gráficos.....	ix
Índice de tabelas	x
Índice de figuras	xiii
Lista de abreviaturas e siglas	xiv
Introdução.....	1
I. Relatório de casuística.....	2
1. Hospital Veterinário do Porto.....	2
2.Descrição das atividades desenvolvidas	2
3.Distribuição da casuística por espécie animal	4
4. Distribuição da casuística por área clínica	4
4.1. Medicina preventiva	5
4.2. Clínica médica	6
4.2.1. Cardiologia.....	7
4.2.2. Dermatologia.....	7
4.2.3. Doenças infecciosas e parasitárias	8
4.2.4. Endocrinologia	9
4.2.5. Gastroenterologia e Glândulas anexas	9
4.2.6. Ginecologia, andrologia e obstetrícia.....	11
4.2.7. Hematologia	11
4.2.8. Nefrologia e urologia	12

4.2.9. Neurologia.....	13
4.2.10. Odontostomatologia	13
4.2.11. Oftalmologia.....	14
4.2.12. Oncologia	15
4.2.13. Otorrinolaringologia.....	16
4.2.14. Pneumologia.....	17
4.2.15. Sistema músculo-esquelético	18
4.2.16. Toxicologia.....	18
5. Clínica Cirúrgica	19
5.1. Cirurgia de tecidos moles	20
5.2. Cirurgia odontológica	20
5.3. Cirurgia oftalmológica.....	21
5.4. Cirurgia ortopédica	21
5.5. Neurocirurgia.....	22
6. Procedimentos médicos	22
7. Exames complementares de diagnóstico	23
8. Contribuição da casuística para o desenvolvimento pessoal e profissional	24
II Monografia- Linfoma Multicêntrico Canino	26
1.Introdução.....	26
2. Epidemiologia do linfoma no cão.....	26
3. Etiologia	27
3.1 Fatores genéticos e moleculares.....	27
3.2 Fatores infecciosos	30
3.3 Fatores ambientais	31
3.4 Fatores imunológicos.....	32
4. Classificação do linfoma	33

4.1 Classificação anatômica do linfoma	33
4.2 Forma multicêntrica	34
5. Sistemas de classificação.....	35
6. História e sinais clínicos	37
7. Síndromes paraneoplásicas.....	38
8. Diagnóstico.....	38
8.1 Exame físico	39
8.2 Exames laboratoriais.....	40
8.2.1 Hemograma	40
8.2.2 Análise bioquímica.....	41
8.2.3 Urinálise	42
8.3 Outros exames de diagnóstico	42
8.3.1 Avaliação citológica.....	42
8.3.2 Avaliação histopatológica	45
8.3.3 Técnicas de diagnóstico molecular	46
9. Estadiamento	51
9.1 Avaliação da medula óssea	51
9.2 Imagiologia	52
9.2.1. Radiografia e ultrassonografia	52
9.2.2. Diagnósticos imagiológicos mais avançados	53
10. Tratamento.....	54
10.1 Quimioterapia	56
10.1.2. Protocolos quimioterápicos de múltiplos agentes	57
10.1.3. Protocolos quimioterápicos de agentes únicos.....	61
10.1.4. Tratamento do linfoma T multicêntrico	62
10.1.5. Avaliação da resposta terapêutica	63

10.1.6. Protocolos de reindução ou resgate.....	64
10.1.7. Efeitos adversos à quimioterapia.....	65
10.2 Outros tratamentos.....	66
10.2.1 Imunoterapia.....	66
10.2.2 Cirurgia.....	67
10.2.3 Radioterapia.....	67
11. Prognóstico.....	68
11.1 Fatores de prognóstico.....	68
III- Caso clínico- Boss.....	71
1. Identificação do animal.....	71
2. Anamnese e exame clínico.....	71
3. Exames realizados.....	72
4. Tratamento e evolução clínica.....	76
5. Discussão.....	77
IV- Conclusão.....	83
Referências bibliográficas.....	84
ANEXOS.....	99
Anexo 1- Resultados do exame citológico dos linfonodos poplíteos.....	99
Anexo 2- Protocolo quimioterápico CHOP de 19 semanas utilizado no Boss.....	100
Anexo 3- Resultado da análise de citometria de fluxo.....	101

Índice de gráficos

Gráfico 1 - Gráfico representativo da distribuição dos 845 casos acompanhados por espécie animal, expresso em frequência relativa (%)......	4
--	---

Índice de tabelas

Tabela 1 - Distribuição da casuística observada pelas três áreas clínicas principais (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=845).	5
Tabela 2 - Distribuição dos procedimentos observados no contexto da Medicina Preventiva (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=79).	5
Tabela 3 - Distribuição da casuística observada nas diferentes áreas da clínica médica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=735).	6
Tabela 4 - Distribuição da casuística observada na área de cardiologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=39)..	7
Tabela 5 - Distribuição da casuística observada na área de dermatologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=54)..	8
Tabela 6 - Distribuição da casuística observada na área de doenças infecciosas e parasitárias (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=39).	8
Tabela 7 - Distribuição da casuística observada na área de endocrinologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=15)..	9
Tabela 8 - Distribuição da casuística observada na área de gastroenterologia e glândulas anexas (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=145).	10
Tabela 9 - Distribuição da casuística observada na área de ginecologia, andrologia e obstetrícia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=22).	11
Tabela 10 - Distribuição da casuística observada na área de hematologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=93). 12	
Tabela 11 - Distribuição da casuística observada na área de nefrologia e urologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=83).	12
Tabela 12 - Distribuição da casuística observada na área de neurologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=28). 13	

Tabela 13 - Distribuição da casuística observada na área de odontoestomatologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=23).	14
Tabela 14 – Distribuição da casuística observada na área de oftalmologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=41).	14
Tabela 15 – Distribuição da casuística observada na área de oncologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=60).	15
Tabela 16 - Distribuição da casuística observada na área de otorrinolaringologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=18).	16
Tabela 17 - Distribuição da casuística observada na área de pneumologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=44).	17
Tabela 18 - Distribuição da casuística observada na área do sistema músculo-esquelético (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=27).	18
Tabela 19 - Distribuição da casuística observada na área da toxicologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=4).	19
Tabela 20 – Distribuição da casuística observada nas diferentes áreas da clínica cirúrgica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=31).	19
Tabela 21 - Distribuição da casuística observada na área da cirurgia de tecidos moles (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=18).	20
Tabela 22 - Distribuição da casuística observada na área da cirurgia odontológica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=5).	20
Tabela 23 - Distribuição da casuística observada na área da cirurgia oftalmológica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=4).	21
Tabela 24 - Distribuição da casuística observada na área da cirurgia ortopédica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=2).	21

Tabela 25 - Distribuição da casuística observada na área da neurocirurgia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=2)..	22
Tabela 26 - Distribuição da casuística observada nos procedimentos médicos efetuados (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=45).	22
Tabela 27 - Distribuição da casuística observada nos exames complementares de diagnóstico (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=361).	23
Tabela 28 - Evidência a incidência do linfoma consoante a raça do animal (adaptado do Zandvliet 2016). ¹²	27
Tabela 29 - Alterações verificadas conforme o tipo celular afetado. ^{8, 20}	29
Tabela 30 – Classificação clínica do linfoma em animais de companhia de acordo com Organização mundial de saúde (OMS) (adaptado de Vail et al, 2020) ⁴¹ .	34
Tabela 31 - Critérios de malignidade citológica adaptado de (WSAVA2006 - VIN, 2019)	43
Tabela 32 - Representação dos padrões de eletroforese arquetípicos, a sua descrição técnica, interpretação e considerações alternativas prováveis (adaptado de Keller et.al, 2016). ⁸⁷	50
Tabela 33 - Caracterização da resposta ao tratamento, de acordo com as normas RECIST- “ <i>Response Evaluation Criteria In Solid Tumours</i> ” - (v1.0), do VCOG (adaptado de Vail et al, 2010). ⁹²	57
Tabela 34 - Protocolo CHOP, curto de 19 semanas, da Universidade de Wisconsin-Madison (adaptado de Vail, 2020). ⁴¹	59
Tabela 35 - Toxicidades mais frequentes associadas aos agentes quimioterápicos (adaptado de Couto, 2019). ¹¹⁶	66
Tabela 36 - Fatores de prognóstico para o linfoma canino (adaptado do Vail et al, 2020). ⁴¹	70
Tabela 37 - Resultados do hemograma realizado a 05 de fevereiro de 2021, os intervalos de referência são adaptados do HVP.	72
Tabela 38 - Resultados da análise bioquímica realizada dia 05 de fevereiro de 2021, os intervalos de referências são adaptadas do HVP.	73

Índice de figuras

Figura 1 - Cão com apresentação clínica de linfadenopatia submandibular como resultado de um linfoma multicêntrico. Imagem gentilmente cedida pelo HVP.....	38
Figura 2 - Esquematização das várias etapas do exame físico (adaptado de Vail et al, 2020). ⁴¹	40
Figura 3 - Árvore de decisão diagnóstica do Linfoma Canino, adaptado de (Turek et al, 2008) ⁶⁵	54
Figura 4 - Radiografia torácica do Boss, em projeção lateral. Imagem gentilmente cedida pelo HVP.	74
Figura 5 - Nódulo esplênico de ecogenicidade mista. Imagem gentilmente disponibilizada pelo HVP.....	75

Lista de abreviaturas e siglas

ADH- Hormona antidiurética

ADN- Ácido desoxirribonucleico

AHIM- Anemia hemolítica
imunomediada

ATP- Adenosina trifosfato

BID- Duas vezes ao dia

CCNU- Vincristina, L-asparaginase,
ciclofosfamida e lomustina

CD- Marcadores antigénios

CHOP- Ciclofosfamida, doxorrubicina,
vincristina e prednisolona

CNAs- Alterações no número de cópias
do DNA

COAP- Ciclofosfamida, vincristina,
citosina arabinósido e prednisona

COP- Ciclofosfamida, vincristina e
prednisolona

DAPP- Dermatite alérgica à picada da
pulga

DDx- Diagnósticos diferenciais

DE- Doença estável

DLBCL- Linfoma difuso de grandes
células B

DMAC- Dexametasona, melfalano,
actinomicina D e citarabina
Arabinosídeo

DP- Doença progressiva

DRM- Doença residual mínima

EBV- Vírus Epstein-Barr

ECG- Eletrocardiograma

ECVD- Colégio Europeu de
Dermatologia Veterinária

FDG- 18F-Fluorodeoxiglicose

Fi- Frequência absoluta da afeção ou
procedimento

Fip- Frequência absoluta relativa à
espécie animal

FIV- Vírus da Imunodeficiência Felina

FLT- Fluorotimidina F-18

Fr%- Frequência relativa em
percentagem

GI- Gastrointestinal

HVP- Hospital Veterinário do Porto

Ig- Imunoglobulina

IV- Intravenoso

LDGCD- Linfoma difuso de grandes
células B

LDH- Lactato desidrogenase sérica	PTHrP- Péptido relacionado com a hormona paratiroide
LMP- Clorambucil, metotrexato e prednisolona	RC- Remissão completa
LNH- Linfoma Não Hodgkin	R-CHOP- Rituximabe CHOP
LOPP- Lomustina, vincristina, prednisolona e procarbazina	REAL- “ <i>Revised European-American Classification</i> ”
MALT- Linfoma do tecido linfoide associado à mucosa	RECIST- “ <i>Response Evaluation Criteria In Solid Tumours</i> ”
MDR- Resistência a múltiplas drogas	RM- Ressonância magnética
MOPP- Mecloretamina, vincristina, prednisolona e procarbazina	RP- Remissão parcial
NF-κB- Fator nuclear Kappa B	SID- Uma vez ao dia
OMS- Organização mundial de saúde	TAC- Tomografia Axial Computorizada
OVH- Ovariohisterectomia	TCR- Deleções parciais do recetor das células T
PARR- Punção aspirativa com agulha fina	TSM- Tempo de sobrevivência médio
PCNA- Antigénio nuclear de proliferação celular	US FDA- United States Food and Drug Administration
PCR- Reação em cadeia da polimerase	VCOG- <i>Veterinary cooperative oncology group</i>
PET- Tomografia por emissão de positrões	VELCAP-TSC- Doxorrubicina, prednisolona, procarbazina e mecloretamina
PO- Oralmente	

Introdução

O presente relatório de estágio foi realizado como parte integrante no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora e tem como finalidade a descrição das diversas atividades realizadas no estágio curricular.

O estágio foi realizado no Hospital Veterinário do Porto, na área de clínica e cirurgia de animais de companhia, por um período de seis meses, desde 1 de setembro de 2020 até 28 de fevereiro de 2021. Este foi executado sob a orientação interna do Professor David Ferreira e orientação externa do Dr. Gonçalo Petrucci.

O relatório encontra-se dividido em duas partes distintas: relatório de casuística e monografia. A primeira consiste num tratamento estatístico dos casos observados e tarefas desempenhadas durante o estágio curricular, organizados e divididos devidamente pelas respetivas áreas.

A monografia consiste na revisão bibliográfica do tema escolhido pela autora: “Linfoma Multicêntrico em cães” e a exposição de um caso clínico observado no período de estágio, seguido da sua discussão com base nos conhecimentos adquiridos e aprofundados relativamente ao tema.

I. Relatório de casuística

1. Hospital Veterinário do Porto

O Hospital Veterinário do Porto (HVP) foi fundado em 1998. Desde 2012 pertence ao *onevet group* que se caracteriza por um conjunto de clínicas e hospitais veterinários de referência a nível nacional. É constituído por um amplo corpo clínico, com 27 funcionários, incluindo médicos veterinários, enfermeiros veterinários e auxiliares.

A prestação de serviços médico-veterinários é feita 24 horas por dia, 365 dias por ano, sendo assegurada pela equipa clínica do HVP do qual fazem parte profissionais multifacetados e preparados para abranger as diversas áreas nomeadamente em anestesia, cardiologia, cirurgia, comportamento animal, dermatologia, endocrinologia, estomatologia, gastroenterologia, imagiologia, medicina interna, nefrologia, neurologia, nutrição, oftalmologia, oncologia, ortopedia, reprodução e obstetrícia. Devido ao interesse diversificado por parte do corpo clínico e pelas tecnologias inovadoras que este hospital possui, é considerado um hospital de referência a nível nacional, o que permitiu à aluna ter um estágio com casuística diversificada, enriquecendo e fortalecendo o seu conhecimento teórico através da componente prática.

O HVP estruturalmente é constituído por uma receção com sala de espera, quatro consultórios, sendo que um é dedicado exclusivamente para os animais da espécie felina, um internamento para a espécie canina e outro para a espécie felina, uma unidade para as afeções infetocontagiosas e uma unidade de cuidados intensivos. Possui sala de radiografia, ecografia, ecocardiografia e tomografia axial computadorizada (TAC), um laboratório, farmácia, banco de sangue, sala de quimioterapia, duas salas de cirurgia, uma sala de cirurgia de mínima invasão, sala pré-cirúrgica, sala de esterilização e equipamentos para cirurgia.

2. Descrição das atividades desenvolvidas

Durante o estágio curricular, a estagiária pôde usufruir de uma aprendizagem mais completa e variada com as distintas e importantes áreas do hospital, designadamente consultas, internamento, cirurgia e serviço de urgências.

Inicialmente o horário semanal da estagiária era composto por três tipos de horários, das 9h às 17h com uma hora de almoço, bipartido das 9h às 20h com pausa de almoço das 13h às 16h ou no caso de estar no serviço de urgência seria das 20h às 9h.

No entanto, devido à pandemia que enfrentamos no ano de 2020/2021, os horários tiveram que ser ajustados de modo que houvesse o menor contacto possível entre os diferentes funcionários do hospital e de forma que esta situação extraordinária não afetasse o estágio dos estudantes de medicina veterinária. Por esta razão, o grupo de estagiários que englobava 12 pessoas, foi dividido de maneira que cada grupo fizesse duas semanas por mês, alternadas, em que o horário seria das 9h às 20h com apenas uma hora de almoço ou então em caso de estar no serviço de urgência o horário seria das 20h às 9h.

No internamento a estagiária participou na monitorização, avaliação e na escolha da terapêutica mais adequada para administrar ao animal internado ou recém-internado. No início da manhã a estagiária realizava a avaliação clínica do animal através do exame físico do estado geral do mesmo e reportava as alterações encontradas no exame físico seguido da discussão e avaliação do caso.

As fichas de internamento individuais eram atualizadas diariamente e para além dos exames de estado geral serem anotados na ficha de cada animal, esta também continha informações importantes como o diagnóstico, o plano terapêutico e os exames complementares necessários a realizar nesse dia.

Nas semanas de cirurgia era permitido à estagiária, auxiliar na preparação pré-cirúrgica, no procedimento cirúrgico e na monitorização pós-cirúrgica.

Nas consultas a estagiária pôde consolidar conhecimentos de diferentes áreas e assistir o médico veterinário no necessário.

Devido à elevada casuística observada neste hospital e à possibilidade do acompanhamento dos vários casos clínicos pela estagiária, foi possível recolher informação sobre os pacientes para a elaboração da análise estatística. É importante realçar que neste estudo casuístico, os valores tabelados não estão a contabilizar o animal em si, mas as afeções e os procedimentos observados/executados em cada animal. Posto isto, tendo em conta a história clínica do animal, e que este pode apresentar afeções concomitantes, o mesmo poderá ser contabilizado mais do que uma vez.

Para uma abordagem mais clara os dados foram agrupados consoante a área clínica que pertenciam (medicina preventiva, clínica médica ou clínica cirúrgica) e

tabelados por ordem alfabética. No final da análise estatística dos casos observados a autora desenvolverá uma breve discussão sobre a casuística. As tabelas expõem a frequência absoluta relativa à espécie animal (Fip), a frequência absoluta da afeção ou procedimento (Fi), a frequência relativa em percentagem (Fr (%)) e o número total de casos acompanhados. Por conseguinte, há uma melhor visualização de quais as ocorrências mais comuns em cada espécie e área clínica.

3. Distribuição da casuística por espécie animal

No estágio curricular foram acompanhados no total 845 casos da espécie canídea e felídea. A espécie com maior casuística foi a canídea que apresenta uma frequência absoluta (Fi) de 487 o que corresponde a uma frequência relativa (Fr%) de 58% enquanto a espécie felídea apresenta uma Fi=358 traduzindo-se numa frequência relativa Fr=42%.

O gráfico 1 demonstra a distribuição por espécie animal.

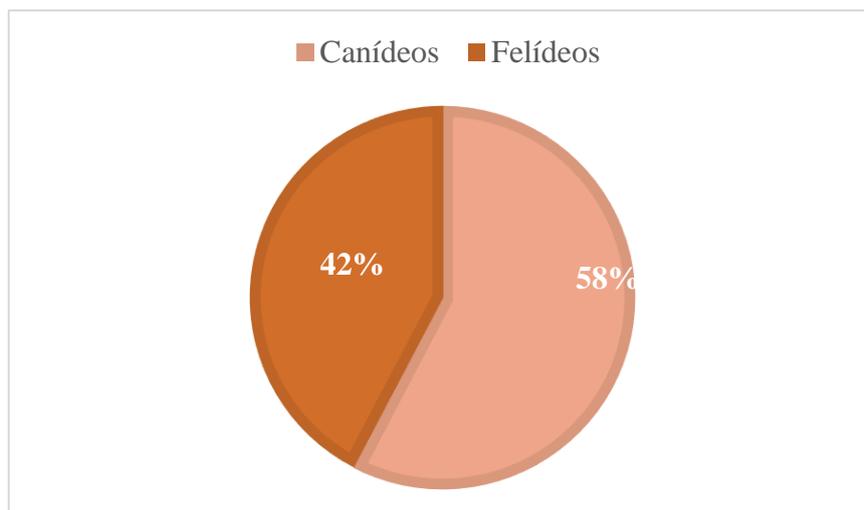


Gráfico 1 - Gráfico representativo da distribuição dos 845 casos acompanhados por espécie animal, expresso em frequência relativa (%).

4. Distribuição da casuística por área clínica

A tabela 1 apresenta a divisão das espécies de animais pelas três grandes áreas clínicas.

A área com maior destaque foi a clínica médica (87,0%) seguida da área de medicina preventiva (9,3%) e da clínica de cirúrgica 3,7%). O reduzido número de casos observados na área da clínica de cirurgia é justificada pelo horário rotacional do

estagiário, à mudança de horário devido às condições pandêmicas e à variabilidade da casuística dependendo das semanas em que o estagiário está escalado. Em todas estas áreas a espécie canina foi a que apresentou maior prevalência.

Tabela 1 - Distribuição da casuística observada pelas três áreas clínicas principais (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=845).

Área Clínica	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Clínica cirúrgica	17	14	31	3,7
Clínica médica	414	321	735	87,0
Medicina Preventiva	56	23	79	9,3
Total	487	358	845	100

4.1. Medicina preventiva

Como observado na tabela 2 o procedimento mais executado foi a vacinação (55,7%), seguida da desparasitação (39,2%) e identificação eletrónica (5,1%).

Os casos de medicina preventiva só foram contemplados em contexto de consulta e o HVP é um hospital de referência, pelo que apresenta uma elevada casuística nas consultas de especialidade. Por esta razão, a estagiária presenciou algumas consultas de medicina preventiva, mas, houve uma elevada diversidade de consultas de outras especialidades, pelo que o número de casos observados nesta área foi reduzido comparado com as restantes.

Tabela 2 - Distribuição dos procedimentos observados no contexto da Medicina Preventiva (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=79).

Medicina Preventiva	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Desparasitação	21	10	31	39,2
Identificação eletrónica	4	0	4	5,1
Vacinação	31	13	44	55,7
Total	56	23	79	100

4.2. Clínica médica

Como foi referido anteriormente esta é a área que apresenta um maior impacto na casuística uma vez que abrange todas as escalas de rotação. Nas consultas, sempre que era necessário, o animal era encaminhado para o internamento do hospital, para proceder ao devido diagnóstico e tratamento médico através da elaboração de exames complementares. No internamento, em alguns casos, o mesmo animal era diagnosticado com mais do que uma condição. De maneira que, esta área representa as afeções diagnosticadas ao longo do estágio curricular.

Ao analisar a tabela 3, podemos constatar que dentro desta área clínica, a gastroenterologia foi a que teve maior impacto na casuística (19,7%), seguida da hematologia (12,4%), tanto na espécie canídea e felídea.

Tabela 3 - Distribuição da casuística observada nas diferentes áreas da clínica médica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=735).

Clínica Médica	Canídeos	Felídeos	Fi	Fr (%)
Cardiologia	26	13	39	5,3
Dermatologia	44	10	54	7,3
Doenças infecciosas e parasitárias	11	28	39	5,3
Endocrinologia	6	9	15	2,0
Gastroenterologia e Glândulas	77	68	145	19,7
Ginecologia, andrologia e	21	1	22	3,0
Hematologia	52	41	93	12,7
Nefrologia e urologia	22	61	83	11,3
Neurologia	24	4	28	3,8
Odontoestomatologia	10	13	23	3,1
Oftalmologia	33	8	41	5,6
Oncologia	40	20	60	8,2
Otorrinolaringologia	13	5	18	2,4
Pneumologia	14	30	44	6,0
Sistema músculo-esquelético	19	8	27	3,7
Toxicologia	2	2	4	0,5
Total	414	321	735	100

4.2.1. Cardiologia

A especialidade de cardiologia representa 5,3% da área da clínica médica. Segundo a análise da tabela 4, a afeição mais comum nesta especialidade varia consoante a espécie animal, posto isto, a condição mais observada na espécie felina é a cardiomiopatia hipertrófica (25,6%) e na espécie canina é a degenerescência mixomatosa da válvula mitral (25,6%).

Tabela 4 - Distribuição da casuística observada na área de cardiologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=39).

Cardiologia	Canídeos	Felídeos	Fi	Fr
Cardiomiopatia Dilatada	5	0	5	12,8
Cardiomiopatia Hipertrófica	0	10	10	25,6
Degenerescência mixomatosa da válvula	10	0	10	25,6
Degenerescência mixomatosa da válvula	3	0	3	7,7
Efusão Pericárdica	2	3	5	12,8
Estenose da válvula pulmonar	1	0	1	2,6
Estenose sub-aórtica	1	0	1	2,6
Insuficiência Cardíaca Congestiva	2	0	2	5,1
Persistência do ducto arterioso	1	0	1	2,6
Standstill atrial	1	0	1	2,6
Total	26	13	39	100

4.2.2. Dermatologia

A dermatologia retrata 7,3% da área da clínica médica. Esta especialidade foi maioritariamente acompanhada com a Doutora Diana Ferreira, especialista europeia em dermatologia veterinária, creditada pelo Colégio Europeu de Dermatologia Veterinária (ECVD). Tendo conhecimento desta oportunidade, a estagiária tentou tirar o maior proveito no momento das consultas de dermatologia, no entanto, a médica veterinária trabalha com o *onevet group* e não trabalha exclusivamente com o HVP portanto, as rotações estabelecidas na semana da estagiária poderiam não coincidir com o horário da médica.

Neste ramo da medicina veterinária as afeições mais recorrentes foram dermatite alérgica à picada da pulga (DAPP) e dermatite atópica, ambas contêm uma Fr (%) =14,8%.

Tabela 5 - Distribuição da casuística observada na área de dermatologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=54).

Dermatologia	Tipo	Canídeos	Felídeos	Fi	Fr (%)
Abcessos subcutâneos		0	3	3	5,6
Angioedema		2	0	2	3,7
Complexo granuloma		0	2	2	3,7
Dermatite alérgica	Atopia	8	0	8	14,8
	DAPP	5	3	8	14,8
	Hipersensibilidade	2	0	2	3,7
	Por contacto	1	0	1	1,9
Dermatite por		6	0	6	11,1
Dermatofitose		4	1	5	9,3
Lacerações cutâneas		4	0	4	7,4
Piodermatite profunda	Fístula perianal	1	1	2	3,7
	Furunculose	2	0	2	3,7
	Piodermatite	2	0	2	3,7
Piodermatite superficial	Dermatite aguda	4	0	4	7,4
	Foliculite	2	0	2	3,7
Úlceras cutâneas		1	0	1	1,9
Total		44	10	54	100

4.2.3. Doenças infecciosas e parasitárias

As doenças infecciosas e parasitárias correspondem a 5,3% da área da clínica médica. Na espécie canina a ocorrência mais frequente foi a infeção por parvovírus (12,8%) e na espécie felina foi infeção pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) que evidência uma frequência de relativa de 35,6%.

O FIV foi uma das afeções mais visualizadas e isto depara-se com o facto de haver uma numerosa quantidade de tutores que têm os seus felinos em regime “*outdoor*” e por isso através de lutas com outros gatos, arranhões e mordidas, estes contraem o agente infeccioso e podem estar sujeitos a infetar outros animais da espécie felina causando um aumento na prevalência desta afeção.

Tabela 6 - Distribuição da casuística observada na área de doenças infecciosas e parasitárias (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=39).

Doenças Infecciosas e parasitárias	Canídeos	Felídeos	Fi	Fr
Coriza	0	1	1	2,6
Coronavirose	1	0	1	2,6
Esgana	1	0	1	2,6
Imunodeficiência Felina	0	10	10	25,6
Leishmaniose	1	0	1	2,6
Leptospirose	2	0	2	5,1
Leucemia Felina	0	4	4	10,3
Panleucopénia	0	2	2	5,1
Parvovirose	5	0	5	12,8
Peritonite infecciosa felina (PIF)	0	4	4	10,3
Rinotraqueíte infecciosa canina	1	0	1	2,6
Rinotraqueíte infecciosa felina	0	6	6	15,4
Toxoplasmose	0	1	1	2,6
Total	11	28	39	100

4.2.4. Endocrinologia

A endocrinologia constitui 2,0 % da área da clínica médica. Através da tabela 7 podemos reparar que a afeção preponderante em ambas as espécies foi a diabetes *mellitus* (46,7%), seguida de afeções tiroideias, nomeadamente o hipertiroidismo (20,0%) e hipotiroidismo (13,3%) na espécie felina e canina, respetivamente.

Tabela 7 - Distribuição da casuística observada na área de endocrinologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=15).

Endocrinologia	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Diabetes <i>mellitus</i>	2	5	7	46,7
Feocromocitoma	1	0	1	6,7
Hiperadrenocorticismo	1	0	1	6,7
Hipertiroidismo	0	3	3	20,0
Hipoparatiroidismo primário	1	0	1	6,7
Hipotiroidismo	1	1	2	13,3
Total	6	9	15	100

4.2.5. Gastroenterologia e Glândulas anexas

Como referido previamente esta especialidade exhibe a maior relevância na casuística da área clínica médica, obtendo uma frequência relativa de 19,7%. Possui um

total de 145 animais, todavia, comparado com a espécie felina (Fip=68) a maior predominância foi em animais da espécie canina (Fip=77).

Pode concluir-se pela observação da tabela 8 que as doenças mais frequentemente diagnosticadas foram a pancreatite (14,5%) e seguidamente a gastroenterite aguda inespecífica (13,1%).

Tabela 8 - Distribuição da casuística observada na área de gastroenterologia e glândulas anexas (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=145).

Gastroenterologia e Glândulas anexas	Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Abcesso hepático		1	0	1	0,7
Colangiohepatite		0	4	4	2,8
Colelitíase		0	11	11	7,6
Colite		4	1	5	3,4
Corpo estranho gástrico		4	1	5	3,4
Corpo intestinal		2	0	2	1,4
Dilatação e torção gástrica		1	0	1	0,7
Doença inflamatória intestinal crónica		3	7	10	6,9
Enterite		8	8	16	11,0
Gastrite	Aguda inespecífica	4	2	6	4,1
	Crónica inespecífica	3	3	6	4,1
Gastroenterite	Aguda inespecífica	15	4	19	13,1
	Hemorrágica	5	0	5	3,4
	Indiscrição alimentar	4	2	6	4,1
Hepatite		4	3	7	4,8
Lipidose hepática		0	6	6	4,1
Megaesófago adquirido		1	0	1	0,7
Mucocele biliar		3	0	3	2,1
Pancreatite		9	12	21	14,5
Peritonite		2	0	2	1,4
Shunt	Portossistêmico Extra-hepático	2	0	2	1,4
Torção de baço		1	0	1	0,7
Triadite		0	4	4	2,8
Ulceração gástrica		1	0	1	0,7
Total		77	68	145	100

4.2.6. Ginecologia, andrologia e obstetrícia

A ginecologia, andrologia e obstetrícia representa 3,0% da área da clínica médica. Esta área obteve um total de 22 animais e foram predominantemente na espécie canina (Fi=21). Através da tabela 9 podemos constatar que a afeção mais comum é a piometra fechada (Fr= 27,3%), seguida da hiperplasia prostática benigna (Fr=18,2%).

Tabela 9 - Distribuição da casuística observada na área de ginecologia, andrologia e obstetrícia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=22).

Ginecologia, andrologia e obstetrícia	Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Criptorquidismo		3	0	3	13,6
Endometrite		1	0	1	4,5
Hiperplasia prostática benigna		4	0	4	18,2
Hiperplasia testicular		2	0	2	9,1
Metrite		1	0	1	4,5
Piometra	Aberta	2	0	2	9,1
	Fechada	5	1	6	27,3
Quistos Prostáticos		3	0	3	13,6
Total		21	1	22	100

4.2.7. Hematologia

Foram acompanhados 93 casos de hematologia, o que significa 12,7% da área da clínica médica. A afeção com maior frequência nesta área foi inequivocamente a trombocitopenia (Fr=80,75%)

A hematologia teve um abundante número de casos, uma vez que muitos animais tanto por motivo de consulta, como estando hospitalizados ou mesmo referidos de outras clínicas apresentavam trombocitopenia nas suas análises laboratoriais. Este resultado pode ser derivado do estado clínico do animal ou de um erro iatrogénico.

Este elevado número de casos também pode ser explicado pelo facto de o hemograma ser um dos primeiros exames complementares a ser realizado num caso clínico e por isso, esta alteração caso exista, é mais facilmente notada do que numa doença em que o diagnóstico é mais elaborado. A hematologia é a área que estuda as doenças que envolvem a circulação sanguínea e o sistema imunitário do animal, sendo que, o

hemograma é um exame complementar fundamental para obtermos um diagnóstico e posteriormente planejarmos um tratamento adequado.

Tabela 10 - Distribuição da casuística observada na área de hematologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=93).

Hematologia	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Anemia hemolítica imunomediada	2	2	4	4,3
Anemia secundária a hemorragia	10	4	14	15,1
Trombocitopenia	40	35	75	80,6
Total	52	41	93	100

4.2.8. Nefrologia e urologia

Esta especialidade equivale a 11,3% da área da clínica médica, tendo uma maior prevalência de casos na espécie felídea (Fi=61) em relação da espécie canídea (Fi=22).

Através da examinação da tabela 10 podemos reparar que a ocorrência mais frequente foi a doença renal crônica com 39 casos (Fr=47,0%), sendo a espécie felina a mais afetada, com um total de 27 casos.

Tabela 11 - Distribuição da casuística observada na área de nefrologia e urologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=83).

Nefrologia e urologia	Tipo	Canídeos	Felídeos	Fi	Fr
Cistite idiopática		0	6	6	7,2
Displasia Renal		1	0	1	1,2
Doença trato urinário felino		0	10	10	12,0
Hidronefrose		1	1	2	2,4
Infeção do trato urinário		1	0	1	1,2
Insuficiência Renal	Aguda	0	1	1	1,2
	Crônica	12	27	39	47,0
Pielonefrite aguda		0	4	4	4,8
Urolitíase	Renal	4	5	9	10,8
	Ureteral	0	3	3	3,6
	Uretral	0	1	1	1,2
	Vesical	3	3	6	7,2
Total		22	61	83	100

4.2.9. Neurologia

Nesta especialidade foram observados 28 casos, correspondendo a 3,8% da área da clínica médica. Esta área, notoriamente, teve uma casuística quase exclusiva na espécie canídea, apresentando apenas 4 casos na espécie felídea. A afeição com maior número de casos foi a epilepsia (Fr=35,7%), seguida da herniação do disco intervertebral toracolombar (14,3%).

A realização do diagnóstico da epilepsia, na generalidade dos casos clínicos, foi através da exclusão de outras afeições sendo por isto, na maior parte das vezes, diagnosticada como epilepsia idiopática.

A segunda afeição foi unicamente observada na espécie canídea, maioritariamente na raça buldogue francês. Esta foi diagnosticada através do exame complementar TAC e muitas vezes requer intervenção cirúrgica (heminelectomia).

Tabela 12 - Distribuição da casuística observada na área de neurologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=28).

Neurologia	Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Epilepsia		6	4	10	35,7
Espondilomielopatia cervical (Síndrome de Wobbler)		2	0	2	7,1
Herniação do disco intervertebral	Cervical	2	0	2	7,1
	Toracolombar	4	0	4	14,3
Meningite responsiva a esteroides		2	0	2	7,1
Meningoencefalite necrosante		2	0	2	7,1
Síndrome da cauda equina		1	0	1	3,6
Síndrome vestibular		1	0	1	3,6
Trauma crânio-encefálico		4	0	4	14,3
Total		24	4	28	100

4.2.10. Odontoestomatologia

Esta especialidade teve um impacto de 3,1% na área da clínica médica. A representatividade foi semelhante tanto na espécie canídea (Fi=10) como na espécie felídea (Fi=13) e a afeição preeminente em ambas as espécies foi a doença periodontal (Fr=52,2%).

Tabela 13 - Distribuição da casuística observada na área de odontoestomatologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=23).

Odontoestomatologia	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Corpo estranho	1	1	2	8,7
Doença Periodontal	8	4	12	52,2
Estomatite	0	1	1	4,3
Fenda palatina	0	1	1	4,3
Gengivite	1	2	3	13,0
Gengivo-estomatite crônica felina	0	2	2	8,7
Reabsorção dentária	0	2	2	8,7
Total	10	13	23	100

4.2.11. Oftalmologia

A área da oftalmologia teve uma representatividade de 5,6% da área da clínica médica. No que diz respeito a este ramo da medicina veterinária, a afeição com maior predominância foi as cataratas (Fr= 17,1%), sucedendo-se apenas na espécie canina. Seguidamente, foram observadas a conjuntivite, glaucoma e úlcera de córnea, todas exibindo uma Fr= 12,0%. Comparado com a espécie felina (Fi=8), esta especialidade foi observada preminentemente na espécie canina (Fi=33), isto é fundamentado pelo facto das consultas assistidas pela estagiária, nesta área, terem sido predominantemente na espécie canina. Uma vez que havia um horário rotacional, este poderia não coincidir com consultas de oftalmologia na espécie de felinos.

Tabela 14 – Distribuição da casuística observada na área de oftalmologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=41).

Oftalmologia	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Catarata	7	0	7	17,1
Conjuntivite	2	3	5	12,2
Dacryops	1	0	1	2,4
Distrofia da córnea	1	0	1	2,4
Entrópion	1	0	1	2,4
Glaucoma	2	3	5	12,2
Neurite ocular	1	0	1	2,4

(Continuação da tabela 14)

Obstrução do canal lacrimal	0	1	1	2,4
Queratoconjuntivite seca	3	0	3	7,3
Quisto dermóide	1	0	1	2,4
Quisto uveal	1	0	1	2,4
Perfuração ocular	1	0	1	2,4
Protrusão da 3ª pálpebra	3	0	3	7,3
Úlcera corneana	4	1	5	12,2
Úlcera indolente	1	0	1	2,4
Uveíte	4	0	4	9,8
Total	33	8	41	100

4.2.12. Oncologia

No que toca á especialidade de oncologia foram observados no total 60 casos, correspondendo a 8,2 % da globalidade da área da clínica médica. Ao analisarmos a tabela 15 podemos comprovar que a espécie canina (Fi=40) apresenta o dobro do casuísta em relação á espécie felina (Fi=20). Isto é uma mera casualidade e como mencionado anteriormente depende da casuística semanal e do horário da estagiária. Na área de oncologia afeção mais frequentemente diagnosticada foi o carcinoma mamário (Fr=11,7%) tendo uma expressão semelhante na espécie canídea e felídea.

Pela análise da tabela 15, podemos constatar que dependendo das localizações corporais há uma enorme variedade de tumores. Isto deve-se ao facto da oncologia ser uma das principais áreas que se encontra incessantemente em progresso e expansão, porque para além de apresentar uma diversidade de tumores, estes têm fisiopatologia e graus de agressividade diferentes, sendo necessário haver uma atualização constante dos planos de diagnósticos e tratamento.

Tabela 15 – Distribuição da casuística observada na área de oncologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=60).

Oncologia	Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Tumores cutâneos e subcutâneos	Fibrossarcoma	0	1	1	1,7
	Lipoma	4	0	4	6,7
	Mastocitoma	3	0	3	5,0
	Sarcoma	1	0	1	1,7
Tumores da cavidade oral	Carcinoma de células escamosas	1	2	3	5,0

(Continuação da tabela 15)

	Indefinido	1	0	1	1,7
Tumores cardíacos	Indefinido	2	0	2	3,3
Tumores do sistema esquelético	Osteossarcoma	3	0	3	5,0
Tumores do sistema hematopoiético	Hemangiossarcoma esplênico	6	0	6	10,0
	Linfoma multicêntrico	1	0	1	1,7
	Linfoma	2	1	3	5,0
Tumores do sistema reprodutivo	Indefinido	0	1	1	1,7
	Sertolinoma	2	0	2	3,3
Tumores do sistema urinário	Carcinoma de células de transição	1	1	2	3,3
Tumores endócrinos	Feocromocitoma	1	0	1	1,7
Tumores gastrointestinais	Indefinido	2	2	4	6,7
	Linfoma intestinal	2	4	6	10,0
Tumores hepáticos	Carcinoma hepatocelular	2	0	2	3,3
Tumores intracranianos	Indefinido	2	2	4	6,7
Tumores intranasais	Indefinido	0	1	1	1,7
Tumores mamários	Carcinoma	4	3	7	11,7
Tumores pulmonares	Linfoma do mediastino	0	2	2	3,3
Total		40	20	60	100

4.2.13. Otorrinolaringologia

A otorrinolaringologia corresponde a 2,4% da totalidade da área da clínica médica. Nesta área a expressividade da casuística foi superior na espécie canina ($F_i=13$) em relação à espécie felina ($F_i=5$). Pela interpretação da tabela 16, conclui-se que a afeição dominante foi a otite média bacteriana ($F_r=38,9\%$), com um total de 7 casos.

Tabela 16 - Distribuição da casuística observada na área de otorrinolaringologia (frequência relativa à espécie (F_{ip}), frequência absoluta (F_i) e frequência relativa (F_r (%)), $n=18$).

Otorrinolaringologia	Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Abcesso		0	1	1	5,6
Colesteatoma primário		1	0	1	5,6
Otite externa	Bacteriana	2	0	2	11,1
	<i>Malassezia spp.</i>	2	0	2	11,1
	Pseudomonas	3	0	3	16,7
Otite média	Bacteriana	5	2	7	38,9
Pólipo no ouvido		0	2	2	11,1
Total		13	5	18	100

4.2.14. Pneumologia

Esta especialidade registou um total de 44 casos e representa 6,0% da área da clínica médica, salientando um maior número de casos clínicos na espécie felídea (Fi=30).

A efusão pleural foi a afeção predominante em ambas as espécies, no entanto, é consideravelmente superior na espécie felídea (Fi=12) comparativamente com a espécie canídea (Fi=4).

Tabela 17 - Distribuição da casuística observada na área de pneumologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=44).

Pneumologia	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Asma felina	0	3	3	6,8
Broncomalácia	0	1	1	2,3
Bronquite crónica	2	2	4	9,1
Colapso da traqueia	1	0	1	2,3
Contusão pulmonar	2	3	5	11,4
Edema pulmonar	2	5	7	15,9
Efusão pleural	4	12	16	36,4
Pneumonia	1	0	1	2,3
Pneumotórax	2	2	4	9,1
Quilotórax idiopático	0	1	1	2,3
Rinite	0	1	1	2,3
Total	14	30	44	100

4.2.15. Sistema músculo-esquelético

O sistema músculo-esquelético reflete 3,7% da área da clínica médica. Nesta especialidade a casuística foi superior na espécie canina (Fi=19) comparativamente à espécie felina (Fi=8). A claudicação sem causa determinada apenas foi visualizada na espécie canina e foi a afeição com maior relevância nesta área (18,5%).

Na espécie felina as afeições visualizadas foram principalmente de etologia traumática.

Tabela 18 - Distribuição da casuística observada na área do sistema músculo-esquelético (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=27).

Sistema músculo-esquelético	Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Claudicação sem causa determinada		5	0	5	18,5
Displasia	Anca	3	0	3	11,1
Fratura	Coccígea	0	1	1	3,7
	Fémur	1	2	3	11,1
	Mandíbula	0	1	1	3,7
	Rádio/Ulna	1	2	3	11,1
	Pélvica	1	1	2	7,4
	Tíbia/Fíbula	1	0	1	3,7
Luxação	Fémur	1	0	1	3,7
	Rótula	2	0	2	7,4
Panosteíte		2	0	2	7,4
Rotura de ligamentos cruzados		2	0	2	7,4
Rotura do tendão de Aquiles		0	1	1	3,7
Total		19	8	27	100

4.2.16. Toxicologia

A toxicologia foi a área com menor casuística (Fi=4) e representa apenas, 0,5% da área da clínica médica. O número de casos foi equiparável tanto na espécie canina (Fi=2) como na espécie felina (Fi=2). Na espécie canina esta intoxicação foi devido à

ingestão de rodenticidas e na espécie felina foi derivada á administração incorreta de um desparasitante que deveria ser destinado á espécie canina.

Tabela 19 - Distribuição da casuística observada na área da toxicologia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=4).

Toxicologia	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Dicumarínicos	2	0	2	50,0
Permetrina	0	2	2	50,0
Total	2	2	4	100

5. Clínica Cirúrgica

Na clínica cirúrgica, a estagiária pode observar e auxiliar os diferentes procedimentos cirúrgicos, correspondendo uma totalidade de 31 casos.

A casuística nesta área foi inferior comparativamente com área da clínica médica porque nesta área foram apenas registados casos observados na rotação de cirurgia enquanto na área da clínica médica foram englobadas as rotações de consultas, internamento e urgências.

Dentro da clínica cirúrgica a área com maior prevalência foi a cirurgia de tecidos moles (Fr=58,1%), seguida da área da cirurgia odontológica (Fr=16,1%) e da cirurgia oftalmológica (Fr=12,9%). Tanto a cirurgia ortopédica como a neurocirurgia foram as áreas cirúrgicas com menos casos clínicos, ambas evidenciando uma frequência relativa de 6,5%.

Tabela 20 – Distribuição da casuística observada nas diferentes áreas da clínica cirúrgica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=31).

Clínica cirúrgica	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Cirurgia de tecidos moles	10	8	18	58,1
Cirurgia odontológica	2	3	5	16,1
Cirurgia oftalmológica	2	2	4	12,9
Cirurgia ortopédica	1	1	2	6,5
Neurocirurgia	2	0	2	6,5
Total	17	14	31	100

5.1. Cirurgia de tecidos moles

Como mencionado anteriormente, a cirurgia de tecidos moles foi a que teve maior impacto na área da cirurgia. Observando a tabela 20 podemos concluir que dentro da cirurgia de tecidos moles a orquiectomia tem um destaque relevante (Fr=38,9%), seguida da ovariectomia (OVH) eletiva que apresentou uma frequência relativa de 22,2 %.

O número de casos observados na cirurgia de tecidos moles foi semelhante tanto na espécie canina como na espécie felina.

Tabela 21 - Distribuição da casuística observada na área da cirurgia de tecidos moles (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=18).

Cirurgia de tecidos moles	Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Esplenectomia		1	0	1	5,6
Gastrotomia		1	0	1	5,6
Mastectomia		0	1	1	5,6
Orquiectomia		4	3	7	38,9
OVH	Eletiva	1	3	4	22,2
	Por piometra	2	1	3	16,7
Uretrostomia		1	0	1	5,6
Total		10	8	18	100

5.2. Cirurgia odontológica

A cirurgia odontológica tem uma representatividade de 16,1 % da área da clínica cirúrgica. Nesta área só foram realizados dois procedimentos cirúrgicos, sendo que a exodontia (Fr=60,0%) teve maior prevalência.

Tabela 22 - Distribuição da casuística observada na área da cirurgia odontológica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=5).

Cirurgia odontológica	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Destartarização	1	1	2	40,00
Exodontia	1	2	3	60,00
Total	2	3	5	100

5.3. Cirurgia oftalmológica

Relativamente à cirurgia oftalmológica houve um total de 4 intervenções cirúrgicas.

Pela leitura da tabela 22 podemos depreender que na espécie canina foram observados dois tipos de procedimentos: cantoplastia medial e queratotomia. A cantoplastia medial foi realizada nos dois olhos, mas para efeitos de estatística apenas foi contabilizado uma vez. Na espécie felina apenas foi realizado um tipo de procedimento cirúrgico, mas em dois animais distintos.

Tabela 23 - Distribuição da casuística observada na área da cirurgia oftalmológica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=4).

Cirurgia oftalmológica	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Cantoplastia medial bilateral	1	0	1	25,0
Enucleação	0	2	2	50,0
Queratotomia	1	0	1	25,0
Total	2	2	4	100

5.4. Cirurgia ortopédica

Acerca da área da cirurgia de ortopedia foram observados na totalidade dois procedimentos cirúrgicos. Como podemos comprovar na tabela 24 foi realizado uma osteoectomia da ulna num animal da espécie canina e uma resolução de uma fratura do rádio/ulna num animal da espécie felina.

Tabela 24 - Distribuição da casuística observada na área da cirurgia ortopédica (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=2).

Cirurgia Ortopédica	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Osteoectomia da ulna	1	0	1	50,0
Osteossíntese do rádio/ulna	0	1	1	50,0
Total	1	1	2	100

5.5. Neurocirurgia

A área de neurocirurgia teve na totalidade o mesmo número de casos que a área da cirurgia ortopédica, no entanto, no caso da neurocirurgia só se realizou procedimentos na espécie canina. Ao analisar a tabela 25 podemos observar que o procedimento cirúrgico realizado foi a heminelectomia, e esta foi executada devido a herniações do disco intervertebral. Ambas as cirurgias foram realizadas em animais da raça buldogue francês.

Tabela 25 - Distribuição da casuística observada na área da neurocirurgia (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=2).

Neurocirurgia	Canídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Heminelectomia	2	2	100,0
Total	2	2	100

6. Procedimentos médicos

A tabela 26 contempla todos os pequenos procedimentos médicos que não podem ser contabilizados nas outras áreas mencionadas anteriormente. O procedimento com maior destaque foi a eutanásia (Fr=26,7%).

Tabela 26 - Distribuição da casuística observada nos procedimentos médicos efetuados (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=45).

Procedimentos médicos	Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Algáliação		0	3	3	6,7
Colocação tubo de alimentação esofágico		0	6	6	13,3
Drenagem	Abcesso	0	2	2	4,4
	Quisto ocular	1	0	1	2,2
Eutanásia		7	5	12	26,7
Lavagem auricular		2	2	4	8,9
Limpeza/Desinfecção de feridas		5	2	7	15,6
Mudança de penso		3	2	5	11,1
Sutura de lacerações		4	1	5	11,1
Total		22	23	45	100

7. Exames complementares de diagnóstico

A tabela 27 manifesta os exames complementares executados e assistidos para alcançar o diagnóstico clínico. Não foram registradas as análises sanguíneas, como hemogramas, hematócritos, ionogramas e as várias bioquímicas pela sua realização rotineira. Assim como, as análises da densidade urinária, medição da glucose, esfregaços sanguíneos e Urianálise não foram contabilizados por serem exames frequentemente realizados, o que tornava a sua contabilização difícil.

O exame com maior preponderância foi a ecografia abdominal (Fr=23,5%), seguida da radiografia (Fr=19,7%).

Tabela 27 - Distribuição da casuística observada nos exames complementares de diagnóstico (frequência relativa à espécie (Fip), frequência absoluta (Fi) e frequência relativa (Fr (%)), n=361).

Exames complementares de diagnóstico		Tipo	Canídeos (Fip)	Felídeos (Fip)	Fi	Fr (%)
Anatomo-histopatologia	Citologia		4	2	6	1,7
	Histopatologia		1	3	4	1,1
Colocação de holter			2	0	2	0,6
ECG			7	0	7	1,9
Imagiologia	Radiografia		37	34	71	19,7
	Ecografia	Abdominal	48	37	85	23,5
		Abdominocentese ecoguiada	3	0	3	0,8
		Cistocentese ecoguiada	11	14	25	6,9
		Ecocardiografia	9	7	16	4,4
		Toracocentese ecoguiada	0	4	4	1,1
		Tomografia computadorizada	9	5	14	3,9
Testes dermatológicos	Teste da fita-cola		7	4	11	3,0
	Tricograma		10	6	16	4,4
	Raspagem cutânea		4	3	7	1,9

(Continuação da tabela 27)

Testes oftalmológicos	Medição da P.I.O com tono-pen		7	6	13	3,6
	Teste de fluoresceína		8	9	17	4,7
	Teste de schirmer		1	0	1	0,3
Testes rápidos	FIV/FeLV		0	10	10	2,8
	Leishmania		4	1	5	1,4
	Leptospirose		5	0	5	1,4
	Parvovirose + Coronavirose		8	4	12	3,3
	Snap PLI		21	6	27	7,5
Total			206	155	361	100

8. Contribuição da casuística para o desenvolvimento pessoal e profissional

O estágio curricular permitiu à estagiária consolidar conhecimentos adquiridos ao longo do seu percurso académico e de executar inúmeros procedimentos da prática clínica sendo que, isto só foi possível, devido à elevada casuística que o HVP apresenta diariamente.

Neste ano de 2020/2021, devido a razões pandémicas, os horários sofreram alterações sendo que, deixaram de decorrer semanalmente e passaram a decorrer em semanas alternadas, mesmo assim, o tempo de estágio decorreu conforme o planeado uma vez que foi compensado através de um regime intensivo.

Neste período de tempo, existiu sempre um sistema rotativo dos horários que por certa maneira, permitiu à estagiária contactar com pessoas que exerciam diferentes funções e diferentes metodologias de trabalho, desenvolver espírito de equipa, raciocínio científico e contribuiu para o interesse de uma pesquisa diária, de forma a garantir um melhor desempenho a nível profissional. Foi de extrema importância o espírito de equipa experienciado neste hospital, porque foi atribuída a responsabilidade de executar diversos procedimentos á estagiária e havia sempre colegas, enfermeiros veterinários e médicos veterinários que mostraram completa disponibilidade para a ajudar, de modo a garantir um bom desempenho.

No início do estágio curricular foi imprescindível que a estagiária se familiarizasse com o método de trabalho do hospital, desde a localização normal dos materiais necessários na prática de rotina, sistemas informáticos, manuseamento das máquinas das análises laboratoriais e protocolos médicos/anestésicos para a execução de determinados procedimentos. Também foi definido logo de início, os deveres do estagiário dependendo do serviço em que calhava: consultas, internamento, cirurgia ou urgências, como referido anteriormente na descrição das atividades desenvolvidas.

Ao longo do estágio curricular, sempre que havia oportunidade, a estagiária era encorajada a desenvolver técnicas práticas que são consideradas a base do alicerce da medicina veterinária, como por exemplo, contenção de um animal de forma ética e segura, recolha de amostras sanguíneas, colocação de cateteres intravenosos e manipulação dos equipamentos de exames complementares diagnóstico (imagiológico, laboratorial e testes específicos). Assim como, manuseamento e preparação de sistemas de soro, preparação e administração de medicações/infusões contínuas e transfusões de sangue.

Para além de executar alguns procedimentos práticos, também foi crucial para o desenvolvimento de um raciocínio clínico, a participação da estagiária na discussão da escolha dos métodos de diagnóstico e do planeamento do tratamento. Isto foi permitido, não só, pela experiência das diferentes áreas (consultas, internamento e urgências) como também através da oportunidade da sua participação na ronda da passagem dos casos clínicos. Porque para além do conhecimento teórico foi essencial adquirir através da visualização de diferentes casos clínicos um conhecimento prático do mesmo.

A área da medicina veterinária é uma profissão em constante progressão e mudança, e por esta razão o estágio permitiu que, a estagiária, alcançasse uma evolução a título profissional e pessoal. O crescimento a nível pessoal deve-se ao desenvolvimento de interesses particulares por algumas áreas da medicina veterinária, como a medicina interna. Esta progressão também foi impulsionada pelo corpo clínico do HVP, que ao longo do período de estágio, demonstrou ser um modelo exemplar e ajudou a definir o tipo de profissional de saúde que a estagiária no futuro quer ser.

O estágio no Hospital Veterinário do Porto foi fundamental e imprescindível no percurso universitário da estagiária não só pelos profissionais de renome que lá exercem mas porque ao longo do percurso foi cada vez mais evidente que tudo na vida se consegue com resiliência e espírito de equipa.

II Monografia- Linfoma Multicêntrico Canino

1.Introdução

O linfoma é um conjunto de doenças heterogêneas^{1, 2} e caracteriza-se por uma alteração neoplásica do sistema hematológico¹, originado pela proliferação clonal dos linfócitos, detendo características morfológicas e imunofenotípicas distintas.³

Dado que o linfoma tem origem no sistema linforreticular, a expressão clínica da afeção pode ser observada nos locais onde predominam os linfócitos⁴, sendo que o sintoma clínico mais precoce e comum do linfoma multicêntrico é linfadenopatia generalizada.^{4, 5}

Afeta cães de todas as raças e idades⁶ porém, a sua etiologia permanece desconhecida, mas provavelmente é multifatorial.^{2, 7} Esta é a neoplasia mais frequentemente tratada com quimioterapia^{6, 8}, no entanto, independentemente do tratamento é considerada uma doença fatal.²

O linfoma não Hodgkin (LNH) em pessoas e o linfoma canino são doenças similares e podem ser um bom modelo para a comparação de ambas as afeções e a sua evolução no curso da mesma⁹. Tanto nos humanos como nos cães o subtipo mais comum é o linfoma difuso de grandes células B (LDGCB).²

2. Epidemiologia do linfoma no cão

De todas as neoplasias existentes em medicina veterinária, o linfoma canino é das mais comuns¹⁰, sendo responsável por 24% dos tumores caninos e tem uma incidência anual de 13 a 24 casos por 100,000 cães.³ O linfoma representa cerca de 83% das neoplasias hematopoiéticas.^{3, 11} Para além de constituir uma das doenças mais comumente diagnosticadas também é das afeções com maior prevalência no uso da terapêutica médica na especialidade da oncologia.¹²

A predisposição sexual continua a ser um assunto debatido por vários autores, segundo, Priester, 1967; Greenlee et al, 1990; Teske, 1994 e Zandvliet, 2016 não existe predisposição sexual.¹²⁻¹⁵ Zandvliet, 2016, afirma que não existe predisposição sexual porém, nas fêmeas inteiras há redução do risco para o desenvolvimento do linfoma.¹² Enquanto que segundo Villamil et al, 2009, existe predisposição sexual, verificando-se

uma maior probabilidade no macho do que na fêmea. Dentro do grupo das fêmeas, as cadelas inteiras evidenciam menor risco comparativamente com cadelas esterilizadas.⁹

O linfoma, tal como muitas outras afeições, está associado ao fator idade, sendo que se verifica maior incidência do linfoma com o aumento da mesma, podendo afetar cães de qualquer geração, no entanto, há evidências de que o linfoma afeta especialmente cães de meia-idade¹² (entre os seis e os nove anos).^{4, 8, 10, 12, 16} Sendo que animais mais jovens, menos de um ano de idade, estão menos suscetíveis ao desenvolvimento da neoplasia e animais com mais de dez anos estão mais suscetíveis.¹²

Outro fator que aparenta influenciar a expressão imunofenotípica do linfoma canino é a raça do animal. Todas as raças podem ser afetadas, contudo, a incidência do linfoma é maior em raças predispostas (tabela 28).⁴

Tabela 28 - Evidência a incidência do linfoma consoante a raça do animal (adaptado do Zandvliet 2016).¹²

Elevado risco de ter linfoma		Baixo risco de ter linfoma
<i>Basset hound</i>	Boiadeiro de Berna	<i>Chihuahua</i>
Boiadeiro da Flandres	Buldogue	<i>Dachshund</i>
Bulmastife	<i>Cocker spaniel</i>	<i>Pomeranian</i>
Dobermann	Pastor alemão	<i>Poodle</i>
<i>Golden retriever</i>	Wolfhound irlandês	<i>Yorkshire terrier</i>
<i>Labrador Retriever</i>	Rottweiler	
São Bernardo	Terrier escocês	

3. Etiologia

3.1 Fatores genéticos e moleculares

Elementos genómicos, epigenéticos e mecanismos microambientais são fundamentais para a patofisiologia do linfoma tanto nos cães como nos humanos⁸. Nas neoplasias de ambas as espécies verifica-se algumas semelhanças nas características clínicas, patológicas e nos eventos oncogénicos.¹⁷ Estas características similares fazem com que a fisiopatologia tumoral também reúna particularidades idênticas, isto é, no seu comportamento biológico, histopatológico e na resposta ao tratamento instituído.^{8, 17}

Posto isto, os cães podem ser considerados um sistema modelo de suporte essencial para a investigação da patogênese tumoral do linfoma, fatores de risco e no desenvolvimento da terapêutica médica nas neoplasias em humanos.^{18, 19}

A transformação que se verifica para que ocorra a formação de neoplasias, para além de ter como base molecular a heterogeneidade tumoral⁴, também envolve mutações genéticas a diferentes níveis como: sobre-expressão/amplificação, ganho e rearranjo de genes reguladores, mutação/deleção de genes supressores, deleção/inativação de genes inibidores de cinases dependentes de ciclinas e as vias específicas para o desenvolvimento tumoral.^{1, 8} Estas alterações genéticas abrangem a instabilidade genómica, alterações citogenéticas, envolvimento de oncogenes, genes supressores tumorais e mutações somáticas. Sendo que, as translocações que ocorrem em determinados tumores conduzem à sobre-expressão de oncogenes, dos quais, estes rearranjos conduzem à malignidade tumoral.¹⁷

Os tumores são reconhecidos maioritariamente por uma afeção genética associada à acumulação de mutações e rearranjos de ADN (ácido desoxirribonucleico) que, consecutivamente causam a ativação de oncogenes e/ou desativação de genes supressores tumorais. Fatores como a radiação ionizante, produtos químicos genotóxicos, subprodutos do metabolismo celular e dano espontâneo do ADN podem causar mutações oncogénicas. Os rearranjos cromossómicos (translocações, inserções e deleções) são acontecimentos comuns e precoces no linfomagénesis, e os processos endógenos implicados na diversificação do recetor do antígeno estão implicados na facilitação desses rearranjos.¹⁹ Deste modo, a classificação molecular do linfoma canino baseia-se nas alterações cromossomais.⁴

Para garantir o sucesso da tumorigénese, todas as etapas são vitais e realça-se a importância da telomerase, sinalização da proliferação, desordens autoimunes e da morte celular programada (apoptose).⁸ No caso específico do linfoma, uma das formas de evasão da apoptose é através da ativação de fatores de transcrição como, por exemplo, o fator nuclear Kappa B (NF-κB).¹⁸

Na tumorigénese é de extrema importância as diversas mutações, bem como a interação entre o sistema imunológico e as células malignas¹, uma vez que, anomalias (hereditárias ou adquiridas) no reparo do dano do ADN podem ter um papel importante na patofisiologia tumoral.⁸

Os cães, naturalmente, desenvolvem o linfoma e um dos fatores de risco é a predisposição genética de determinadas raças.⁸

De acordo com o tipo celular afetado no linfoma, existem diferentes predisposições raciais, padrões mutacionais, genes mutados e as alterações no número de cópias do ADN (CNAs) (tabela 29).^{8, 20}

Tabela 29 - Alterações verificadas conforme o tipo celular afetado (adaptado do Elvers et al, 2015 e Thomas et al, 2011).^{8, 20}

Linfoma	Predisposição racial	Padrão mutacional	Principais genes mutados	CNAs
Células B	<i>Cocker spaniel</i> <i>Golden Retriever</i> <i>Labrador Retriever</i>	Uniforme	<i>POT1, FBXW7, TRAF3</i>	Deleção de dois genes de imunoglobulinas
Células T	Boxer <i>Golden Retriever</i>	Irregular	<i>SATB1, TBC1D26, PSMA1, COX8A e PTEN</i>	Deleções parciais do recetor das células T (TCR)

Cerca de 90% dos linfomas existentes no boxer são originados nas células T. Sendo que, no caso do boxer esta neoplasia ostenta ter um carácter mais agressivo do que noutras raças como por exemplo o *golden retriever*.⁸ O *golden retriever* apresenta igual incidência para o linfoma de células T e B.^{8, 20}

Os padrões de mutações mencionados anteriormente, no caso do linfoma difere de acordo com o tipo de células afetadas. Normalmente ocorre mutação genética no linfoma das células T ou das células B, mas não acontece simultaneamente em ambos. No linfoma das células T, o padrão mutacional varia consoante a raça porque, não são afetados os mesmos genes nas diferentes raças mesmo que estas, tenham predisposição para o desenvolvimento deste tipo de linfoma.⁸

O desenvolvimento seletivo de determinados tipos de neoplasias de acordo com a predisposição racial canina, sugere que durante o processo do desenvolvimento racial, os cães adquirem genomas que selecionam células específicas tornando-as suscetíveis à transformação maligna.²¹

3.2 Fatores infecciosos

Os microrganismos têm a capacidade de manipular as células do sistema imunológico, através do aumento da proliferação linfocitária que pode conduzir ao favorecimento da replicação de ADN com alterações cromossômicas. Isto ocorre especialmente no caso dos linfócitos B, devido à sua vulnerabilidade inata que os torna suscetíveis à instabilidade e ativação genética, o que pode levar à formação de neoplasias.³ No linfoma canino observa-se a diminuição da população bacteriana que está associada à saúde intestinal (*Ruminococcaceae*, *Prevotellaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *turicibacter* e *fusobacterium*) e ao longo dos anos tem sido comprovado que as bactérias intestinais estão implícitas na suscetibilidade de determinadas neoplasias.³

Foram feitos alguns estudos sobre o herpesvírus, particularmente, o gammaherpesvirus, e o seu envolvimento na patogênese do linfoma canino e concluiu-se que não existem evidências científicas de que este vírus esteja associado aos vários subtipos do linfoma canino.² O vírus Epstein-Barr (EBV) é um gammaherpesvirus e está associado ao linfoma humano, no entanto, não há indícios serológicos ou moleculares de que este contribua para o desenvolvimento de linfoma em cães.^{2, 22}

Nos humanos, está comprovado que *Helicobacter pylori* causa gastrite crônica ativa, e aproximadamente cerca de 10 a 20% dos indivíduos afetados progride para úlceras pépticas, adenocarcinoma gástrico e/ou linfoma do tecido linfóide associado à mucosa (MALT).²³ No entanto, esta associação da *Helicobacter pylori* não está completamente corroborada em cães. Existe a evidência que *Helicobacter pylori* em beagles de laboratório provoca o desenvolvimento de gastrite superficial precoce, erosões da mucosa que, eventualmente progridem para gastrite crônica, provocando a clonalidade das células B e formação do folículo linfóide gástrico, sendo este, considerado o precursor do MALT em humanos. É necessário que haja mais estudos para entender a influência destes microrganismos no desenvolvimento do linfoma.²⁴

Foi realizado um estudo recentemente, sobre a possibilidade de existir uma associação de algumas doenças infecciosas (*Leishmania Infantum*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Bartonella henselae*) e o desenvolvimento do linfoma, no entanto, não foi possível comprovar a associação entre estes fatores.²⁵

3.3 Fatores ambientais

Outro fator que se suspeita que possa amplificar o risco ao desenvolvimento do linfoma é o fator ambiental^{26,27}. Visto que os animais e os humanos coabitam no mesmo espaço estes dispõem de exposições ambientais semelhantes.²⁶

A associação entre a exposição a fatores ambientais específicos e o risco do desenvolvimento do linfoma canino tem sido investigado ao longo dos anos e incluiu potenciais fatores, tais como a distribuição geográfica, pesticidas, fumo do tabaco, campo eletromagnético residencial e produtos químicos.^{27,28}

Foi elaborado um estudo em golden retrievers para observar as diferenças na distribuição geográfica nos Estados Unidos da América de dois subtipos do linfoma canino (células B e zona T). Neste estudo foi demonstrado uma diferença marcante na expressão dos subtipos de acordo com a distribuição geográfica da raça canina. Porém, é necessário haver uma pesquisa mais aprofundada, uma vez que, não se sabe se esta diferença foi devida à predominância de linhagens genéticas específicas em determinadas regiões geográficas, conduzindo ao desenvolvimento de um subtipo de linfoma em detrimento de outro, ou se realmente difere, consoante a região geográfica. Para esclarecer esta situação, é necessário no futuro haver um estudo nas mesmas regiões geográficas com diferentes raças, pois caso haja uma distribuição semelhante dos subtipos de linfoma canino, é indicativo que muito provavelmente existe a implicação do fator ambiental.²⁷

As áreas de distribuição geográfica que contém incineração de resíduos, locais poluídos e resíduos radioativos estão associadas a um maior risco da tumorigênese do linfoma, no entanto, estes não são considerados fatores de risco, mas sim indicadores de risco.²⁸ Consequentemente, os animais que estejam a residir permanentemente nestas áreas de risco, irão apresentar uma maior probabilidade de desenvolver linfoma.^{28,29}

Segundo alguns autores, outro fator de risco é a exposição a produtos químicos agrícolas específicos como, herbicidas e pesticidas. Existe uma correlação entre a exposição dos canídeos a produtos químicos agrícolas como o ácido 2,4-diclorofenoxiacético e a sua excreção urinária. A dose biológica substancial do herbicida é absorvida, metabolizada e excretada proporcionalmente ao nível de exposição.^{26,30,31}

No entanto, a ação do ácido 2,4-diclorofenoxiacético não é completamente compreendida, sendo que, alguns autores defendem que não existe associação entre este herbicida e a sua influência no desenvolvimento do linfoma canino.^{32,33} Também há quem

defenda que não existe nenhuma associação entre o uso de pesticidas e o desenvolvimento do linfoma.¹¹

O comportamento biológico do linfoma canino também aparenta ser afetado pela exposição ao fumo do tabaco³⁴, campos magnéticos residenciais⁷ e através do uso de tintas e solventes pelos tutores¹⁰. Nos cães, a exposição à nicotina tanto seja em segunda ou terceira mão, parece estar relacionado com a amplificação da proliferação do linfoma canino, independentemente do seu subtipo ou grau.³⁴

Todavia, parece não existir nenhuma associação entre o linfoma canino e produtos para o controlo de pulgas e caracças.²⁶

3.4 Fatores imunológicos

Existem evidências que nos humanos, há desenvolvimento de neoplasias malignas pós-transplante de órgãos associado à imunossupressão crónica.³¹ No entanto, não existem estudos que fundamentem o mesmo na espécie canina, mas, dadas as semelhanças morfológicas entre o linfoma canino e o LNH nos humanos é plausível que semelhante associação exista nos cães.^{35, 36}

Tanto nos felinos como nos humanos foram observadas semelhantes desordens linfoproliferativas pós-transplante, em que todos os linfomas foram classificados como LDGCB, de médio a alto grau.³⁷ O aparecimento de neoplasias pós-transplante pode ocorrer mais rapidamente no caso do linfoma do que noutros tipos tumorais.³⁵

Vários estudos nos humanos e nos felinos, mencionam que os recetores de transplante renal sob efeito da ciclosporina têm uma maior incidência no desenvolvimento de tumor maligno pós-transplante comparado com recetores de transplante renal sob efeito de outro imunossupressor.^{35, 37}

Na espécie canina, foram reportados dois casos em que houve o desenvolvimento tumoral após o uso crónico da ciclosporina.³⁵ Todavia, é necessário haver mais investigações para elucidar o risco e o efeito da ciclosporina na linfomagénese.³⁶

Diversos distúrbios imunomediados estão associados ao desenvolvimento de neoplasias em humanos. Sendo que o linfoma aparenta ser a neoplasia mais comumente associada a estas alterações.³⁸ Alterações imunológicas como anemia hemolítica imunomediada (AHIM) e trombocitopenia imunomediada estão associadas ao aumento de risco de desenvolvimento de neoplasias na espécie canina.³⁸

Alguns investigadores propuseram que um defeito no sistema autoimune devido a uma doença imunomediada pode resultar no desenvolvimento de neoplasias.³⁸ Esta desregulação profunda do sistema imunitário associado à estimulação antigénica persistente resulta numa estimulação da proliferação dos linfócitos e conseqüentemente ao desenvolvimento de neoplasias, em particular, do linfoma.^{39, 40}

Estudos sugerem que certas doenças autoimunes como, pênfigo foliáceo, lúpus eritematoso sistémico e dermatite atópica podem conduzir ao desenvolvimento do linfoma.³⁸⁻⁴⁰

4. Classificação do linfoma

A classificação deste tumor é estipulada pela topografia (tabela 30), critérios histológicos e características imunofenóticas (fenótipo das células B ou células T).⁴¹

4.1 Classificação anatómica do linfoma

A forma anatómica com maior prevalência no linfoma é a multicêntrica, seguida da gastrointestinal (GI), mediastinal e cutânea.⁴¹ Também existem formas extranodais primárias, apresentando menor incidência do que as outras formas, e integra os sistemas fora do sistema linfático, como os olhos, pele, sistema nervoso central, bexiga, medula óssea, coração e cavidade nasal.^{41, 42}

O linfoma GI representa 5-7% dos linfomas nos cães⁴¹ e pode ser exposto como uma lesão solitária, multifocal ou difusa¹². A maioria dos linfomas GI são primários, e os órgãos afetados, por ordem de incidência são o intestino delgado, o estômago e o cólon.⁴³

Num estudo elaborado de acordo com as técnicas de imunofenotipagem obteve-se que 75% das amostras foram marcadas positivamente para o fenótipo das células T (CD3) e 10% das amostras de linfomas GI estavam marcadas positivamente pelo CD20, sendo este, um marcador das células B.⁴³ Apesar de já ter sido descrito alguns casos de fenótipos de células B, a maior parte dos estudos de imunofenotipagem afirmam que a maior incidência é nas células T.⁴³⁻⁴⁵

O linfoma mediastínico exibe cerca de 5% dos linfomas caninos⁴¹, é usualmente diagnosticado em animais jovens⁴⁶ e apresenta predominantemente um fenótipo das células T.⁴⁷

O linfoma cutâneo afeta predominantemente cães mais velhos (entre os nove e doze anos)⁴⁸, geralmente apresenta-se como um linfoma das células T⁴⁸ e pode ser caracterizado como epiteliotrópico ou não epiteliotrópico, sendo mais frequente o linfoma cutâneo epiteliotrópico.¹² O linfoma cutâneo epiteliotrópico das células T, também conhecido como micose fungoides⁴⁹, é reconhecido pelo seu epiteliotropismo de infiltrados de células T para a epiderme e estruturas anexas.^{49, 50}

O linfoma extranodal é pouco frequente⁴² e inclui todas as outras formas tumorais, os sinais clínicos que o acompanham são geralmente pouco específicos ou estão diretamente correlacionados com o órgão envolvido.⁵¹

Tabela 30 – Classificação clínica do linfoma em animais de companhia de acordo com Organização mundial de saúde (OMS) (adaptado de Vail et al, 2020) ⁴¹.

Localização anatômica	
A.	Generalizado
B.	Alimentar (gastrointestinal)
C.	Timo (mediastínico)
D.	Pele
E.	Leucemia (apenas com o envolvimento da medula óssea e sangue)
F.	Outros (incluindo renal)
Estadio (para incluir a localização anatômica)	
I.	Envolvimento limitado a um único linfonodo ou tecido linfoide em um único órgão/excluindo a medula óssea)
II.	Envolvimento de vários linfonodos numa área regional
III.	Envolvimento generalizado dos linfonodos
IV.	Envolvimento do baço ou fígado (+/- estadio III)
V.	Manifestação no sangue e envolvimento da medula óssea e/ou outros órgãos
Subclassificação de cada estadio:	
a)	Sem sinais sistêmicos
b)	Com sinais sistêmicos

4.2 Forma multicêntrica

O linfoma multicêntrico representa entre 80-85% dos linfomas canino.⁴² Sendo que, cerca de 60-80% destes tumores nos cães são derivados de células B, sendo por isto os linfomas de células T os menos comuns.^{3, 8} Dentro do linfoma das células T, os géneros mais agressivos têm maior risco de recaída e de morte precoce.⁸ O linfoma das células B para além de ser a forma mais comum deste tumor também é clinicamente e histologicamente compatível com o LDGCD nos humanos.^{1, 8}

A forma multicêntrica é caracterizada por uma linfadenomegalia superficial generalizada, simétrica na maioria dos casos⁴¹, e é geralmente não dolorosa.¹² A globalidade dos animais apresenta linfadenomegalia sem sintomatologia associada, não obstante, alguns animais (cerca de 20%) podem apresentar sinais clínicos, sendo estes pouco específicos como letargia, perda de peso e anorexia.⁵¹

Com a progressão da doença pode-se verificar o envolvimento do fígado e do baço (hepatoesplenomegalia).¹²

5. Sistemas de classificação

Ao longo dos anos foram criados diversos sistemas de classificação do linfoma canino como *Rappaport*, *Lukes and Collins*, *National Cancer Institutes of Health Working Formulation* e *Kiel-Lennert*, no entanto, estes exibem limitações, particularmente no que diz respeito à sua reprodutibilidade.^{6, 52}

Atualmente, devido às semelhanças biológicas entre o linfoma canino e o LNH em humanos, a abordagem para alcançar o diagnóstico e a classificação do linfoma canino é realizado com base nas *guidelines* estabelecidas para a classificação de doenças neoplásicas dos tecidos linfóides pela OMS em 2008.^{53, 54} Isto deve-se ao facto deste sistema de classificação ser, globalmente, o mais aceite em ambas as espécies.^{41, 52}

Este sistema é uma atualização do “Revised European-American Classification” (REAL) e representa o culminar das várias tentativas para a classificação deste tumor, atendendo a certas características como a topografia, a morfologia tumoral (citologia e histologia), características imunofenotípicas, genéticas, moleculares e clínicas.^{6, 53, 55} A categorização histológica é fundamentada pela arquitetura tumoral (difusa ou folicular), pela morfologia das células tumorais (tamanho, forma e características citoplasmáticas) e pela atividade mitótica.⁵³

Este Sistema de classificação da OMS adaptado para a espécie canina, foi comprovado, através de um estudo elaborado por três veterinários, como o sistema mais competente. Neste estudo utilizaram 300 casos de linfoma canino em que a taxa de precisão foi de 83%.⁵⁴ Esta elevada taxa de precisão foi obtida por veterinários que não eram especialistas em hemopatologia, sustentando assim, a facilidade da reprodutibilidade deste sistema de categorização.⁶ Este, classifica cada doença através da

segregação individual dos subtipos de linfoma⁴¹, a partir das diretrizes reproduzíveis e clinicamente relevantes, de maneira a facilitar a comunicação, a pesquisa e o tratamento.⁵³

Esta classificação de acordo com o subtipo de linfoma é essencial para que haja correlação entre os vários tipos de categorias e o comportamento biológico tumoral (indolente ou agressivo), a resposta ao tratamento e o prognóstico.⁵⁶⁻⁵⁸

Obter um diagnóstico específico é importante, visto que influencia o tempo de sobrevivência do paciente, sendo que este, varia consoante o grau do linfoma (baixo, intermedio ou alto). Linfomas de baixo grau possibilitam tempos de sobrevivência maiores, em que a maior parte dos pacientes não precisam de tratamento ou o tratamento necessário é apenas conservativo.⁵⁴

Para facilitar a obtenção do diagnóstico é importante saber o índice mitótico, pelo que a maneira mais eficiente para determinar este parâmetro é através da secção histológica.⁵⁴

Os subtipos de linfoma mais comuns, por ordem decrescente, são o linfoma difuso de grandes células B, linfoma periférico das células T, linfoma da zona T, linfoma linfoblástico T e linfoma da zona marginal. Tanto nos humanos como nos cães o LDGCB é o mais comum.⁵³

A maioria dos linfomas caninos são classificados como alto grau, compostos por células grandes, exibem um índice mitótico elevado, comportamento biológico agressivo e tempo de sobrevivência médio (TSM) menor, porém, têm uma boa resposta ao protocolo quimioterápico.⁵⁹ Nos humanos este tipo linfoma é potencialmente curável.⁴¹

Por outro lado, 5,3–29% dos linfomas caninos são de baixo grau, associados a células pequenas e a um índice mitótico baixo, apresentam um percurso clínico indolente e respostas incompletas ao protocolo quimioterápico, mas têm TSM maior, todavia, são incuráveis.⁵⁹ Na maioria dos estudos, o linfoma de alto grau consegue obter resposta completa à quimioterapia mais comumente que o linfoma de baixo grau. No entanto, cães com tumores de baixo grau conseguem viver durante vários anos sem necessitarem um protocolo quimioterápico agressivo.⁴¹

O diagnóstico definitivo do subtipo de linfoma é importante pois, o nível de proliferação celular e o estado mitótico não é igual em todos os subtipos e consequentemente a escolha do agente quimioterápico tem que ser ajustado ao subtipo de linfoma e aos diferentes estados mitóticos em que este se encontra.⁵⁴ Cães diagnosticados

com linfoma de alto grau das células T, evidenciam uma baixa taxa de resposta completa ao protocolo de quimioterapia (CHOP), curtos períodos de remissão e um tempo de sobrevivência menor quando comparado com cães que apresentem linfoma de alto grau das células B⁶⁰ (com exceção de subtipos de baixo grau das células T).⁶¹

6. História e sinais clínicos

Os sinais clínicos que se identificam associados ao linfoma são variáveis, apresentando-se em conformidade com a localização e tamanho tumoral ou se existe infiltração das células neoplásicas noutros órgãos⁵.

A generalidade dos pacientes da espécie canina apresenta-se assintomático com uma linfadenopatia generalizada (figura 1), não dolorosa⁴², sendo que alguns animais podem também apresentar hepatoesplenomegalia.⁵ Em outros termos, cerca de 80% dos animais no momento da consulta, encontram-se num estágio mais avançado (III-IV), e num subestádio “a” (sem sinais clínicos).⁴¹

Apenas 20% dos cães exibem sinais clínicos⁵¹, sendo que estes são inespecíficos caracterizando-se normalmente por anorexia, diarreia, vômito, perda de peso, febre⁵, inapetência, letargia, poliúria e polidipsia (especialmente em animais que apresentem hipercalcemia paraneoplásica)⁴², ascite e dispneia.⁴¹ Os cães com linfoma das células T têm maior probabilidade de desenvolver sinais clínicos.⁴¹

Com o desenvolvimento tumoral, pode haver o envolvimento da medula óssea (estádio V), e normalmente estes animais exibem alterações hematológicas como trombocitopenia, neutropenia, hemorragia ou anemia.⁴²

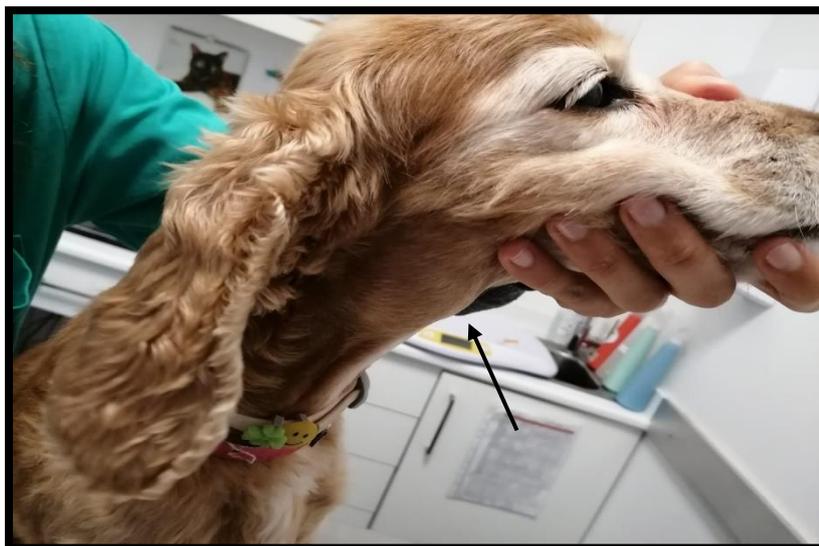


Figura 1 - Cão com apresentação clínica de linfadenopatia submandibular como resultado de um linfoma multicêntrico. Imagem gentilmente cedida pelo HVP.

7. Síndromes paraneoplásicas

As síndromes paraneoplásicas são alterações corporais ou funcionais associadas à neoplasia, ocorrem de forma afastada ao tumor, não estando diretamente relacionadas com o tumor primário ou com as suas metástases. Estas síndromes estão relacionadas com o grau de malignidade tumoral e muitas vezes o sucesso do tratamento da neoplasia fazem com que os sinais clínicos das síndromes paraneoplásicas desapareçam. Muitas vezes, o primeiro sinal de malignidade advém destas síndromes e devido à sua especificidade pode haver indicação de determinados tipos histológicos.⁶²

A síndrome paraneoplásica mais frequentemente observada no linfoma é a anemia.⁵¹ Outra síndrome paraneoplásica comum é a hipercalcemia e ocorre aproximadamente entre 10 a 40% dos cães com linfoma. Este sintoma pode ser debilitante e caracteriza-se clinicamente por anorexia, náusea, vômito, desidratação, poliúria/polidipsia⁶³, emagrecimento, fraqueza músculo-esquelética, letargia, e, pode causar, raramente, depressão do sistema nervoso central e coma.⁴¹

A hipercalcemia induzida pelo linfoma é causada por um péptido relacionado com a hormona paratiroide (PTHrP), sendo produzido, na maioria dos casos, pelas células neoplásicas⁶³. Porém pode estar relacionada com outros fatores humorais.⁴¹

A hipercalcemia está associada predominantemente a linfomas do tipo T.⁶⁴ Outras síndromes relacionadas com o linfoma são as gamopatias monoclonais, neuropatias e caquexia.⁴¹

8. Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo do linfoma multicêntrico, pode ser obtido através da anamnese, exame físico e/ou através de exames imagiológicos. No entanto, este diagnóstico pode ser potencialmente comprovado através do exame citológico dos linfonodos aumentados ou de outra massa, obtida por punção aspirativa com agulha fina (PAAF), ou através do exame histopatológico, recorrendo à biópsia do linfonodo (incisional ou excisional).⁶⁵

A confirmação do diagnóstico, normalmente, depende das características morfológicas identificadas no resultado da citologia e/ou da histopatologia.⁵⁷

Recentemente têm sido utilizados vários testes adicionais com intuito de obter um diagnóstico mais fidedigno e conseqüentemente possibilitar a classificação do linfoma para fins de prognóstico. Entre eles encontram-se a imunocitoquímica, imunohistoquímica, citometria de fluxo e PCR (reação em cadeia da polimerase). Estes testes não são 100% sensíveis e/ou específicos e por esta razão, normalmente, são necessários a utilização de dois ou mais testes de modo a garantir a precisão do diagnóstico e do prognóstico.⁵⁷

A histopatologia é considerada o “*Gold standard*” para diagnóstico do linfoma em humanos, no entanto para além de não ser obrigatória, os linfomas caninos são predominantemente difusos e constituídos por células intermédias a grandes, sendo suficiente a análise citológica. Para além do exposto, o exame histopatológico não é imprescindível para a imunofenotipagem, visto que existem técnicas moleculares de diagnóstico como a imunocitoquímica, a citometria de fluxo e PCR, que podem ser realizadas através de PAAF.⁶⁶

Em suma, em qualquer paciente que se suspeite de linfoma é imprescindível a realização da anamnese, exame físico, hemograma completo, análises bioquímicas, urianálise, radiografia torácica (preferencialmente três projeções) e PAAF e/ou biópsia linfonodos alterados.⁶⁵

8.1 Exame físico

É necessário que o exame físico seja minucioso, metódico e completo e poderá ser pela ordem preferencial do médico veterinário. Neste procedimento deve estar incluído a palpação dos linfonodos, inspeção das mucosas, exame retal, palpação abdominal, auscultação torácica e exame ocular (figura 2).⁴¹

No exame retal deve-se prestar atenção à existência de pólipos retais, uma vez que, este achado é consistente com agregados de linfócitos neoplásicos.⁴¹

Cerca 1/3 a 1/2 dos cães com linfoma multicêntrico apresentam alterações oculares⁴¹, devido à infiltração perivascular pelas células neoplásicas.⁶⁷ Num estudo prospetivo com 94 cães que apresentavam linfoma multicêntrico, 37% dos animais

exibiam sintomatologia associada a doença ocular. O achado mais comum foi uveíte anterior, relatada em 71% dos animais com afeção ocular.⁶⁷

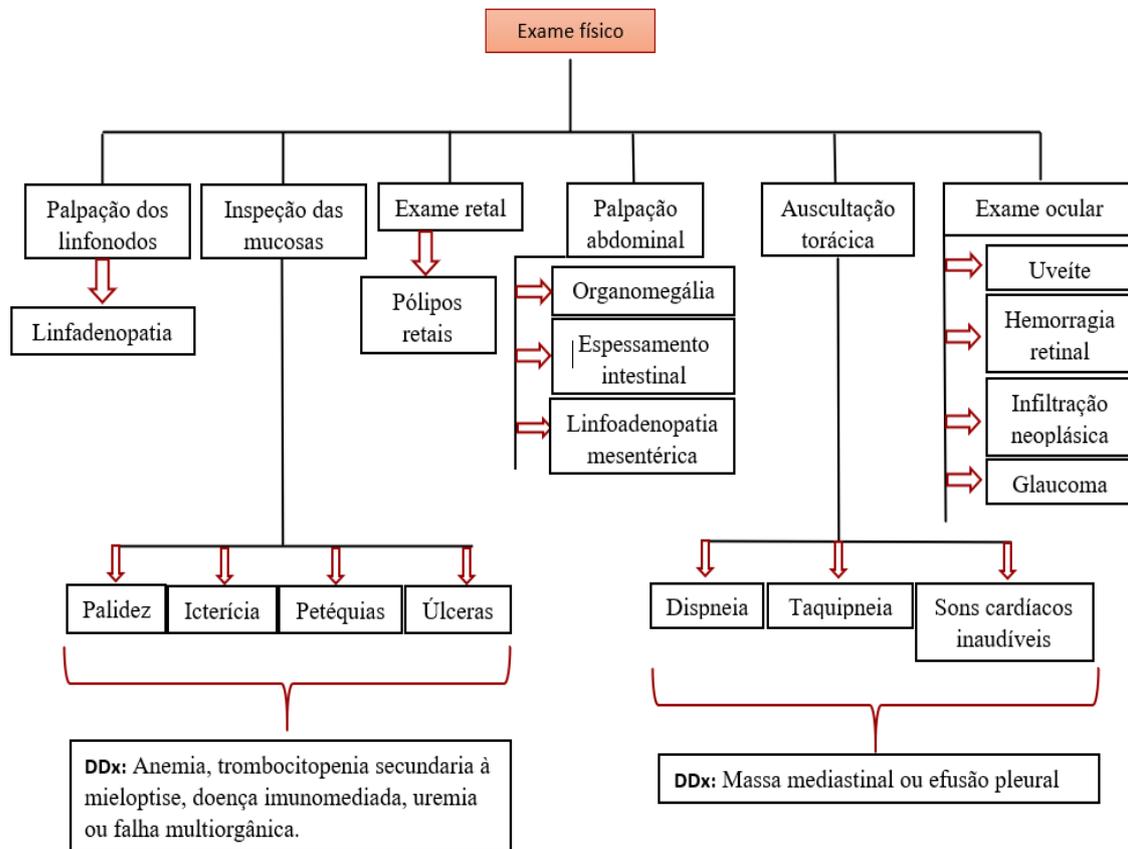


Figura 2 - Esquematização das várias etapas do exame físico (adaptado de Vail et al, 2020).⁴¹

8.2 Exames laboratoriais

8.2.1 Hemograma

A alteração hematológica mais comumente associada ao linfoma multicêntrico é a anemia, normalmente, apresenta-se como não regenerativa (normocrômica e normocítica), refletindo uma anemia derivada de doença crónica. Todavia, a anemia pode surgir devido a hemorragia ou anemia hemolítica.⁴¹ Pode também ocorrer anemias regenerativas estando associadas a hemorragia ou hemólise concomitantes.^{41 42}

Caso haja mieloptise severa, a anemia pode ser acompanhada por trombocitopenia e leucopenia.⁴² Nos pacientes que apresentem anemia ou evidências de hemorragia, deve

ser realizada a contagem dos reticulócitos e os testes de provas de coagulação, em adição à contagem de plaquetas.⁴¹

Existe um maior risco para o desenvolvimento de trombocitopenia em pacientes diagnosticados com linfoma.⁶⁸ Verifica-se que nos casos de cães com linfoma cerca de 30% a 50% apresentam trombocitopenia, 20% exibem linfocitose e cerca de 25% a 40% têm neutrofilia.⁴¹

O aparecimento de linfócitos atípicos em circulação pode ser indicativo do envolvimento da medula óssea ou leucemia.⁴² Neste caso é importante distinguir a etiologia dos linfócitos atípicos dado que o prognóstico da leucemia e do linfoma são diferentes.⁴¹

Outra alteração hematológica que pode aparecer no caso de linfoma é a gamopatia monoclonal (aumento do número de proteínas monoclonais produzidas por plasmócitos anómalos)⁶⁹, no entanto esta representa apenas 6% dos casos.⁴¹

8.2.2 Análise bioquímica

As alterações nas análises bioquímicas advêm de substâncias produzidas pelas células tumorais ou por modificações nos diferentes órgãos devido à infiltração tumoral⁷⁰, refletindo comumente o local anatómico envolvido na doença assim como as síndromes paraneoplásicas associadas, como por exemplo a hipercalcemia.⁴¹

Cerca de 15% dos cães diagnosticados com linfoma apresentam hipercalcemia.⁴² É aconselhado proceder-se à mensuração do cálcio ionizado, já que, pode estar aumentado e a concentração do cálcio plasmático estar dentro dos valores de referência.⁴¹ No caso da hipercalcemia ser idiopática, o linfoma caracteriza-se por um dos principais diagnósticos diferenciais (DDx).⁴² A hipercalcemia também é um importante indicador na evolução da terapêutica estabelecida.⁴¹

Alguns animais podem exibir um aumento na concentração da creatinina e da ureia (secundária à infiltração renal, desidratação pré-azotêmica ou necrose renal), aumento nas concentrações das enzimas hepáticas (secundária à infiltração neoplásica do parênquima hepático), aumento na concentração das globulinas séricas, normalmente, monoclonais secundariamente ao linfoma do tipo B^{41, 42} e/ou diminuição das proteínas totais e albumina.⁷¹

Também é importante avaliar os níveis séricos do lactato desidrogenase (LDH), uma vez que, pacientes diagnosticados com linfoma apresentam aumento da atividade desta enzima.⁷²

8.2.3 Urinálise

Deve ser executada uma análise detalhada à urina, de modo a avaliar a função renal e a função do trato urinário. Alterações na urinálise, não significam necessariamente que exista uma afeção renal. No caso de um animal apresentar proteinúria e isostenúria, na ausência de infeção e cristalúria, pode ser indicativo de doença renal, no entanto, um animal que apresente isostenúria concomitantemente com hipercalcemia, não é necessariamente revelador de doença renal, dado que o aumento do cálcio vai interferir com a capacidade de concentração dos túbulos renais, através da instabilidade de controlo da hormona antidiurética (ADH).⁴¹

8.3 Outros exames de diagnóstico

8.3.1 Avaliação citológica

Quando um animal manifesta linfadenomegalia, devemos ter em consideração os possíveis DDX, que consistem, maioritariamente, em hiperplasia reativa, linfadenite, linfoma e afeção metastática.^{53, 73}

A citologia dos linfonodos é aplicada geralmente de modo a distinguir se a origem da linfadenomegalia é neoplásica ou não-neoplásica.⁷³

É essencial ter em consideração os linfonodos que se elegem para a realização da PAAF. Os linfonodos mandibulares são um dos menos aconselhados, uma vez que drenam áreas muito reativas, no entanto, se estes forem os únicos com um aumento de tamanho deve-se recorrer à sua análise por PAAF. Os linfonodos de eleição para a realização da PAAF são os poplíteos e os pré-escapulares.⁴¹

Dado que, os linfócitos são células frágeis, é necessário ter alguma prudência na preparação do esfregaço, particularmente, na força com que se executa a aspiração das células e posteriormente, na técnica de preparação do esfregaço.⁴¹

Como método de diagnóstico inicial do linfoma, a PAAF, pode ser adequada devido à sua simplicidade de execução, baixo custo, segurança e por ser um procedimento de mínima invasão.^{53, 74}

Mais de 80% dos casos diagnosticados com linfoma canino, apresentam infiltrações, por células neoplásicas grandes, de um ou mais linfonodos, sendo que a PAAF é amplamente aceite como um método extremamente sensível e específico, para ser usado como teste de primeira linha para o diagnóstico do linfoma.⁵³ A especificidade do exame citológico é elevada e provavelmente quando se obtém um resultado positivo para as características de malignidade, a probabilidade de o diagnóstico definitivo ser neoplásico é de 90%.⁷³

Normalmente com a obtenção dos resultados da citologia realizada existe o desencadeamento de testes de segunda linha, como a citometria de fluxo, imunocitoquímica, biópsia associada à imunohistoquímica, testes de clonalidade e análise citogenética.⁵³

Em cães diagnosticados com linfoma o exame citológico pode ser executado com várias finalidades, tais como, obtenção de um diagnóstico final (incluindo o subtipo específico), obtenção da amostragem do linfonodo mais representativa para proceder à sua biópsia excisional e a sua análise histopatológica, realização do estadiamento da afeção, monitorização do curso da doença, especialmente a resposta ao tratamento e/ou se existe recidivas no pós-tratamento. Este exame também pode ser realizado, caso haja o intuito de detetar potenciais alvos tumorais e consequentemente desenvolver terapêuticas específicas para esses alvos.⁷⁴

Posto isto, quando se executa um exame citológico deve se realizar, em primeiro lugar, a distinção entre células normais e neoplásicas e seguidamente proceder-se à classificação geral do tipo de células (tabela 31).⁷⁵

Tabela 31 - Critérios de malignidade citológica adaptado de (WSAVA2006 - VIN, 2019)

Crítérios de malignidade	Características citológicas
Geral	População uniforme pode indicar baixo grau
Núcleo	Mitoses frequentes e/ou anormais
	Dimensão do núcleo
	Rácio núcleo/citoplasma variável
	Nucléolos múltiplos
	Padrões densos de cromatina
	Margem do núcleo irregular
Citoplasma	Acentuada basofilia
	Vacuolização
Estrutura	Carcinoma- células redondas ou ovais dispostas em grupo ou numa camada
	Sarcoma- Células individuais fusiformes e alongadas
	Células redondas- células individuais redondas ou ovais; com grânulos; com vacúolos; ou sem grânulos ou vacúolos.

A classificação morfológica utilizada tem em conta o tamanho celular (por exemplo, pequeno, médio, grande; núcleo menor/igual/maior ao diâmetro de duas hemácias, respetivamente), a densidade e a organização da cromatina, a configuração do núcleo, a extensão da basofilia e do citoplasma e o índice mitótico.⁷⁴

Tendo em conta as características de malignidade, verifica-se que no caso do linfoma a generalidade das células da amostra linfóide são de grandes dimensões (redondas) com um nucléolo saliente e um citoplasma basófilo (com ou sem zona perinuclear clara), ou com uma cromatina fina sem nucléolos aparentes.⁴¹ A percentagem de células consideradas neoplásicas (geralmente são células blásticas imaturas numa determinada fase de diferenciação).⁷⁴ A população celular no linfoma, tanto pode ser monomórfica (morfologia similar), como pleomórfica (diferentes exibições morfológicas), logo este critério não é o mais apropriado para categorizar linfomas.⁷⁴ No

entanto, o autor Vail et al,2020, afirma que a supremacia de uma população homogénea de células linfóides na forma imatura pode ser indicativo de linfoma.⁴¹

Todavia, existem certas limitações com o exame citológico como por exemplo, no caso da distinção entre hiperplasia reativa marcada e o linfoma, ambas causam o aumento de número dos linfócitos grandes, o que as torna difícil de as distinguir. Por outro lado, em alguns subtipos de linfoma existe uma predominância de linfócitos intermédios, sendo que estes, apresentam igual tamanho dos neutrófilos e podem ser igualmente difíceis de diferenciar.⁴¹

A PAAF tem várias vantagens, no entanto, esta não é suficiente como meio de diagnóstico único para diagnosticar certos subtipos de linfoma.⁵³

8.3.2 Avaliação histopatológica

Para que haja uma avaliação histopatológica com a maior precisão possível, é necessário que se faça a excisão de um linfonodo completo, incluindo a sua cápsula, e posteriormente deve ser colocado em formalina e submeter para o patologista.⁴¹

O procedimento mais indicado varia consoante o tecido alvo. No caso dos linfonodos está mais indicado a excisão cirúrgica e a avaliação de todo o linfonodo, já que torna exequível a observação de toda a arquitetura e envolvimento neoplásico do órgão.⁷⁶

Porém, os métodos descritos são a biópsia por agulha (agulhas “*Tru-Cut*” ou “*Vet-Core*”), biópsia por “*punch*”, biópsia incisional e a biópsia excisional. No entanto, as biópsias realizadas com agulhas, normalmente, são inadequadas para a avaliar a morfologia nodal.⁴¹

A realização da biópsia é feita com intuito de obter o diagnóstico e esta técnica ajuda a prever o comportamento biológico tumoral que, conseqüentemente auxilia na seleção do tipo e da extensão de tratamento que deve ser implementado. Por este motivo, a principal finalidade desta técnica é a aquisição de uma amostra de tecido neoplásico suficiente para que se consiga estabelecer um diagnóstico.⁷⁷

Os linfonodos mais atingíveis e mais facilmente removíveis para este género de exames são o poplíteo e o pré-escapular, sendo que os achados mais comumente observados na avaliação histopatológica do linfonodo são a alteração da arquitetura nodal normal e disrupção da cápsula articular.⁴¹

Todavia, este meio de diagnóstico também apresenta algumas limitações a medida em que o resultado do exame relativo á morfologia celular pode ser duvidoso em diferentes tipos de proliferações linfocitárias não neoplásicas, tais como nas inflamações por estímulo antigénico devido a infeções ou doenças auto-imunes, conduzindo a uma sobreposição com a morfologia das células linfóides neoplásicas.⁷⁶

Desta forma, para obter um diagnóstico o mais fidedigno possível, talvez seja necessário recorrer a métodos de diagnóstico mais especializados, tais como a imunocitoquímica/imunohistoquímica, técnicas de diagnóstico molecular e PCR.^{41, 76}

8.3.3 Técnicas de diagnóstico molecular

Para além destas técnicas serem utilizadas como um método de diagnóstico complementar⁴², aplicam-se ainda para a caracterização tumoral após o estabelecimento do diagnóstico do linfoma.⁴¹

A citologia e a histopatologia podem ser utilizadas por várias técnicas de diagnóstico molecular, especialmente em situações em que o diagnóstico da afeção é inconclusivo, e a linfocitose reativa ou o linfoma são possíveis DDX tanto no resultado da citologia como da histologia.⁴¹

As técnicas de diagnóstico molecular consistem na citoquímica e histoquímica, imunohistoquímica e imunocitoquímica, citometria de fluxo, PCR e técnicas citogenéticas.⁵³ Estas técnicas são importantes para obter o imunofenótipo (células B, células T, células nulas ou a maior expressão do complexo de histocompatibilidade), tamanho celular, taxa de proliferação celular tumoral (Ki-67, antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), regiões de organizadores nucleolares argirofílicas), o subtipo (elevado, intermédio ou baixo grau/tumores indolentes) bem como a presença ou ausência de um número cada vez maior de marcadores moleculares sob investigação para potencial prognóstico, preditivo e terapêutico.⁴²

8.3.3.1 Imunofenotipagem

A imunofenotipagem tem como objetivo a distinção entre as populações de células reativas e neoplásicas, assim como a diferenciação entre neoplasias linfóides ou não linfóides^{76, 78}, a seleção de protocolos terapêuticos mais apropriados e o conhecimento do prognóstico⁷⁹⁻⁸¹. A identificação exata dos marcadores antigénicos (CD) nos linfócitos

neoplásicos é importante, pois ajuda a prever a patogénese da afeção, assim como o tratamento que deve ser implementado.⁸²

Para a determinação específica do imunofenótipo, ou seja, da expressão do antigénio existente na superfície das células linfóides⁸⁰, os anticorpos que reagem com estes CD dos linfócitos são aplicados em secções de tecidos (imunohistoquímica), em amostras citológicas (imunocitoquímica) ou através da aplicação em células individuais num fluido (citometria de fluxo).⁴¹

A imunofenotipagem das células linfóides é usada com intuito de reconhecer as combinações dos marcadores da superfície das células, tanto os marcadores das células T (CD3, CD4, CD5 ou CD8) como os marcadores das células B (CD79a, CD20, CD21, IgM ou IgG).⁸¹ Isto é possível, através do uso de anticorpos específicos que conseguem detetar os CD correspondentes.⁸²

É esperado que as populações de células linfóides reativas, ou também denominadas como policlonais, tenham diferentes combinações de marcadores nas superfícies das células, destacando os diferentes fenótipos celulares (B ou T) existentes na população em proliferação.⁸² Por outro lado, também é expectável que, a população neoplásica, também denominada de monoclonal, seja composta por uma população celular que possua um fenótipo homogéneo em que os marcadores são idênticos ou semelhantes para todas as células.^{78, 82} Geralmente nas neoplasias linfóides, o rearranjo dos genes do recetor do antigénio antecede a transformação, desta maneira, a linhagem das células filhas originadas pelo progenitor maligno vão adquirir os mesmos genes do recetor do antigénio, representando conseqüentemente uma população monoclonal.⁷⁹

8.3.3.2 Citometria de fluxo

A citometria de fluxo apenas necessita de um pequeno volume de amostra para conseguir avaliar os vários antigénios numa célula, proporciona resultados quantitativos e permite detetar anormalidades fenotípicas.⁵³ A técnica permite que se realize a mensuração simultânea de um elevado número de células, assim como o registo de vários parâmetros de cada célula, entre eles, o tamanho, a complexidade e as características de fluorescência.⁸¹ Alguns antigénios manifestam-se em diferentes intensidades dependendo dos linfócitos que estão a marcar, essa avaliação quantitativa da expressão antigénica pode ser útil para determinar o estado de maturação celular.⁸²

Esta técnica tem a capacidade de identificar e subclassificar o linfoma através da detecção de características imunofenotípicas específicas do tumor, incluindo a dispersão de luz atípica (principalmente o tamanho) e perfis de expressão de antígeno. Esta técnica consiste na avaliação das propriedades de dispersão de luz das células expostas a um feixe de laser num meio fluido. A análise da dispersão de luz das células em ângulo nulo (dispersão direta) e refletida em aproximadamente 90 graus (dispersão lateral) permite a distinção dos diferentes tipos de células com base nas propriedades celulares como a granularidade e o tamanho.⁸⁰

As características da citometria de fluxo que conduzem à suspeita de malignidade são as expressões anormais dos antígenos, a perda ou a diminuição da expressão de certos antígenos (como o CD45) e mudanças no tamanho celular.⁷⁹

No linfoma canino, os padrões alterados mais comumente identificados são a co-expressão dos antígenos T e B como CD3 e CD79a ou CD3 e CD21, expressão anormal do CD34, co-expressão do CD4 e CD8 em linfomas das células T e ausência de marcadores comuns como o CD45 e CD18.⁸¹

A citometria de fluxo é utilizada de modo a prever o comportamento biológico tumoral, uma vez que certos subtipos de linfomas estão associados a mau prognóstico. Contudo, também pode ser utilizada para estadiar e avaliar a doença residual mínima (DRM).⁸² A DRM consiste na detecção de células neoplásicas residuais que sobreviveram à terapia antitumoral, sendo por isto consideradas a fonte de recaída tumoral.⁸³

Todavia, a classificação morfológica tem em conta a percentagem de células neoplásicas, tamanho celular ou pleomorfismo, sendo que estas características são subjetivas uma vez que dependem da interpretação do patologista, qualidade das amostras e da área da amostra que está a ser examinada. Em medicina veterinária existe um número limitado de anticorpos disponíveis para a sua utilização na citometria de fluxo.⁸²

8.3.3.3 Testes de clonalidade

A técnica PARR (PCR para detecção do rearranjo dos recetores de antígenos dos linfócitos) é cada vez mais usada com intuito de avaliar a clonalidade em amostras em que o linfoma se apresenta como um dos DDX.⁸⁴ Esta técnica para além de possuir um papel importante no diagnóstico de afeções linfoproliferativas (leucemia ou linfoma)⁸⁵,

manifesta utilidade na monitorização da doença residual mínima durante e após a quimioterapia do linfoma canino.⁸⁶

Para a realização desta técnica pode se utilizar tecidos fixados em formalina ou embebidos em parafina, tecidos corados, preparações citológicas não coradas, amostras congeladas ou fluidos.⁸⁷ Os testes moleculares de clonalidade avaliam a diversidade de rearranjos genéticos dos recetores de antígenos linfocitários e podem ajudar a diferenciar um processo neoplásico de reativo, caso os outros métodos de diagnósticos obtenham resultados inconclusivos^{84, 87}. No entanto, a técnica PARR é pouco útil para casos confirmados de linfoma.⁸⁸

Esta técnica tem uma maior precisão do que a citometria de fluxo em casos que os antígenos da superfície dos linfócitos estão sub-regulados ou a população de células neoplásicas na amostra é insuficiente.⁸⁴

O termo de teste de clonalidade é usado quando se refere à deteção de genes únicos que vão codificar os recetores de antígeno de imunoglobulina nas células B, e TCR nas células T.⁸⁸ Estes procedimentos são realizados através do isolamento do DNA das células em que se suspeita existir um processo neoplásico. Em seguida, utilizam-se os iniciadores de PCR, também denominados de *primers* (segmentos de ácidos nucleicos) que vão, por sua vez, codificar os recetores de antígeno de imunoglobulina nas células B, e TCR nas células T, de modo detetar e amplificar genes específicos.⁸⁸

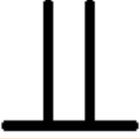
Muitos *primers* têm sido projetados e usados nesta técnica de clonalidade.⁸⁵ São utilizados vários conjuntos de diferentes primers para a amplificação de rearranjos genéticos, estando descritos o uso da cadeia pesada de imunoglobulinas (IgH) e recetores gama das células T.⁸⁴

O aparecimento de um produto de PCR de tamanho único é indicativo de clonalidade, enquanto a presença de vários produtos com diferentes tamanhos sustenta um processo reativo. Por esta razão, se a generalidade das células da amostra apresentarem os mesmos genes de recetores (célula T ou Ig), é mais provável que se verifique um processo neoplásico do que reativo.⁸⁸

Todavia, na interpretação dos resultados deve-se sempre ter em conta a apresentação clínica, morfologia celular, imunofenotipagem e a qualidade da amostra (conteúdo com pouca celularidade ou a presença de ADN com pouca qualidade, pode conduzir à equivocidade dos resultados).⁸⁴

Por esta razão, devemos ter em conta o perfil da eletroforese, a transcrição técnica e a sua interpretação, ou seja, o que é mais provável de ser o resultado e possíveis considerações alternativas (Tabela 32).⁸⁷

Tabela 32 - Representação dos padrões de eletroforese arquetípicos, a sua descrição técnica, interpretação e considerações alternativas prováveis (adaptado de Keller et.al, 2016).⁸⁷

Perfil da eletroforese: (em duplicado)				
				
Transcrição técnica:	Clonal	Policlonal	Pseudoclonal	Não existe produto específico
	Um ou mais picos reproduzíveis	Curva Gaussiana	Um ou mais picos não reproduzíveis	Não existe pico(s) ou curva Gaussiana
Maior probabilidade de:	Processo neoplásico	Processo reativo	Alvo de DNA insuficiente ou mutado	
Considerações alternativas:	Clone benigno → Estimulação antigénica; → Reorganizações canónicas; → Amplificação inespecífica.	Falso negativo → Cobertura insuficiente do primer; → Mutação no local do primer; → Clone incorporado obscurecido por fundo Policlonal; → Anomalias cromossómicas	Insuficiente cobertura de primer Mutação no local do primer Insuficiente quantidade de DNA Insuficiente integridade de DNA	

Existem outras técnicas, no entanto, ainda sob investigação, tais como a análise proteômica do ADN e os biomarcadores celulares. Estas, demonstram utilidade no diagnóstico, para o estadiamento, na obtenção da resposta ao tratamento e na avaliação dos níveis de doença residual mínima.⁴¹

9. Estadiamento

Após obter um diagnóstico definitivo do linfoma, o seguinte passo para que haja o desenvolvimento do plano de tratamento é estadiar a afeção do paciente. O estadiamento tumoral em cães tem como principais objetivos a classificação clínica do linfoma de acordo com a OMS (tabela 30)⁸⁹, a escolha do tratamento ideal, monitorização da resposta à terapêutica instituída e relatar com maior precisão possível o prognóstico aos tutores dos animais.^{89, 90}

O estadiamento permite que o clínico tenha conhecimento do estado de saúde geral do animal, determinar a distribuição e extensão da neoplasia e conseqüentemente saber se o paciente está apto para a realização da quimioterapia ou de outro tratamento cancerígeno, de modo a que sejam administrados em segurança.⁸⁹

A utilização, ao longo dos últimos anos, de testes de estadiamento mais sensíveis como citologia/biópsia da medula óssea, radiografia, ultrassonografia, TAC, ressonância magnética (RM), a tomografia por emissão de positrões (PET), a PET/TAC e PET/RM tem vindo a melhorar o método de tratamento que os médicos veterinários elegem para abordar o linfoma canino.⁴²

9.1 Avaliação da medula óssea

A avaliação da medula óssea é feita por aspiração ou biópsia, e está aconselhada em pacientes que apresentem sinais clínicos, nomeadamente, anemia, linfocitose, e citopenias periféricas.⁴¹ A presença de prolinfócitos e linfoblastos podem sugerir que existe o envolvimento da medula óssea, assim como, pode sugerir a presença de situações não-neoplásicas como AHIM, intoxicação por estrogénio, quimioterapia⁹⁰, afeções inflamatórias ou infecciosas.⁴¹

Esta análise da medula óssea, também pode ser realizada com recurso à técnica de citometria de fluxo ou, se neste caso, o resultado for inconclusivo, à técnica PARR.⁹¹

O envolvimento da medula óssea é um fator de prognóstico, no entanto, não é um exame obrigatório⁴¹, dado que, segundo o acordo do grupo de oncologia cooperativa (VCOG- do inglês “*Veterinary cooperative oncology group*”) defende que independentemente do resultado da avaliação da medula óssea, a escolha da terapêutica a ser instituída não irá ser influenciada.^{92, 93}

9.2 Imagiologia

9.2.1. Radiografia e ultrassonografia

A radiografia e a ultrassonografia representam um papel importante no estadiamento clínico pois, permitem conhecer a extensão do envolvimento do sistema interno do animal.⁶⁴

Cerca de 60% a 75% dos cães diagnosticados com linfoma apresentam alterações na radiografia torácica⁴¹, tais como linfadenopatia torácica (linfonodos esternais e traqueobrônquicos), infiltrações pulmonares (intersticiais ou alveolares) e a presença de massas mediastínicas craniais⁹⁴. A infiltração intersticial disseminada é a principal alteração na radiografia torácica observada em pacientes com linfoma.^{64, 91, 95}

A linfadenopatia mediastinal cranial está presente em 20% dos pacientes com linfoma.⁹⁶ Também é possível observar na radiografia torácica efusão pleural, infiltrações bronquiais e nódulos (mas raramente).⁹¹

Na radiografia abdominal podemos observar em alguns casos o envolvimento dos linfonodos ilíacos mediais ou mesentéricos, esplenomegália e/ou hepatomegália.⁶⁴

No caso de linfoma multicêntrico, a radiografia torácica apresenta ter relevância em termos de prognóstico ao contrário da radiografia abdominal, sendo que não se verifica diferenças consideráveis no prognóstico de animais com linfadenopatia (estadio III) ou com envolvimento hepático e esplênico (estadio IV).⁴¹

A ultrassonografia tem mostrado um aumento de sensibilidade e especificidade da avaliação do linfonodo uma vez que, providencia informação sobre o tamanho, forma, estrutura interna, sombra acústica e vascularidade do mesmo. Os linfonodos derivados da neoplasia primária ou secundária à neoplasia (metástases) evidenciam, normalmente, um padrão hipoeoico ou heterogêneo, respetivamente.⁹⁴

A ecografia com o uso do modo doppler, também apresenta vantagens na medida em que esta é utilizada para avaliar a função da vascularização dos linfonodos através do

mapeamento dos sinais de fluxo existentes nos linfonodos. Sendo que, no caso do linfoma, pode demonstrar um elevado fluxo (caso haja inflamação dos linfonodos reativos) ou diminuição do fluxo (necrose tumoral).⁹⁴

9.2.2. Diagnósticos imagiológicos mais avançados

Em medicina veterinária, o uso destes diagnósticos de imagiologia mais avançados são cada vez mais usados na prática clínica e incluem a TAC, RM, PET, a PET/CT e PET/MR.⁴¹ Estes permitem que seja obtida a localização anatômica tumoral precisa e oferecem um método único para analisar os diferentes tecidos e as suas respostas à terapêutica médica.⁹⁷

O exame TAC é altamente sensível e melhora a qualidade da imagem óssea e é normalmente usado para detetar pequenos tumores ou metástases, para a abordagem cirúrgica ou para a radioterapia. No entanto, apresenta elevados custos e existe uma grande exposição por parte do paciente à radiação ionizante.⁵

A RM por outro lado, tem a vantagem de não utilizar radiação ionizante, mas sim campos magnéticos de elevada potência. É um exame excelente para diferenciação de tecido mole, em geral, tem uma elevada resolução para pequenas estruturas de tecido e é excelente para usar no cérebro. A desvantagem comparativamente com a TAC é que demora mais tempo e é mais dispendioso.⁵

No exame PET, o biomarcador metabólico mais utilizado é o 18F-Fluorodeoxiglicose (FDG), um análogo da glicose.⁹⁷ O FDG-PET permite a deteção do metabolismo da glucose associado a alterações malignas antes que haja a deteção de alterações anatómicas.⁹⁸ Outro biomarcador utilizado no exame PET é o fluorotimidina F-18 (FLT), é um análogo do nucleosídeo timidina, este normalmente acumula-se nos tecidos proliferativos, incluindo tumores malignos.⁹⁷

O FLT-PET/TAC para além de ter qualidades funcionais e de possibilitar uma visualização precisa da imagem anatômica, é útil para avaliar a resposta à quimioterapia citotóxica em cães com linfoma e prever a recaída antes da confirmação clínica.⁹⁷

Ambos os biomarcadores moleculares são úteis para estadiar, avaliar a resposta à quimioterapia e detetar a recorrência tumoral.^{97,98} A utilização do PET/TAC é um método de diagnóstico tumoral mais sensível que a radiografia, ecografia e RM, e tem vantagens funcionais e de imagem anatômica, com o melhoramento na caracterização de lesões

equivocas e minimização da variabilidade do inter-observador.⁹⁸ Em seguida está representada na figura 3 uma síntese das ações que devem ser realizadas quando um animal se apresenta com linfadenopatia generalizada.

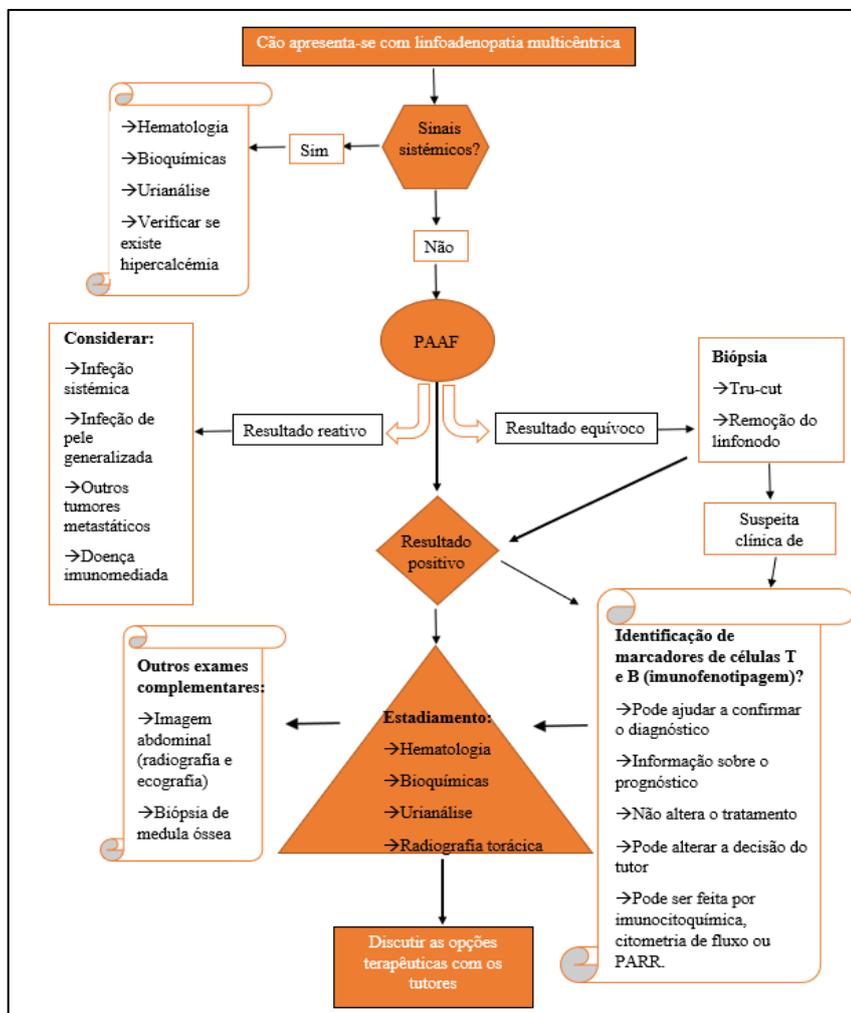


Figura 3 - Árvore de decisão diagnóstica do Linfoma Canino, adaptado de (Turek et al, 2008) ⁶⁵.

10. Tratamento

O objetivo da terapia oncológica é providenciar uma boa qualidade de vida ao animal, podendo este ser alcançado quando se atinge a remissão do linfoma e a manutenção deste estadió durante o maior período de tempo possível.⁶⁵

Após a determinação do diagnóstico definitivo, os pacientes que exibem linfoma de intermédio a alto grau, caso não sejam sujeitos a tratamento médico, têm um TSM de

quatro a seis semanas.⁴¹ No entanto existem exceções, dependendo por exemplo, da localização anatômica e do subtipo.⁴²

A abordagem terapêutica do linfoma depende do subtipo, do estadiamento da afecção, da presença ou não de síndromes paraneoplásicas, do estado de saúde geral do paciente, do compromisso financeiro e de tempo, e do nível de conforto dos tutores em relação à probabilidade de sucesso relacionado com o tratamento e/ou efeitos colaterais.⁴¹

Como o linfoma se caracteriza por uma doença sistêmica, os melhores resultados são obtidos com a aplicação de tratamento sistêmico como a quimioterapia e a imunoterapia.^{42, 65} Existem exceções que incluem casos de linfoma nodal/extranodal solitário, em que nestes casos, inicialmente, é aconselhado terapia local como cirurgia e radioterapia.^{42, 51}

De todos os tipos de linfoma o que responde melhor à terapêutica instituída é o linfoma multicêntrico.⁶⁵

As opções de tratamento mais tipicamente escolhidas são: a não realização de tratamento, protocolos quimioterápicos com o uso de vários fármacos e protocolos quimioterápicos com o uso de um único fármaco.⁶⁵ Porém, os protocolos quimioterápicos com múltiplos agentes demonstram ser mais eficientes que os protocolos quimioterápicos que utilizam só um agente.⁴¹

É importante esclarecer ao dono que independentemente do tipo de tratamento adotado, a cura raramente é alcançada.⁶⁵

Alguns animais apresentam mutações no gene de resistência a múltiplas drogas (MDR), também conhecido como o gene ABCB1. Este gene codifica uma proteína denominada glicoproteína-P, que serve como uma bomba transmembranar de efluxo adenosina trifosfato (ATP) dependente.⁹⁹

A glicoproteína-P promove a saída ativa de substâncias que estão no interior da célula, o que limita a absorção de alguns fármacos e possibilita a excreção dos mesmos, pelo sistema biliar e urinário.¹⁰⁰ Além de ser expressa em tecidos neoplásicos, também se pode encontrar na membrana das células de alguns tecidos normais tais como, os rins, o fígado, o cólon, o endométrio de útero e as células endoteliais da barreira hematoencefálica.¹⁰¹

Nas situações em que a expressão do gene MDR basal se encontra a baixos níveis ou existe falta de expressão funcional da glicoproteína P, as células, geralmente, estão

mais propensas a efeitos citotóxicos devido a uma maior quantidade de fármaco que fica acumulado intracelularmente. Isto acaba por conduzir a toxicidade hematológica e gastrointestinal.¹⁰⁰ Animais com mutações a nível deste gene tornando-se extremamente sensíveis a fármacos que são transportados pela glicoproteína-P, nomeadamente, alguns quimioterápicos (doxorrubicina, vinblastina, vincristina).⁹⁹

Quando certos pacientes apresentam deleção homozigótica do gene MDR1 são tratados com vincristina, tornam-se mais suscetíveis ao desenvolvimento de neutropenia e trombocitopenia comparado com cães que não apresentem tais mutações.¹⁰⁰

Existe algumas raças que apresentam predisposição entre elas o border collie e cães pastores.^{99, 100} Nestes casos de predisposição racial, os pacientes devem fazer um despiste genético antes e durante a realização do protocolo quimioterápico.¹⁰⁰

Estas resistências também podem ser adquiridas devido a interações a determinados fármacos.¹⁰⁰

10.1 Quimioterapia

O linfoma normalmente é uma neoplasia suscetível ao tratamento quimioterápico, e tem taxas de remissão completa de 65-95% e TSM de seis a doze meses (dependendo da escolha do protocolo de quimioterapia).¹⁰²

Quando se opta pela quimioterapia deve-se ter em conta a terminologia subjacente. A primeira etapa da terapêutica corresponde à indução da remissão e deve ser feita com um protocolo (semanal) com maior intensidade do que o utilizado na fase seguinte. A fase seguinte consiste na manutenção e tem como intuito prolongar e manter a remissão e os tratamentos são feitos com intervalos de 2 a 3 semanas. Os protocolos de resgate incluem o uso de novos fármacos, com o objetivo de induzir nova remissão.¹⁰³

Posto isto, o principal objetivo da quimioterapia é induzir uma remissão que dure mais do que 6 meses (fase de indução), re-induzir a remissão após 1 ou mais recaídas (fase de reindução) e induzir a remissão quando a resposta às duas primeiras fases falham, sendo que neste caso utilizam-se fármacos diferentes dos usados nos protocolos iniciais (fase de resgate).⁴¹

A remissão consiste na resolução dos sinais clínicos, das alterações laboratoriais e das alterações observadas ao exame físico e, por contraste, a recaída consiste no reaparecimento dos sinais clínicos ou na afeção mensurável.¹⁰³

A avaliação da remissão é baseada num método subjetivo, sendo esta efetuada normalmente, com base na palpação ou medição dos linfonodos com dimensões normais, e na ausência dos sinais paraneoplásicos e clínicos. Contudo, como este é um método subjetivo, as medições podem ser influenciadas por transformações secundárias no linfonodo, tais como o aparecimento de fibrose ou deposição de gordura à volta do linfonodo.¹⁰⁴

A resposta à terapia pode ser a remissão completa (RC), remissão parcial (RP), doença estável (DE) ou doença progressiva (DP) (Tabela 33).^{92, 103, 105}

Tabela 33 - Caracterização da resposta ao tratamento, de acordo com as normas RECIST- “*Response Evaluation Criteria In Solid Tumours*” - (v1.0), do VCOG (adaptado de Vail et al, 2010).⁹²

Resposta à terapêutica	Definição
Remissão completa (RC)	100% de redução das lesões detetadas inicialmente
Remissão parcial (RP)	≥ 30% de redução da soma dos diâmetro das lesões alvo detetadas inicialmente
Doença estável (DE)	Não há redução para RP, nem há aumento para DP.
Doença progressiva (DP)	>20% de aumento das lesões alvo ou um aumento absoluto mínimo de 5 milímetros comparativamente com o nadir (medida com o valor mais baixo registado desde o início do tratamento)

10.1.2. Protocolos quimioterápicos de múltiplos agentes

A utilização de um protocolo quimioterápico com a combinação de vários agentes que detém diferentes mecanismos de ação, em diferentes fases do ciclo celular, previne a multirresistência do organismo aos fármacos quando comparado com protocolos que só utilizam um agente quimioterápico.¹⁰⁶ Isto deve-se ao facto, de que o tratamento instituído, através da ação de múltiplos agentes, irá provocar a máxima morte celular dentro da gama de toxicidade tolerável pelo hospedeiro, proporcionando uma gama mais

ampla de interações entre o medicamento e o tumor (constituído por um conjunto heterogêneo de população celular), retardando o desenvolvimento de multirresistências celulares a determinados fármacos.¹⁰⁵

Durante os últimos 30 anos, o tratamento ideal do linfoma multicêntrico, mudou do protocolo baseado no COP (ciclofosfamida, vincristina e prednisolona) para o protocolo baseado no CHOP (ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisolona). Têm sido reportados tempos de duração de remissão maiores nos protocolos CHOP (cinco a dez meses) comparativamente aos protocolos COP (três a seis meses).¹⁰⁷

Os agentes quimioterápicos considerados mais eficazes são a doxorrubicina, vincristina, ciclofosfamida, prednisolona e L-asparaginase¹⁰⁸, sendo que, alguns ou todos estes agentes estão incorporados na maior parte dos protocolos de quimioterapia de indução da remissão. Existem vários protocolos, mas os mais utilizados em medicina veterinária são o COP ou CHOP.¹⁰⁷

10.1.2.1. Protocolos baseados no CHOP

Atualmente o protocolo quimioterápico CHOP sem fase de manutenção, é considerado o tratamento “*standard*” nos cães com linfoma multicêntrico de alto grau^{102, 107, 109, 110}. Este protocolo induz a remissão em cerca de 80%-95% dos cães⁴¹, um tempo médio de remissão de seis a dez meses e um TSM de oito a doze meses.¹⁰⁹

A maioria dos cães que atinge a remissão após este protocolo de quimioterapia, provavelmente recidiva, e menos de 25% dos pacientes é que consegue alcançar um tempo de vida superior a dois anos.^{109, 111} Todavia a taxa de resposta ao protocolo quimioterápico assim como a sua duração, varia de acordo com a presença ou ausência de fatores de prognóstico.⁴¹

Nos últimos 15 anos, vários estudos têm sugerido que um protocolo com múltiplos agentes sem a fase de manutenção, que pode decorrer entre 12 a 25 semanas, são igualmente ou mais eficazes que os protocolos com fase de manutenção.¹¹¹⁻¹¹³ Através um estudo realizado por Garret, et al, 2002, pacientes tratados com um protocolo que não inclui a fase de manutenção têm remissões, tempos livres de doença e tempo de sobrevivência semelhantes. Por outro lado, após a finalização do protocolo quimioterápico, os protocolos sem fase de manutenção aparentam ser mais capazes de atingir as segundas remissões após a recaída quando comparados com os protocolos

quimioterápicos com fase de manutenção.¹¹⁴ Por estas razões, é sugerido que o protocolo com fase de manutenção não é benéfico para a maior parte dos pacientes caninos com linfoma.⁴¹

Na opinião de diversos autores, o protocolo CHOP de 19 semanas (tabela 34), é o protocolo recomendado, uma vez que a sua utilização como protocolo de indução inicial está associada a uma maior duração da primeira remissão e uma vantagem significativa da sobrevivência do paciente.^{41, 107}

A globalidade destes protocolos incluem, além dos fármacos já referidos, também uma dose da enzima L-asparaginase (L-CHOP) no início da indução. No entanto, verifica-se que o com ou sem o uso esta enzima no protocolo CHOP, os tempos livres de doença e a taxa de sobrevivência são semelhantes. Assim sendo, o uso desta enzima deve ser reservada, para tempos de recaída ou para o seu uso nos protocolos de resgate.^{111, 113, 115}

Tabela 34 - Protocolo CHOP, curto de 19 semanas, da Universidade de Wisconsin-Madison (adaptado de Vail, 2020).⁴¹

Semana	Protocolo				Prednisona
	Vincristina (0,7 mg/m ² IV)	Ciclofosfamida (250 mg/m ² IV)	Doxorrubicina (30 mg/m ² IV)		
1	X				2mg/kg PO a cada 24h durante 7 dias, 1,5mg/Kg PO a cada 24h nos 7 dias seguintes, seguido de 1mg/kg PO, a cada 24h por 7 dias, por fim 0,5mg/kg PO por 7 dias.
2		X			
3	X				
4			X		
5					
6	X				
7		X			
8	X				
9			X		
10					
11	X				
12		X			
13	X				
14			X		
15					
16	X				
17		X			
18	X				
19			X		

(Continuação da tabela 34)

IV- Intravenoso

PO- Oralmente

1. Todos os tratamentos devem ser descontinuados a partir da semana 19 se houver remissão completa.
2. Um hemograma deve ser realizado antes da administração de qualquer quimioterápico, se no hemograma existir uma neutropenia de $<1500 \times 10^6/L$, não realizar a quimioterapia e voltar a repetir o hemograma em 5-7 dias.
3. A furosemida é administrada juntamente com a ciclofosfamida para reduzir a incidência de cistite hemorrágica na dose de 1mg/Kg IV ou PO. Se esta ocorrer, a ciclofosfamida deve ser substituída pelo Clorambucil (1,4 mg/Kg PO).

10.1.2.2. Protocolos baseados no COP

Este género de protocolo é menos agressivo¹¹⁶, com baixos custos monetários e bem tolerado pelos pacientes.⁶⁵ Os protocolos quimioterápicos baseados no COP, apresentam uma taxa de RC entre os 60-70% dos cães diagnosticados com linfoma multicêntrico, e o TSM é aproximadamente entre seis a sete meses.⁶⁵

Existem vários protocolos derivados do COP, como por exemplo o protocolo COAP (ciclofosfamida, vincristina, citosina arabinósido e prednisona) que é comparativamente pouco agressivo e surge como uma escolha para induzir a remissão da doença.¹¹⁷ Embora o protocolo COAP inicialmente estivesse associado a custos mais baixos de tratamento e potencialmente um menor impacto na toxicidade, a maioria dos cães tratados com COAP, necessita de protocolos de reindução subsequentes mais cedo do que cães tratados com o protocolo CHOP, e por isso os custos totais tornam-se similares a longo prazo.¹⁰⁷

O plano terapêutico é dividido em várias fases tais como a indução da remissão, intensificação, manutenção, reindução da remissão ou “resgate”.¹¹⁶

A fase de indução da remissão dura cerca de 6-8 semanas, e os pacientes devem ser submetidos a avaliações semanais. Se no fim desta etapa o paciente não se encontrar em RC é indicada a iniciação da fase de intensificação com o uso da L-asparaginase.¹¹⁶

Caso o paciente, no final da fase de indução, se encontre em RC a fase da manutenção é iniciada. A fase de manutenção consiste na utilização do protocolo LMP (clorambucil, metotrexato e prednisolona) por via oral, em que a monitorização é menos intensiva (1 vez a cada 6-8 semanas), pouco dispendiosa e com toxicidade mínima.¹¹⁶

Neste estudo não foi apropriadamente avaliado o efeito do uso ou não da fase de manutenção neste tipo de protocolo, mas a experiência sugere que sem a terapêutica de manutenção, os cães tratados com este protocolo recidivam pouco tempo depois da fase de indução.¹⁰⁷

Nesta fase é importante que os tutores avaliem a existência de alterações nos linfonodos, porque caso haja uma recaída, um quarto fármaco deve ser adicionado ao protocolo LMP, normalmente, a vincristina (0.5-0.75 mg/m² IV a cada 1-2 semanas). Esta abordagem geralmente é suficiente para re-induzir a remissão e mantê-la durante semanas ou meses. Esta fase é mantida até que haja uma recaída e então segue-se a fase de reindução.¹¹⁶

Esta fase é semelhante à fase de indução, em que existe a execução de um tratamento intensivo e após a obtenção da RC, o paciente começa novamente a fase de manutenção.¹¹⁶

10.1.3. Protocolos quimioterápicos de agentes únicos

Os protocolos com o uso de um agente citotóxico surgem como uma opção quando existem limitações financeiras, de deslocamentos ou até nas instalações clínicas.⁶⁵

Os agentes quimioterápicos atualmente disponíveis e mais eficazes como agentes únicos incluem a doxorrubicina, l-asparaginase, vincristina, ciclofosfamida, prednisona e prednisolona, sendo que a maioria incorporam os protocolos com múltiplos agentes. Outros fármacos que são reconhecidos e considerados como agentes de segunda linha são a rabacfosadina, lomustina, mitoxantrona, clorambucil, entre outros.⁴¹

Com a exceção da doxorrubicina, a terapia de indução com um único agente, normalmente, não obtém tempos de remissão e TSM tão prolongados como no caso do uso de protocolos de múltiplos agentes.^{41, 65, 118}

O uso da doxorrubicina como agente único, apresenta uma taxa de remissão entre 65%-85%, tempo de remissão médio aproximadamente entre três a seis meses¹⁰⁹ e um TSM entre os oito e dez meses⁶⁵. Este fármaco é administrado a cada 21 dias IV lento (15 a 30 minutos) na dose de 30 mg/m² se >15 kg, 25 mg/m² ou 1 mg/kg se <15 kg.⁴¹ Todavia, pacientes que apresentem doenças cardíacas concomitantes, não devem ser submetidos a nenhum tratamento como este fármaco.⁶⁵

Se os tutores optarem por medicação oral, a lomustina (CCNU; 70 mg/m² PO a cada três semanas) ou ciclofosfamida (250-300 mg/m², PO ou IV, a cada duas a três semanas) e prednisona podem ser utilizadas, no entanto, é importante esclarecer ao tutor que a taxa de remissão e a duração da mesma, são menores do que aquelas obtidas com a doxorubicina.⁴² Caso os tutores optem por um tratamento paliativo, a prednisona é aconselhada de modo a melhorar a qualidade de vida do animal (2 mg/kg PO SID durante sete dias e depois 1mg/Kg SID). No entanto, a duração do tempo de remissão é muito reduzido (um a dois meses).⁶⁵ Os tutores também devem estar cientes que se iniciarem esta terapêutica, a probabilidade de o animal conseguir uma remissão completa com um protocolo mais agressivo diminui.⁴²

Presentemente, também existe um fármaco denominado Tanovea (rabacfosadina) que foi aprovado pelo departamento que regulariza a indústria alimentar e farmacêutica dos Estados Unidos (US FDA, do inglês “U. S. Food and Drug Administration”), no entanto, não se encontra disponível na União Europeia. Este é eficaz no tratamento de linfoma canino, tanto de células B como T, e de recidiva de linfoma de células B.¹¹⁹

Existem evidências que a rabacfosadina é uma escolha terapêutica adequada e eficaz no tratamento de recidivas em cães do linfoma do tipo B, em cães que tenham sido induzidos com um protocolo de quimioterapia com múltiplos agentes que incluísse a doxorubicina. A rabacfosadina administrada em doses de 0,82mg/Kg ou 1,0mg/Kg IV durante 30 minutos, a cada 21 dias e até cinco tratamentos, mostrou obter uma taxa de remissão de cerca 69% ou 77%, um período de progressão livre de doença entre 72 dias ou 108 dias e um tempo de RC cerca sete ou nove meses, dependendo da dosagem utilizada.¹²⁰ Este fármaco também pode ser utilizado como tratamento de primeira linha, apresentando uma taxa de remissão de 84%, sendo que seria associado a um protocolo de agente único com doxorubicina. Neste caso, os fármacos são administrados de forma intercalada, a rabacfosadina na dose de 1mg/Kg IV nas semanas zero, seis e doze, e a doxorubicina na dose de 30mg/m² nas semanas três, nove e quinze.¹⁰⁹

10.1.4. Tratamento do linfoma T multicêntrico

Geralmente o linfoma com fenótipo T, apresenta taxas de remissão e tempos de duração à remissão menores (dois a seis meses), que conseqüentemente conduzem a inferiores TSM (quatro a nove meses) comparado com cães que apresentam linfoma das células B.¹²¹ Quando se opta por instituir o protocolo terapêutico CHOP, os cães com

linfoma de alto grau das células T, exibem menores taxas de remissão e recidivas mais precoce, quando comparado com linfoma de alto grau das células B.⁶¹

A resposta dos pacientes com linfoma T a protocolos baseados na doxorrubicina (por exemplo o CHOP) é reduzida⁶¹, por outro lado, o uso de um agente alquilante único ou combinado, prolonga a sobrevivência do paciente neste tipo de linfoma, como tal é verificado com o protocolo MOPP (Mecloretamina, vincristina, prednisolona e procarbazina).^{61, 121, 122} Por esta razão, a utilização do protocolo MOPP no tratamento do linfoma das células T apresenta taxas de remissão (78%), período de progressão livre de doença (seis meses) e tempos de sobrevivência (nove meses) superiores que o protocolo CHOP neste tipo de linfoma.^{61, 122, 123}

Por outro lado, tanto a L-asparaginase⁶¹ como o protocolo VELCAP-TSC (doxorrubicina, prednisolona, procarbazina e mecloretamina)¹²⁴ não demonstram nenhuma diferença no tempo de sobrevivência consoante o imunofenótipo, sugerindo um possível benefício para os cães com linfoma de células T.¹²⁴ A L-asparaginase apresenta uma taxa de remissão de cerca 70%⁶¹, e o VELCAP-TSC evidencia um TSM superior a um ano em cães com linfoma das células T.¹²⁴

Num estudo realizado em 2018, o protocolo LOPP (lomustina, vincristina, prednisolona e procarbazina) também apresenta ser uma opção viável para o tratamento do linfoma de alto grau das células T, evidenciando taxas de remissão de 97%, tempos de duração da remissão de seis meses e TSM de 11 meses.¹²¹

Concluindo, os resultados com o uso do protocolo CHOP, neste tipo de linfoma, são pouco satisfatórios, caso este seja utilizado como tratamento de primeira linha, eventualmente será necessário o uso de protocolos de resgate tais como CCNU (vincristina, L-asparaginase, ciclofosfamida e lomustina), L-asparaginase ou protocolos baseados em agentes alquilantes (mecloretamina e procarbazina) para tentar obter TSM maiores.⁶¹

10.1.5. Avaliação da resposta terapêutica

De acordo com as guidelines estabelecidas pela VCOG, após a finalização do tratamento, é recomendado a padronização da reavaliação clínica, a cada mês durante um ano e meio e posteriormente a cada 2 meses.⁹²

Nas sucessivas reavaliações clínicas é necessário que esteja incluído os seguintes parâmetros: história pregressa completa, exame físico (incluindo apalpação abdominal e retal) e medição periférica das lesões alvo mensuráveis e avaliação das lesões não alvo. Deve também ser realizado um hemograma completo em cada outro período de reavaliação (a cada dois meses) após a conclusão da terapia.⁹²

A realização de outros exames de diagnóstico mais avançados deve ser reservado para determinadas situações, como quando há suspeita de DP ou em casos que há o aparecimento de uma nova indicação clínica (por exemplo: sinal clínico novo ou recorrente, citopenia de sangue periférico...) e é necessário a execução destes exames para que haja a confirmação.⁹²

Por outro lado, estes exames de diagnóstico, tais como métodos imagiológicos avançados, detecção molecular ou marcadores biológicos mostraram extrema importância na investigação da DRM ou na recidiva precoce.⁴¹

Dentro destas ferramentas de diagnósticos, têm se verificado elevada relevância a PET, a TAC^{95,97}, testes de clonalidade (PARR) e PCR⁹², citometria de fluxo⁹¹ e têm sido investigados alguns marcadores biológicos que demonstraram alguma relevância na monitorização da afeção e de possíveis recorrências tais como atividade da LDH, haptoglobina, atividade da timidina quinase tipo 1 e proteína C-reativa.^{41, 72, 125, 126}

10.1.6. Protocolos de reindução ou resgate

Os protocolos de reindução ou resgate são mais eficazes quando se consegue detetar a recidiva tumoral em estadios precoces.¹²⁶ Independentemente da taxa de remissão ao protocolo de indução, normalmente, existe recidiva tumoral e uma das causas para esta ocorrência é a MDR ¹²⁷, que tanto pode ser intrínseca como adquirida.¹²⁸

Evidências sugerem que na situação dos animais em que se verifica a recaída tumoral, as células neoplásicas são mais propícias à expressão genética (por exemplo, MDR) que por sua vez, codificam uma proteína transmembranar, sendo esta, responsável pelo transporte dos fármacos através da membrana, estando por isso fortemente associada à MDR.^{127, 128}

Outras fatores que impulsionam a recidiva após o protocolo de indução incluem a dosagem inadequada e/ou frequência de administração de quimioterapia inadequada,

falha em atingir altas concentrações de fármacos quimioterápicos em certos locais, como o sistema nervoso central e o tratamento inicial ser realizado apenas com prednisona.⁴¹

É recomendada a realização da terapia de reindução quando ocorre a primeira recidiva, e normalmente envolve o uso do mesmo protocolo utilizado na fase de indução. No entanto, a probabilidade de obtenção de remissão e consecutivamente a sua duração é aproximadamente 50% da obtida com o protocolo inicial.¹²⁶

Porém, alguns pacientes podem ter reinduções de longo prazo, especialmente, quando o animal completou o primeiro protocolo de indução e não tenha feito mais nenhum protocolo quimioterápico por vários meses até se ter sucedido a recidiva.⁴¹ Cães que tenham sido submetidos com o protocolo de indução CHOP podem atingir taxas de reindução entre 80 a 90% utilizando o mesmo protocolo quimioterápico.⁶⁵

Quando a reindução falha, devem ser utilizados agentes de resgate, os quais são diferentes dos usados no protocolo de indução.⁶⁵ Alguns exemplos destes fármacos que mostraram ser eficazes no protocolo de resgate são a lomustina, a mitoxantrona, a actinomicina D e também podem ser utilizadas terapias combinadas como a MOPP¹²⁶ e DMAC (dexametasona, melfalano, actinomicina D e citarabina Arabinosídeo).¹²⁹ A doxorubicina também pode ser utilizada como agente de resgate, caso não tenha sido utilizada no protocolo de indução.⁴¹

Neste último protocolo a taxa de remissão é aproximadamente entre 40%-50%, mas o TSM é cerca de dois meses.¹²⁶ Menos de 20% dos pacientes podem atingir taxas de remissão mais longas com o protocolo de resgate.⁴¹

10.1.7. Efeitos adversos à quimioterapia

A maior parte dos agentes antitumorais são não-seletivos, ou seja, matam as células em divisão rápida, tanto sejam cancerígenas ou células normais do organismo. Por esta razão, a toxicidade está correlacionada a órgãos em que a divisão celular é mais rápida, como a medula óssea e as células das vilosidades intestinais, sendo que os sinais de toxicidade predominantes são a mielossupressão e os efeitos gastrointestinais.¹¹⁶ Outros efeitos adversos que podem estar presentes incluem as reações anafiláticas, toxicidades dermatológicas, cardíacas, hepáticas, neurológicas, pulmonares, urológicas e pancreatite (tabela 35).⁴²

Além destes efeitos diretos dos fármacos nos diferentes sistemas de órgãos, a morte rápida das células tumorais pode produzir alterações metabólicas súbitas (hiperuricemia, hiperfosfatemia e hipercalemia), que conseqüentemente irão provocar a síndrome de lise tumoral aguda. Esta síndrome consiste na existência de sinais clínicos agudos (prostração, vômito, diarreia), que mimetizam a toxicidade do fármaco.¹¹⁶

Tabela 35 - Toxicidades mais frequentes associadas aos agentes quimioterápicos
(adaptado de Couto, 2019).¹¹⁶

Toxicidade	DOX	ACT	CTX	LEUK	Carbo	AraC	L-asp	VCR	CCNU
Mielosupressão	S	M	M/S	N/M	N/M	M/S	N/M	N/M	M/S
Gastrointestinal	M/S	M	M	N/M	N/M	N/M	N	N/M	M
Cardíaca	M/S	N	N/?	N	N	N	N	N	N
Neurológica	N	N	N	N	N	M	N	N/M	N
Hipersensibilidade	M/S	N	N	N	N	N	M/S	N	N
Pancreatite	M	N	N/M	N	N	N/M	M/S	N	N
Lesão perivascular	S	M/S	N	NA	N	N	N	M/S	N
Renal	?	N	M/S	N	N/M	N	N	N	M
Hepática	N	N	N	N	N	N	N	N	N/M

DOX- doxorubicina; **ACT-**actinomicina; **CTX-** ciclofosfamida; **LEUK-** clorambucil; **Carbo-** carboplatina; **AraC-** citosina arabinosídeo; **L-asp-** l-asparaginase; **VCR-** Vincristina; **CCNU-** Lomustina; **N-**Nenhum; **NA-** Não aplicável; **M-**Moderado; **S-**Severo; **?**- Questionável

10.2 Outros tratamentos

10.2.1 Imunoterapia

A imunoterapia passiva tem sido considerada a terapêutica ideal nas neoplasias em humanos, englobando o uso de anticorpos CD20 no linfoma não-Hodgkin e noutras malignidades das células B.^{130, 131}

O protocolo CHOP é utilizado em combinação com os tratamentos com anticorpos monoclonais (anti-CD20), utilizando protocolos como o rituximabe CHOP (R-CHOP), sendo que, o rituximabe foi o primeiro anticorpo monoclonal aprovado e é responsável pelo aumento de 10 anos na sobrevivência em mais de 15% dos pacientes com linfoma não-Hodgkin.¹³⁰

No entanto, o rituximabe não apresenta atividade terapêutica na espécie canina e isto deve-se à falta de reconhecimento externo dos antígenos semelhantes nas células do linfoma canino, uma vez que, existe falta de homologia do epítipo do domínio extracelular do CD20 reconhecido pelo rituximabe, entre os humanos e os cães.¹³²

Em veterinária, estão a ser realizadas investigações relativamente à utilização dos anticorpos monoclonais, tanto para as células B (anti-CD20; AT-004), bem como para as células T (anti-CD52), e acredita-se que num futuro próximo, os protocolos da medicina humana possam ser adaptados para o tratamento do linfoma canino.^{41, 42}

Existe atualmente no mercado uma vacina autóloga baseada nas proteínas de choque térmico HSPs (gp96), denominada de APAVAC, sendo aconselhado o seu uso terapêutico associado à quimioterapia.¹³³

Da mesma forma estão a ser estudadas outras terapêuticas imunoterápicas, incluindo vacinas antitumorais e técnicas de transplante de medula óssea ou de células estaminais, posteriormente à execução de terapêuticas ablativas da medula óssea.⁴²

10.2.2 Cirurgia

Outra alternativa terapêutica é a cirurgia, e esta só deve ser considerada como uma opção de tratamento no caso do linfoma com características solitárias (estadio I inicial), ou doença extranodal.⁴¹ A esplenectomia pode ser realizada, desde que não sejam localizadas células tumorais noutra região do organismo¹³⁴, caso o linfoma seja indolente¹³⁵ ou se houver ruptura do órgão.⁴¹

10.2.3 Radioterapia

A radioterapia é um tratamento localizado, sendo que o seu uso é limitado nos pacientes diagnosticados com linfoma multicêntrico.⁴¹

Assim sendo, o uso da radioterapia é permitido em casos que se verifique a existência de massas solitárias extranodais e não exista envolvimento sistémico⁴², em

pacientes que atingiram RC através da quimioterapia e se tenciona realizar radioterapia da área total do corpo ou da metade do mesmo⁴¹ ou em estudos em que se pretende associar a radioterapia do corpo inteiro ou apenas a metade do corpo com protocolos quimioterápicos.⁶⁵

Também pode ser utilizada como tratamento paliativo em locais onde a influência da doença esteja a afetar a qualidade de vida do animal, como por exemplo, linfoma retal, linfadenopatia mandibular, linfoma mediastinal e consequentemente síndrome da veia cava.⁴¹

Outra utilização terapêutica, consiste na realização da radioterapia no corpo inteiro associada à reconstituição através de transplantes de medula óssea ou de células estaminais⁴¹, no entanto, existem limitações relativamente ao uso da radiação no corpo inteiro para tratar o linfoma multicêntrico, uma vez que há falta de suporte hematológico e de transplante de medula óssea autólogo que seriam necessários para tratar as respetivas complicações terapêuticas.⁶⁵

11. Prognóstico

Apesar da cura do linfoma multicêntrico ser rara (<10%), é comum obter-se uma boa resposta à terapêutica implementada e uma favorável qualidade de vida durante o tempo de remissão. Como foi referido anteriormente, no caso de um paciente que não seja submetido a nenhum tipo de tratamento médico, este está sujeito a um pior prognóstico, em que o TSM esperado é aproximadamente de quatro a seis semanas⁴¹. Por outro lado, uma terapêutica quimioterápica com agentes múltiplos está associada a um melhor prognóstico comparativamente a tratamentos com o uso de um único fármaco.¹⁰³

11.1 Fatores de prognóstico

Existem diversos fatores de prognóstico tumoral, que vão influenciar a resposta ao tratamento e a sobrevivência do paciente.⁴¹ Os fatores de prognóstico de maior relevo estão sumarizados na tabela 36, contudo existe alguns que são controversos.

Os três fatores que apresentam predominantemente uma correlação negativa com o prognóstico são: o imunofenótipo, o subestádio e o subtipo histológico de acordo com OMS.⁴¹ Cães com linfoma de origem nas células T¹³⁶ e/ou pertencentes ao subestádio b^{137, 138} estão associados a tempos de remissão e de sobrevivência menores.

De acordo com o subtipo histológico, existe diferentes prognósticos uma vez que o linfoma de intermédio a alto grau (linfoblástico) é mais agressivo e por isso, está associado a índices de RC maiores, tempo de duração da remissão menor e TSM menor, em contraste, o linfoma de baixo grau (linfocítico) possibilita TSM maior e a maioria dos pacientes não necessitam de tratamento ou este é apenas conservativo.^{41, 54}

Dentro dos vários subtipos, de acordo com um estudo realizado por Valli et al.2013, o subtipo que apresentou maior TSM, cerca de 622 dias, foi o linfoma das células T de baixo grau (zona T) e o que apresentou menor TSM (162 dias) foi o linfoma das células T de alto grau (células T periféricas). Os cães com linfoma centroblástico das células B grandes apresentaram TSM de 127 dias, 221 dias e 215 dias, sendo estes de baixo grau, intermédio grau e em estado avançado, respetivamente.⁵⁴

A classificação dos pacientes em estadios menores (I-IV), sem que haja envolvimento da medula óssea, apresenta melhor prognóstico comparado com o estadio mais avançado.⁸¹

Cães que exibam linfoma concomitantemente com hipercalcemia apresentam um pior prognóstico, tanto na resposta à quimioterapia instituída como na sua sobrevivência, comparado com cães que sejam diagnosticados com linfoma, mas que exibam normocalcemia.¹³⁹

Também tem sido demonstrado que existem fatores imunológicos que contribuem para o pior prognóstico da afeção, incluindo a diminuição dos níveis da expressão da classe II e do antigénio B5.^{41, 140} Em condições normais, a classe II estimula a resposta antigénica do sistema imunitário do hospedeiro, de modo a reagir contra o CD4 das células T neoplásicas. Caso esta estimulação diminua, a eficácia da resposta imunitária também irá diminuir.¹⁴⁰ Por outro lado, o antigénio B5, em condições normais, é expresso em 95% dos linfócitos normais, situação que não é verificada na presença do linfoma⁴¹

A localização anatómica tumoral também influencia consideravelmente o prognóstico da doença, na medida em que as formas digestiva, cutânea, hepatoesplénica e do sistema nervoso central⁴¹, bem como a presença concomitante de linfadenomegalia mediastinal¹⁴¹ estão associados a um prognóstico mais grave.

Da mesma forma, existem vários estudos que demonstram a importância dos biomarcadores no prognóstico tumoral, tais como, o aumento da enzima timidina quinase, da haptoglobina, da proteína C-reativa⁷², do lactato desidrogenase¹⁴² e do fator de

crescimento vascular endotelial¹⁴³, assim como a hipercalcemia¹⁴⁴, diminuição da cobalamina e da albumina sérica.⁴¹

Em termos clínicos, verifica-se a associação entre um menor de TSM dos pacientes com linfoma e a presença de anemia numa fase inicial do diagnóstico, sendo por isso, a presença de anemia considerada um fator de mau prognóstico importante.¹⁴⁵ Assim como a prescrição de glucocorticoides previamente ao uso de protocolos quimioterápicos mais complexos, está associado a tempos de remissão mais curtos.¹⁴⁶

Tabela 36- Fatores de prognóstico para o linfoma canino (adaptado do Vail et al, 2020).⁴¹

Fator	Grau de associação com o prognóstico	Descrição
Histopatologia/subclassificação	Forte	Intermédio-Alto grau → Desfavorável Indolente/Baixo grau → Favorável
Imunofenótipo	Forte	Fenótipo célula T → Desfavorável Baixo MHC II → Desfavorável
Estadio clínico (OMS)	Moderado	Estadio I/II → Favorável Estadio V → Desfavorável
Subestadio clínico (OMS)	Forte	Subestadio b → Desfavorável
Sexo	Moderado	Fêmea esterilizada → Desfavorável
Análise da expressão genética	Forte	Prever resultados
Localização anatómica	Forte	Leucemia, forma cutânea e alimentar difusa e hepatoesplênica → Desfavorável
Hemograma na apresentação clínica	Forte (anemia)	Desfavorável
Avaliação molecular de DMR (PCR, citometria de fluxo...)	Moderado	Importante no desenvolvimento e implementação de terapias “curativas”
Medidas de proliferação	Moderado	Controverso
Tratamento prévio com esteroides	Forte	Desfavorável
Linfoadenopatia mediastinal cranial	Forte	Presença → Desfavorável
Toxicidades hematológicas induzidas pela quimioterapia	Moderado	Grau III/IV neutropenias induzidas pela quimioterapia → Favorável
Localização geográfica	Moderado	Misto

III- Caso clínico- Boss

1. Identificação do animal

Nome: Boss

Espécie: canina

Raça: Pastor Alemão

Sexo: Macho inteiro

Idade: 7 anos

Peso: 45,200 kg

2. Anamnese e exame clínico

O paciente deu entrada no HVP, no dia 05/02/2021, com queixas de anorexia, prostração e dispneia à uma semana, tinha historial de ingestão de corpos estranhos, pelo que os tutores suspeitavam que os sinais clínicos exibidos pelo animal poderiam estar associados a isso. Não tinha vômitos, diarreia ou dificuldade a andar.

Apresentava historial de displasia da anca, sem tratamento a decorrer na altura da consulta, apenas estava indicado a administração de robenacoxibe (dois comprimidos de 40 mg), via PO em SOS. Por outro lado, não revelava historial de doença periodontal.

Tanto as vacinações e desparasitações estavam atualizadas, habitava em regime “outdoor” na zona de Paredes, distrito do Porto, sem prevenção de leishmaniose e sem contacto com mulheres grávidas ou crianças.

No exame físico o paciente estava alerta, com hipertermia (39.5°C), as restantes constantes vitais estavam dentro dos limites normais (frequências respiratória e cardíaca), mucosas rosadas e húmidas, tempo de repleção capilar e da prega cutânea normais. No entanto, apresentava linfadenomegalia generalizada, nomeadamente, nos linfonodos submandibulares, pré-escapulares, poplíteos e inguinais. Foram definidos os linfonodos submandibulares e poplíteos como lesões alvo, pelo que, através de uma régua de medição foi possível obter as suas dimensões em centímetros (cm): submandibular direito: 4 cm por 3,5 cm e o poplíteo direito 6 cm por 5 cm.

→**Lista de diagnósticos diferenciais de linfadenomegalia^{41, 42}:**

- ✓ Hiperplasia reativa dos linfonodos

- ✓ Linfadenite devido a infecções supurativas, eosinofílicas, histiocíticas e/ou piogranulomatosas.
- ✓ Infecções disseminadas, como por bactérias, vírus, rickettsias (*Ehrlichia* sp.), parasitas (*Toxoplasma* sp., *Leishmania* sp.), fungos (*Blastomyces* e *Histoplasma* sp.);
- ✓ Doenças imunomediadas (pênfigos, lúpus, poliartrite, vasculite, dermatopatia)
- ✓ Neoplasia primária (linfoma, mieloma múltiplo, mastocitoma, leucemia, histiocitose maligna)
- ✓ Metástases (carcinoma, sarcoma, melanoma, mastocitoma)

3. Exames realizados

Hemograma (tabela 37)

Análises bioquímicas (tabela 38)

Despiste de leishmânia através do teste serológico → ELISA

Citologia por PAAF do linfonodo poplíteo

Ecografia abdominal

Radiografia torácica

Citometria de fluxo

Tabela 37 - Resultados do hemograma realizado a 05 de fevereiro de 2021, os intervalos de referência são adaptados do HVP.

Parâmetro	Valor	Intervalo de referência
Leucócitos($\times 10^9/L$)	9.96	6.00-17
Basófilos# ($\times 10^9/L$)	0.00	0.00-0.12
Basófilos%	0.0	0.0-1.3
Neutrófilos#($\times 10^9/L$)	7.98	3.62-12.30
Neutrófilos%	80.1	52.0-81.0
Eosinófilos#($\times 10^9/L$)	0.09	0.04-1.62
Eosinófilos%	0.9	0.5-10.0
Linfócitos#($\times 10^9/L$)	1.30	0.83-4.91
Linfócitos%	13.1	12.0-33.0
Monócitos#($\times 10^9/L$)	0.59	0.14-1.97
Monócitos%	5.9	2.0-13.0

(Continuação da tabela 37)

Eritrócitos(x10 ¹² /L)	5.77	5.10-8.50
Hemoglobina(g/L)	121	110-190
Volume Corpuscular Médio (fL)	63.5	60.0-76.0
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	21.0	20.0-27.0
Concentração da Hemoglobina	330	300-380
RDW-CV (%)	14.0	12.5-17.2
RDW-SD (fL)	34.1	33.2-46.3
Hematócrito (%)	36.7	33.0-56.0
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	164	117-490
MPV (fL)	8.0	8.0-14.1
PDW	16.6	12.0-17.5
PCT (%)	0.131	0.090-0.580

Tabela 38 - Resultados da análise bioquímica realizada dia 05 de fevereiro de 2021, os intervalos de referências são adaptadas do HVP.

Parâmetros	Valor	Intervalo de referência
ALB	2.6	2.6-4.0
ALP	159	12.5-82.7
BUN	8.0	9.2-29.2
Ca	9.7	9.3-12.1
CRE	0.62	0.4-1.4
GGT	10	5-14
GLU	114	75-128
GPT/ALT	182	17-48
IP	3.8	1.9-5.0
TBIL	0.2	0.1-0.5
TCHO	91	111-312
TP	5.5	5.0-7.2
GLOB	2.9	1.6-3.7
ALB/GLOB	0.9	0.7-1.9
BUN/CRE	12.9	12.5-31.8

O hemograma encontrava-se normal e pela análise bioquímica podemos observar um ligeiro aumento nas transaminases/enzimas hepáticas, e uma diminuição ligeira na concentração da ureia e do colesterol.

Nesta consulta devido à história progressiva do animal ficou decidido o seu internamento, e iniciou-se a administração da fluidoterapia com lactato de Ringer, a uma

taxa de 2ml/kg/h, paracetamol na dose 10 mg/kg (duas vezes ao dia) BID e citrato de maropitant na dose 1mg/kg (uma vez ao dia) SID.

Durante o tempo de internamento foram realizados exames complementares de diagnóstico, tais como, radiografia torácica lateral (figura 4) e ecografia abdominal (figura 5). A radiografia não revelou quaisquer alterações significativas, enquanto na ecografia abdominal foi possível visualizar hepatoesplenomegalia com múltiplas lesões focais nodulares de ecogenicidade mista, de limites mal definidos (maior diâmetro cerca de 23 milímetros) em ambos os órgãos, sugestivas de neoplasia infiltrativa. Enquadram-se nos possíveis diagnósticos diferenciais: hiperplasia benigna; focos de necrose, focos de infecção, neoplasia primária, lesões metastáticas, edema e hemorragia do linfonodo.

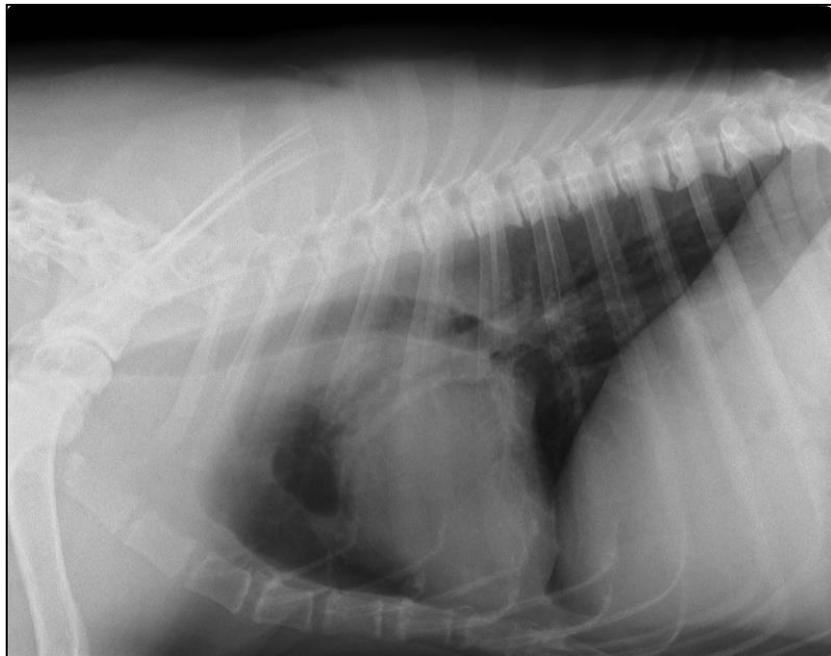


Figura 4 - Radiografia torácica do Boss, em projeção lateral. Imagem gentilmente cedida pelo HVP.

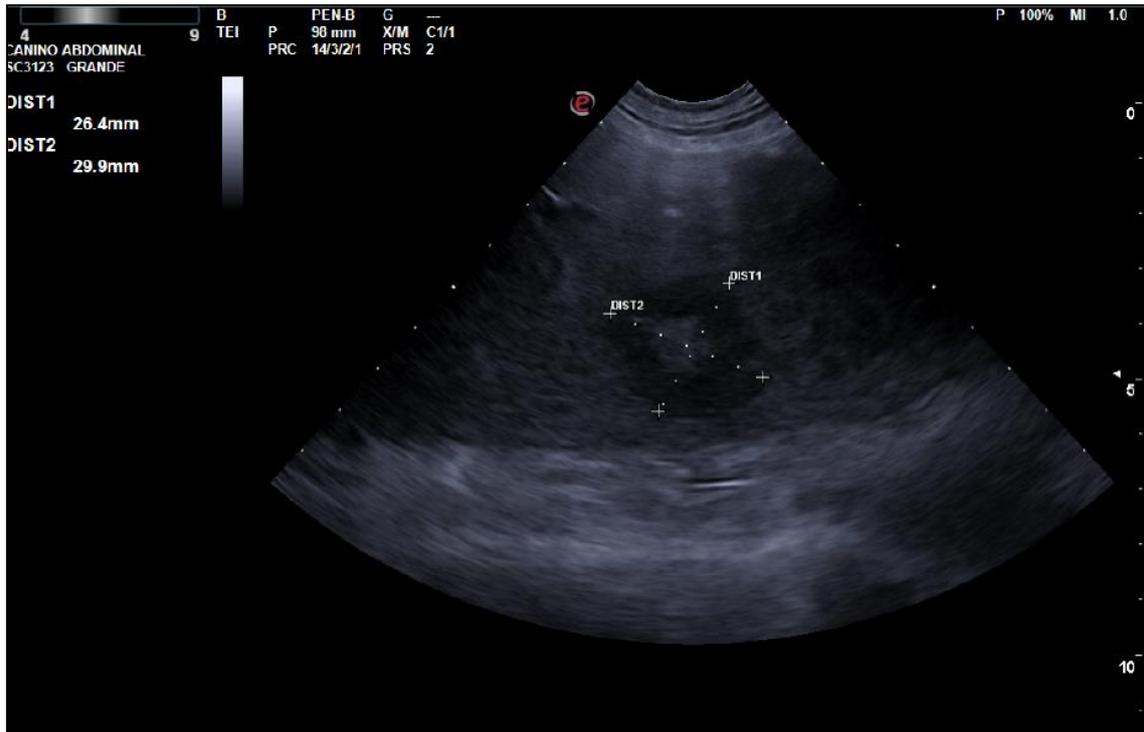


Figura 5 - Nódulo esplênico de ecogenicidade mista. Imagem gentilmente disponibilizada pelo HVP.

06/02/2021- Resultado negativo do teste de pesquisa de anticorpos anti-leishmania pela técnica serológica ELISA. 24h após o internamento do paciente, este já comia e apresentava melhoras clínicas, pelo que, teve alta hospitalar aguardando os resultados dos exames.

08/02/2021- Resultados do exame citológico dos linfonodos poplíteos (Anexo I) – Constatava-se a presença de população de células nucleadas composta majoritariamente por células linfóides de tamanho médio a grande, com moderado índice mitótico. Havia Escassez do citoplasma, sendo este basófilo e ocasionalmente existia a presença de um discreto halo pálido perinuclear. Núcleos arredondados, cromatina fina com normalmente um ou vários nucléolos salientes no núcleo. De acordo com os dados obtidos, existia elevada compatibilidade com neoplasia linfóide, nomeadamente, linfoma.

Procedeu-se à realização da imunofenotipagem do aspirado ganglionar e do sangue periférico através de citometria de fluxo. Devido à elevada suspeita de linfoma, o paciente iniciou, neste dia, o protocolo quimioterápico CHOP de 19 semanas (Anexo II).

4. Tratamento e evolução clínica

11/02/2021- Respondeu positivamente à primeira sessão de quimioterapia, isto é, sem efeitos secundários (vômitos ou diarreia). No momento desta consulta, ou seja, com apenas uma sessão de quimioterapia, o paciente apresentava uma linfadenomegalia ligeira dos linfonodos poplíteos com metade do tamanho (cerca de 3cm) que o observado na consulta inicial.

A análise da citometria de fluxo (Anexo III) foi sugestiva de linfoma de células grandes B com envolvimento do sangue periférico com DRM de 1%. O aspirado ganglionar era composto maioritariamente (82.9%) por células grandes (D45+CD21+MHCII) que são CD34- e CD5- e o aspirado do sangue periférico era composto por CD21+. Após este resultado decidiu-se manter o protocolo CHOP.

(22/02/2021) - O paciente apresentou perda de peso (-2,700kg = 42,500kg) e ligeira anemia (hematócrito a 30.9%).

(01/03/2021) - Antes da quarta sessão de quimioterapia, em que seria administrado a doxorubicina, realizou-se ecocardiografia, não se observando quaisquer alterações dignas de impedimento para a realização da terapêutica.

(16/03/2021) – O paciente aumentou ligeiramente o peso desde a última avaliação (+150 g= 42.650kg) e neste avaliação apresentava remissão completa.

(06/04/2021) - Perda ligeira de peso (-400 gramas=42,250kg). Presença de lesões cutâneas e pús nos membros posteriores, compatíveis com pioderma, iniciou-se o tratamento com rilexine 600 mg (1comprimido + 1/2 comprimido, duas vezes ao dia-BID) e desinfeção local com malaseb.

(12/04/2021) – O paciente apresentava vômitos desde à dois dias, os tutores instituíram dieta caseira de arroz com frango desde o inicio da quimioterapia. A avaliação do exame clínico estava dentro dos parâmetros normais então optou-se por tratamento sintomático com maropitant (1 comprimido de 60 mg, PO, SID), omeprazol (1 comprimido de 40 mg, PO, BID), metocloperamida (1+1/2 comprimido PO BID) e manteve omeprazol até terminar o antibiótico (rilexine).

(04/05/2021) - Não teve mais episódios de vômitos, no entanto apresenta um apetite caprichoso pelo que se receitou primperam 1+1/2cp PO BID, durante 4 dias. Exibe

o hemograma com ligeira leucocitose por neutrofilia. Perda de peso (-700gramas=41,550 kg).

(11/05/2021) - Manteve o peso da última consulta, e não apresenta alterações de apetite.

Continuou-se o tratamento, com o protocolo CHOP sem reações adversas graves e o paciente manteve o peso de 41,550 kg até ao final do protocolo, que comparativamente com o início do protocolo perdeu 950 gramas. Atingiu a remissão completa no dia 01/03/2021 e o protocolo terminou dia 15/06/2021.

Até à data da realização deste relatório, ou seja, até à última data que a autora teve acesso, o Boss continua em remissão completa, alerta, sem sinais sistémicos e com uma boa qualidade de vida.

5. Discussão

O presente caso clínico relata um canídeo macho, pastor alemão com sete anos de idade diagnosticado com linfoma multicêntrico.

Como foi referido anteriormente a predisposição sexual é um assunto controverso, sendo que existe um estudo realizado por Villamil et al, 2009, que defende que existe predisposição sexual, havendo uma maior predisposição nos machos que nas fêmeas 52,4% e 47,6%, respetivamente ⁹ e outros autores defendem que não existe predisposição.¹²⁻¹⁵ Cães de todas as idades podem ser afetados, no entanto existe uma maior predisposição em cães de meia idade, aproximadamente entre os seis e os nove anos de idade.^{9, 10, 16, 41} Outro fator de risco para o desenvolvimento do linfoma é a raça, sendo o pastor alemão uma das raças predispostas para o desenvolvimento do mesmo^{10, 12, 147}, especialmente no caso do fenótipo das células B.⁷³

O paciente na primeira consulta apresentava linfadenomegalia generalizada, sendo que, cerca de 80% dos animais apresentam este sinal clínico correspondente a uma apresentação multicêntrica.^{41,42} O Boss, apresentava concomitantemente sinais sistémicos inespecíficos como anorexia, prostração, dispneia e hipertermia, sendo estes, apenas verificados em 20% dos animais no momento da primeira consulta.^{5, 117}

Desta forma, a deteção dos linfonodos aumentados, em associação com os sinais clínicos e das características do paciente, conduziu à suspeita de uma doença sistémica que necessitava de confirmação com meios de diagnóstico complementares.

O diagnóstico do linfoma multicêntrico foi concluído num curto espaço de tempo, uma vez que a presença dos sinais clínicos típicos (linfadenomegalia), a exclusão da existência de leishmaniose, a citologia através da técnica PAAF e posteriormente a citometria de fluxo permitiu a confirmação do diagnóstico presuntivo.

Na realização da citologia, o médico veterinário optou por utilizar apenas alguns dos linfonodos que exibiam linfadenomegalia, e neste caso, foi o poplíteo. O médico optou por utilizar os linfonodos poplíteos, visto que, geralmente, não são aconselhados a utilização dos linfonodos submandibulares, porque drenam zonas muito reativas, sendo que, só devem ser utilizados estes linfonodos no caso de serem os únicos que apresentam linfadenopatia.⁴¹

Alguns autores sustentam a ideia de que a histopatologia deve ser utilizada no diagnóstico do linfoma^{41,42}, no entanto, existem razões válidas para a não utilização deste método de diagnóstico.

Foi realizada a citologia sem recorrer ao uso da histopatologia por várias razões, tais como, a citologia constituir um método com maior facilidade de execução, menor custo, segurança, ser um procedimento de mínima invasão e haver maior rapidez na obtenção dos resultados.^{53, 74} Muitos tutores, mostram relutância em realizar um diagnóstico mais invasivo como a biópsia do linfonodo quando os resultados não irão alterar o curso do tratamento e o potencial resultado.¹¹⁰ Cerca de 80% das infiltrações neoplásicas dos linfonodos normalmente são por células neoplásicas grandes, sendo que a PAAF é amplamente aceite como um método extremamente sensível e específico (cerca de 90% em ambos os parâmetros), para ser usado como teste de primeira linha para o diagnóstico do linfoma.⁵³ Devido à elevada especificidade, quando se obtém um resultado positivo para as características de malignidade através da técnica PAAF, a probabilidade de o diagnóstico definitivo ser neoplásico é de 90%.⁸⁴ Por outro lado, a histopatologia em medicina veterinária para além de não ser de carácter obrigatório, a maior parte dos linfomas caninos são difusos e constituídos por células intermédias a grandes, sendo suficiente a análise citológica. O exame histopatológico também não é imprescindível para a imunofenotipagem, visto que existem técnicas moleculares de diagnóstico como a imunocitoquímica, a citometria de fluxo e PCR, que podem ser realizadas através de PAAF.⁶⁶

Atualmente é defendido por alguns autores, que a citologia é um método de diagnóstico suficiente se for complementado com imunocitoquímica ou citometria de fluxo^{74, 81} de modo a obter a subclassificação e o prognóstico.¹¹⁰ A PAAF não é suficiente como método de diagnóstico único, pois não permite avaliar o fenótipo associado à neoplasia, sendo este um fator de prognóstico. Por esta razão, é necessário utilizar outros meios de diagnóstico tais como técnicas moleculares.

Neste caso optou-se pela técnica de citometria de fluxo, dado que necessita de um pequeno volume de amostra para conseguir avaliar os vários antigénios numa célula, proporciona resultados quantitativos e permite detetar anormalidades fenotípicas.⁵³

Esta técnica permite a avaliação detalhada dos múltiplos parâmetros de várias células em segundos. É extremamente sensível e específica para a determinação da linhagem celular num curto espaço de tempo.

Comparativamente com a imunocitoquímica, a citometria de fluxo tem um maior número de anticorpos disponíveis (como por exemplo, CD45, CD4, CD8, CD21, CD14, CD34, CD41/61, CD61, entre outros) e por isso há uma maior probabilidade de conseguir ter uma melhor definição da linhagem celular, estado de maturidade e dos diferentes subtipos celulares. Ao contrário da imunocitoquímica, a citometria de fluxo não precisa de nenhum tratamento específico antes de proceder á sua análise.¹⁴⁸

Por estas razões, a citometria de fluxo é uma técnica que permite a obtenção do diagnóstico mais rapidamente que a imunocitoquímica e quanto mais rápido for a obtenção do diagnóstico mais rápida é a iniciação da terapêutica médica e melhor o prognóstico.

O teste de clonalidade, PARR, pode ajudar a diferenciar processos neoplásicos de reativos, através da avaliação da variedade de rearranjos genéticos dos recetores de antigénios linfocitários, caso os outros métodos de diagnósticos não sejam conclusivos^{84, 87}, em casos confirmados esta técnica não apresenta grande utilidade.⁸⁸ Neste caso, como foi possível a obtenção de um diagnóstico definitivo com outros métodos de diagnóstico, não foi necessária a utilização desta técnica.

As análises laboratoriais realizadas inicialmente e durante o tratamento, foram extremamente importantes, de modo a avaliar a existência de síndromes paraneoplásicas (como a anemia e/ou a hipercalcemia), doenças concomitantes que pudessem afetar o prognóstico do animal e a deteção de possíveis reações adversas durante a administração

da quimioterapia. O aumento das enzimas hepáticas verificado nas primeiras análises realizadas, pode ser derivado da infiltração neoplásica do parênquima hepático^{41, 42}, que foi verificado na ecografia do Boss.

Não se realizou a medição da LDH, marcador biológico, sendo esta um fator de prognóstico.

No estadiamento, segundo a classificação do linfoma, que atualmente é realizada segundo as *guidelines* estabelecidas pela OMS, o Boss foi classificado como estadio V (manifestação no sangue, envolvimento da medula óssea e/ou outros órgãos) e no subestadio “b” (com sinais sistêmicos). No entanto, para que esta classificação fosse o mais precisa possível era necessário a realização da punção da medula óssea, uma vez que para a classificação do estadio V, apenas se considerou o resultado da citometria de fluxo, em que estava implícito o envolvimento do sangue periférico. Esta classificação apresenta um pior prognóstico e tem menor TSM que as neoplasias classificadas entre o I-IV.⁸¹ O estadiamento foi realizado com base nos exames efetuados anteriormente juntamente com a radiografia torácica e a ecografia abdominal.

A radiografia torácica influencia o prognóstico do animal, no entanto não existe uma diferença significativa no prognóstico de animais com linfadenomegália generalizada (estadio III) ou com envolvimento hepático e esplênico com ou sem linfadenomegália generalizada (estadio IV).⁴¹

A punção hepática e/ou esplênica, é uma técnica que envolve sedação, tem alguma dificuldade na sua realização devido à localização dos órgãos (na zona das costelas) e existe a possibilidade de a técnica obter uma amostra inconclusiva devido à contaminação sanguínea por células neoplásicas. Uma vez que, não existem diferenças significativas no prognóstico e devido às dificuldades existentes na sua realização optou-se por não se realizar a punção hepática e esplênica. No entanto, há autores que defendem que devido à elevada sensibilidade (100%) do exame ecográfico ao baço quando existem alterações deve-se realizar PAAF, de modo a confirmar se existe um processo neoplásico ou um processo reativo. No caso da ultrassonografia hepática é aconselhada a realização da PAAF, independentemente se o órgão se apresenta normal ou com alterações ecográficas, de modo a obter um resultado definitivo do envolvimento hepático.^{95, 149}

No estadiamento, não é obrigatório a punção de medula óssea, porque a análise deste permite perceber o envolvimento da medula óssea, mas, como mencionado anteriormente, não altera o tratamento, tendo apenas um valor de prognóstico.⁴¹

Antes de se proceder à realização da terapêutica médica, idealmente, seria necessário realizar o despiste genético para a possibilidade de mutações do gene MDR, uma vez que o pastor alemão é uma das raças que apresenta predisposição genética para este tipo de mutações.^{99, 100} No entanto, como não é comum na prática de rotina do HVP, o clínico optou por não realizar este teste.

O tratamento do Boss foi realizado antes da obtenção do resultado da citometria de fluxo, uma vez que no resultado da citologia conclui-se que havia suspeita de linfoma, e como referido anteriormente nestes casos, a probabilidade de o diagnóstico definitivo ser neoplásico é de 90%.⁸⁴ Alguns autores defendem que a maioria dos linfomas multicêntricos caninos apresentam-se como intermédio ou alto grau, e a histologia e imunofenotipagem não evidenciam um papel importante na determinação do protocolo terapêutico inicial, a menos, que o diagnóstico definitivo seja de linfoma indolente ou baixo grau, em que nestes casos o tratamento será diferente. Como a probabilidade de o linfoma multicêntrico canino ser do fenótipo B é cerca de 60-80%^{3, 8}, e o subtipo mais comum é o LDGCB, optou-se por iniciar o protocolo CHOP, considerado o “goldstandard” neste tipo de linfoma.^{102, 107, 109}

A existência várias opções de terapêuticas médicas, mas no caso do linfoma multicêntrico, sendo este uma doença sistémica, o tratamento ideal e amplamente aceite é a quimioterapia.^{42, 65} A imunoterapia em medicina veterinária apresenta ser um tratamento promissor no futuro, porém, ainda estão a decorrer investigações relativamente ao uso de anticorpos monoclonais.^{41, 42} Atualmente está disponível no mercado a vacina autóloga (APAVAC), sendo esta utilizada em pacientes com linfoma das células B, que em associação com a quimioterapia, apresenta benefícios na resposta ao tratamento e na sobrevivência comparativamente com o uso da quimioterapia como tratamento único.¹³³ No entanto, no caso do Boss, por motivos financeiros decidiu-se não realizar esta abordagem terapêutica. A radioterapia e/ou cirurgia são aconselhados como terapia local, em situações de linfomas extranodais ou lesões solitárias (estadio I)^{41, 51}, sendo que o caso clínico mencionado neste relatório já apresenta disseminação da doença para a corrente sanguínea e infiltrações noutros órgãos.

Neste caso clínico tomou-se a decisão de utilizar como terapêutica médica um protocolo quimioterápico com múltiplos agentes, nomeadamente o CHOP (sem fase de manutenção) de duração de 19 semanas. Foi tomada esta decisão, dado que a utilização de protocolos com múltiplos agentes apresenta uma maior eficácia que a utilização de um único agente ⁴¹ e entre os vários protocolos existentes o CHOP (sem fase de manutenção) é o tratamento ideal para linfoma das células B. ^{102, 107, 109}

Em vários estudos realizados ao longo dos anos, constatou-se que os protocolos sem fase de manutenção são igualmente ou mais eficazes que os protocolos contínuos com múltiplos agentes. ¹¹⁰⁻¹¹² Especificamente, num estudo realizado por Burton et al, 2012, constatou-se que os pacientes que utilizaram os protocolos sem fase de manutenção exibiam menos dificuldades em atingir as segundas remissão após a recidiva do que os pacientes que utilizavam protocolos com manutenção. ¹¹³

A escolha do protocolo CHOP de 19 semanas foi dependente da preferência do clínico, do tutor do animal, do animal e das patologias concomitantes a este associadas. Este protocolo de 19 semanas é o protocolo recomendado, segundo alguns autores, tais como o Vail et al, 2020, e Hosoya et al, 2007, no entanto a escolha desde protocolo, tal como foi referido, depende da preferência do médico veterinário e do tutor. ^{41, 107}.

Realizou-se a ecocardiografia antes da doxorrubicina, pois, esta deva ser sempre efetuada antes da administração de quimioterápicos cardiotóxicos (doxorrubicina) principalmente quando há história de doença cardíaca já conhecida ou em canídeos de raças com pré-disposição para cardiomiopatia ¹⁰³, sendo o Boss, um pastor alemão, e por isso apresenta predisposição para cardiomiopatia dilatada.

Uma vez que não se excedeu a dose máxima cumulativa de doxorrubicina (180-240 mg/m²) e este não apresentou efeitos adversos à administração da mesma, não tendo sido necessário ao longo do protocolo de quimioterapia se realizar mais nenhuma ecocardiografia.

Neste caso clínico, a abordagem diagnóstica e terapêutica instituídas pelo médico veterinário foram elaboradas em conformidade com a bibliografia recomendada e com a decisão do tutor. Contudo, para uma melhor avaliação do prognóstico devia-se ter avaliado as concentrações da LDH e realizado a punção da medula óssea, sendo que esta, também é útil para uma classificação tumoral o mais fidedigna possível.

IV- Conclusão

É importante reter que a prevalência de tumores tem vindo a aumentar, representando uma das maiores causas de morte nos animais de companhia, sendo o linfoma multicêntrico o tumor hematopoiético mais comum na espécie canina.

Os médicos veterinários têm um papel vital, na medida em que devem informar os seus clientes, de forma contínua e perceptível, dos potenciais riscos e opções de tratamento associados à doença. O tutor deve ser sensibilizado para as consequências da afeção e para as possíveis recidivas que podem surgir, mesmo após a instituição da terapêutica quimioterápica, havendo por isso, a necessidade de monitorizações constantes de modo a controlar a progressão da doença e para que se exerça uma rápida intervenção aquando da recaída.

Esta área da medicina veterinária é das mais procuradas pelos tutores, com intuito de obterem o melhor tratamento para o seu animal. Por esta razão, a autora escolheu este tema, de forma que no futuro possua mais ferramentas para que consiga ajudar a manter/providenciar a melhor qualidade de vida ao animal.

O período de estágio foi imprescindível para o desenvolvimento pessoal e profissional da autora, tendo especial importância na adaptação à realidade profissional. Foi-lhe possibilitado, observar uma variedade de casos e procedimentos nas diversas áreas clínicas, proporcionando uma aprendizagem mais especializada, o que consequentemente dirigiu ao conhecimento de novas especialidades.

O relatório de estágio foi a etapa final, em que foi possível exibir na vertente prática, a aquisição de conhecimentos teóricos e técnicos durante os seis anos académicos.

A elaboração da monografia permitiu a aquisição de novos conhecimentos, numa área tão ampla e que está em constante mudança. Para além de esta ser uma área de interesse da autora, a escolha deste tema refletiu a necessidade de uma melhor compreensão desta afeção, o que impulsionou a um intenso trabalho de pesquisa para um melhor entendimento desta afeção.

Referências bibliográficas

1. Tonomura N. Elvers I. Thomas R. Megquier K. Turner-Maier J. Howald C. Sarver A.L. Swofford R. Frantz A.M. Ito D. Mauceli E. Arendt M. Noh H.J. Koltookian M. Biagi T. Fryc S. Williams C. Avery A.C. Kim J.H. et al (2015) Genome-wide Association Study Identifies Shared Risk Loci Common to Two Malignancies in Golden Retrievers. *PLoS Genetics*, 11: 1–24.
2. Waugh E.M. Gallagher A. McAulay K.A. Henriques J. Alves M. Bell A.J. Morris J.S. & Jarrett R.F. (2015) Gammaherpesviruses and canine lymphoma: No evidence for direct involvement in commonly occurring lymphomas. *Journal of General Virology*, 96: 1863–72.
3. Gavazza A. Rossi G. Lubas G. Cerquetella M. Minamoto Y. & Suchodolski J.S. (2018) Faecal microbiota in dogs with multicentric lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16: E169–75.
4. Starkey M.P. & Murphy S. (2010) Using lymph node fine needle aspirates for gene expression profiling of canine lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8: 56–71.
5. Klopfleisch R. (2016) Hematopoietic tumors. In *Veterinary Oncology*,
6. Valli V.E. Myint M. Barthel A. Bienzle D. Caswell J. Colbatzky F. Durham A. Ehrhart E.J. Johnson Y. Jones C. Kiupel M. Labelle P. Lester S. Miller M. Moore P. Moroff S. Roccabianca P. Ramos-Vara J. Ross A. et al (2011) Classification of canine malignant lymphomas according to the world health organization criteria. *Veterinary Pathology*, 48: 198–211.
7. Reif J.S. Lower K.S. & Ogilvie G.K. (1995) Residential exposure to magnetic fields and risk of canine lymphoma. *American Journal of Epidemiology*, 141: 352–59.
8. Elvers I. Turner-Maier J. Swofford R. Koltookian M. Johnson J. Stewart C. Zhang C.-Z. Schumacher S.E. Beroukhim R. Rosenberg M. Thomas R. Mauceli E. Getz G. Palma F. Di Modiano J.F. Breen M. Lindblad-Toh K. Alföldi J. Ingegerd Elvers, Jason Turner-Maier, Ross Swofford, Michele Koltookian, Jeremy Johnson, Chip Stewart, Cheng-Zhong Zhang, Steven E Schumacher, Rameen Beroukhim, Mara Rosenberg, Rachael Thomas, Evan Mauceli, Gad

- Getz, Fede, Kerstin Lindblad-Toh J.A.A. et al (2015) Exome sequencing of lymphomas from three dog breeds reveals somatic mutation patterns reflecting genetic background. *Genome Research*, 25: 1634–45.
9. Villamil J.A. Henry C.J. Hahn A.W. Bryan J.N. Tyler J.W. & Caldwell C.W. (2009) Hormonal and Sex Impact on the Epidemiology of Canine Lymphoma. *Journal of Cancer Epidemiology*, 2009: 1–7.
 10. Edwards D.S. Henley W.E. Harding E.F. Dobson J.M. & Wood J.L.N. (2003) Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 1: 200–206.
 11. Gavazza A. Presciuttini S. Barale R. Lubas G. & Gugliucci B. (2001) Association between canine malignant lymphoma, living in industrial areas, and use of chemicals by dog owners. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15: 190–95.
 12. Zandvliet M. (2016) Canine lymphoma: a review. *Veterinary Quarterly*, 36: 76–104.
 13. Teske E. (1994) Canine malignant lymphoma: a review and comparison with human non-Hodgkin's lymphoma. *The Veterinary quarterly*, 16: 209–19.
 14. Priester W.A. (1967) Canine lymphoma: Relative risk in the boxer breed. *Journal of the National Cancer Institute*, 39: 833–45.
 15. Greenlee P.G. Filippa D.A. Quimby F.W. Patnaik A.K. Calvano S.E. Matus R.E. Kimmel M. Hurvitz A.I. & Lieberman P.H. (1990) Lymphomas in dogs a morphologic, immunologic, and clinical study. *Cancer*, 66: 480–90.
 16. Merlo D.F. Rossi L. Pellegrino C. Ceppi M. Cardellino U. Capurro C. Ratto A. Sambucco P.L. Sestito V. Tanara G. & Bocchini V. (2008) Cancer Incidence in Pet Dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. 976–84.
 17. Ulvé R. Rault M. Bahin M. Lagoutte L. Abadie J. De Brito C. Coindre J.M. Botherel N. Rousseau A. Wucher V. Cadieu E. Thieblemont C. Hitte C. Cornevin L. Cabillic F. Bachelot L. Gilot D. Hennuy B. Guillaudeux T. et al (2017) Discovery of human-similar gene fusions in canine cancers. *Cancer Research*, 77: 5721–27.
 18. Mudaliar M.A. V Haggart R.D. Miele G. Sellar G. Tan K.A.L. Goodlad J.R. Milne E. Vail D.M. Kurzman I. Crowther D. & Argyle D.J. (2013) Comparative Gene Expression Profiling Identifies Common Molecular Signatures of NF- κ B

- Activation in Canine and Human Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL). 8.
19. Thamm D.H. Grunerud K.K. Rose B.J. Vail D.M. & Bailey S.M. (2013) DNA Repair Deficiency as a Susceptibility Marker for Spontaneous Lymphoma in Golden Retriever Dogs: A Case-Control Study. *PLoS ONE*, 8: 1–8.
 20. Thomas R. Seiser E.L. Motsinger-Reif A. Borst L. Valli V.E. Kelley K. Suter S.E. Argyle D. Burgess K. Bell J. Lindblad-Toh K. Modiano J.F. & Breen M. (2011) Refining tumor-associated aneuploidy through “genomic recoding” of recurrent DNA copy number aberrations in 150 canine non-Hodgkin lymphomas. *Leukemia and Lymphoma*, 52: 1321–35.
 21. Breen M. & Modiano J.F. (2008) Evolutionarily conserved cytogenetic changes in hematological malignancies of dogs and humans - Man and his best friend share more than companionship. *Chromosome Research*, 16: 145–54.
 22. Milman G. Smith K.C. & Erles K. (2011) Serological detection of Epstein-Barr virus infection in dogs and cats. *Veterinary Microbiology*, 150: 15–20.
 23. Farinha P. & Gascoyne R.D. (2005) *Helicobacter pylori* and MALT lymphoma. *Gastroenterology*, 128: 1579–1605.
 24. Rossi G. Rossi M. Vitali C.G. Fortuna D. Burrioni D. Pancotto L. Capecchi S. Sozzi S. Renzoni G. Braca G. Del Giudice G. Rappuoli R. Ghiara P. & Taccini E. (1999) A conventional beagle dog model for acute and chronic infection with *Helicobacter pylori*. *Infection and Immunity*, 67: 3112–20.
 25. Henriques J. Felisberto R. Almeida B. Ramos J. Constantino-Casas F. Dobson J. Matos R. Santos A. de Sousa R. & Alves M. (2021) Canine lymphoma and vector-borne diseases: Molecular and serological evaluation of a possible complicity. *Veterinary and Comparative Oncology*, 19: 183–90.
 26. Takashima-Uebelhoer B.B. Barber L.G. Zagarins S.E. Procter-Gray E. Gollenberg A.L. Moore A.S. & Bertone-Johnson E.R. (2012) Household chemical exposures and the risk of canine malignant lymphoma, a model for human non-Hodgkin’s lymphoma. *Environmental Research*, 112: 171–76.
 27. Ruple A. Avery A.C. & Morley P.S. (2017) Differences in the geographic distribution of lymphoma subtypes in Golden retrievers in the USA. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15: 1590–97.
 28. Pastor M. Marchal T. Keck G. Magnol J.P. & Ponce F. (2009) Genetic and

- Environmental Risk Indicators in Canine Non-Hodgkin's Lymphomas: Breed Associations and Geographic Distribution of 608 Cases Diagnosed throughout France over 1 Year. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 301–10.
29. Marconato L. Leo C. Girelli R. Salvi S. Abramo F. Bettini G. Comazzi S. Nardi P. Albanese F. & Zini E. (2009) Association between Waste Management and Cancer in Companion Animals. 564–69.
 30. Hayes H.M. Tarone R.E. Cantor K.P. Jessen C.R. McCurnin D.M. & Richardson R.C. (1991) Case-Control Study of Canine Malignant Lymphoma: Positive Association With Dog Owner's Use of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Herbicides. *Journal of the National Cancer Institute*, 1226–31.
 31. Reynolds P.M. Reif J.S. Ramsdell H.S. & Tessari J.D. (1994) Canine Exposure to Herbicide-Treated Lawns and Urinary Excretion of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 3: 233–37.
 32. Carlo G.L. Cole P. Miller A.B. Munro I.C. Solomon K.R. & Squire R.A. (1992) Review of a study reporting an association between 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and canine malignant lymphoma: Report of an expert panel. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 16: 245–52.
 33. Garabrant D.H. & Philbert M.A. (2002) *Epidemiology and Toxicology. Metabolism Clinical And Experimental*, 32: 233–57.
 34. Pinello K.C. Santos M. Leite-Martins L. Niza-Ribeiro J. & de Matos A.J. (2017) Immunocytochemical study of canine lymphomas and its correlation with exposure to tobacco smoke. *Veterinary World*, 10: 1307–13.
 35. Schmiedt C.W. Grimes J.A. Holzman J.F. & McAnulty J.F. (2009) Incidence and risk factors for development of malignant neoplasia after feline renal transplantation and cyclosporine-based immunosuppression. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7: 45–53.
 36. Blackwood L. German A.J. Stell A.J. & O'Neill T. (2004) Multicentric lymphoma in a dog after cyclosporine therapy. *Journal of Small Animal Practice*, 45: 259–62.
 37. Aronson L.R. (2016) Update on the Current Status of Kidney Transplantation for Chronic Kidney Disease in Animals. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 46: 1193–1218.

38. Keller E.T. (1992) Immune-mediated disease as a risk factor for canine lymphoma. *Cancer*, 70: 2334–37.
39. Foster A.P. Sturgess C.P. Gould D.J. Iwasaki T. & Day M.J. (2000) Pemphigus foliaceus in association with systemic lupus erythematosus, and subsequent lymphoma in a cocker spaniel. *Journal of Small Animal Practice*, 41: 266–70.
40. Santoro D. Marsella R. & Hernandez J. (2007) Investigation on the association between atopic dermatitis and the development of mycosis fungoides in dogs: A retrospective case-control study. *Veterinary Dermatology*, 18: 101–6.
41. Vail D.M. Thamm D.H. & Liptak J.M. (2019) Hematopoietic Tumors. In Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, pp. 688–772.
42. Ettinger S.J. & Feldman E.C. Hematopoietic Tumors, Textbook of Veterinary Internal Medicine DISEASES OF THE DOG AND THE CAT EIGHTH EDITION. In eighth edi, pp. 5000–5016.
43. Coyle K.A. & Steinberg H. (2004) Characterization of lymphocytes in canine gastrointestinal lymphoma. *Veterinary Pathology*, 41: 141–46.
44. Couto K.M. Moore P.F. Zwingenberger A.L. Willcox J.L. & Skorupski K.A. (2018) Clinical characteristics and outcome in dogs with small cell T-cell intestinal lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16: 337–43.
45. Ozaki K. Yamagami T. Nomura K. & Narama I. (2006) T-cell lymphoma with eosinophilic infiltration involving the intestinal tract in 11 dogs. *Veterinary Pathology*, 43: 339–44.
46. Day M.J. (1997) Review of thymic pathology in 30 cats and 36 dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 38: 393–403.
47. Fournel-Fleury C. Ponce F. Felman P. Blavier A. Bonnefont C. Chabanne L. Marchal T. Cadore J.L. Goy-Thollot I. Ledieu D. Ghernati I. & Magnol J.P. (2002) Canine T-cell Lymphomas: A Morphological, Immunological, and Clinical Study of 46 New Cases. *Veterinary Pathology*, 39: 92–109.
48. Fictum P. Skoric M. Segesova K. & Borska P. (2009) Epitheliotropic cutaneous lymphoma (mycosis fungoides) with formation of nodal and distant metastases in a dog: A case report. *Veterinarni Medicina*, 54: 387–92.
49. Moore P.F. Affolter V.K. & Keller S.M. (2013) Canine inflamed nonepitheliotropic cutaneous T-cell lymphoma: A diagnostic conundrum.

- Veterinary Dermatology, 24.
50. Fontaine J. Heimann M. & Day M.J. (2010) Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: A review of 30 cases. *Veterinary Dermatology*, 21: 267–75.
 51. Vail D.M. Tumours of the haemopoietic system, *BSAVA Small Animal Oncology* 3th edition pp. 292–310.
 52. Sayag D. Fournel-Fleury C. & Ponce F. (2018) Prognostic significance of morphotypes in canine lymphomas: A systematic review of literature. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16: 12–19.
 53. Seelig D.M. Avery A.C. Ehrhart E.J. & Linden M.A. (2016) The comparative diagnostic features of canine and human lymphoma. *Veterinary Sciences*, 3.
 54. Valli V.E. Kass P.H. Myint M.S. & Scott F. (2013) Canine Lymphomas: Association of Classification Type, Disease Stage, Tumor Subtype, Mitotic Rate, and Treatment With Survival. *Veterinary Pathology*, 50: 738–48.
 55. Ponce F. Marchal T. Magnol J.P. Turinelli V. Ledieu D. Bonnefont C. Pastor M. Delignette M.L. & Fournel-Fleury C. (2010) A morphological study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between canine and human lymphoma morphology. *Veterinary Pathology*, 47: 414–33.
 56. Caniatti M. & Marconato L. (2011) Splenic Marginal Zone Lymphoma in 5 Dogs. 90–93.
 57. Burkhard M.J. & Bienzle D. (2013) Making Sense of Lymphoma Diagnostics in Small Animal Patients. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 43: 1331–47.
 58. Valli V.E. Vernau W. De Lorimier L.P. Graham P.S. & Moore P.F. (2006) Canine indolent nodular lymphoma. *Veterinary Pathology*, 43: 241–56.
 59. Flood-Knapik K.E. Durham A.C. Gregor T.P. Sánchez M.D. Durney M.E. & Sorenmo K.U. (2013) Clinical, histopathological and immunohistochemical characterization of canine indolent lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 11: 272–86.
 60. Barber L.G. & Weishaar K.M. (2016) Criteria for designation of clinical substage in canine lymphoma: a survey of veterinary oncologists. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14: 32–39.

61. Moore A.S. (2016) Treatment of T cell lymphoma in dogs. *Veterinary Record*, 179: 277–81.
62. Vail D.M. Thamm D.H. & Liptak J.M. (2019) Paraneoplastic Syndromes. In *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, pp. 98–104.
63. Kubota A. Kano R. Mizuno T. Hisasue M. Moore P.F. Watari T. Tsujimoto H. & Hasegawa A. (2002) Parathyroid hormone-related protein (PTHrP) produced by dog lymphoma cells. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64: 835–37.
64. Blackwood L. Sullivan M. & Lawson H. (1997) Radiographic abnormalities in canine multicentric lymphoma: A review of 84 cases. *Journal of Small Animal Practice*, 38: 62–69.
65. David J. Argyle, Malcolm J. Brearley & M.M.T. (2008) CANINE LYMPHOMA AND LEUKEMIA, *Decision Making in Small Animal Oncology* pp. 171–83.
66. Regan R.C. Kaplan M.S.W. & Bailey D.B. (2013) Diagnostic evaluation and treatment recommendations for dogs with substage-a high-grade multicentric lymphoma: Results of a survey of veterinarians. *Veterinary and Comparative Oncology*, 11: 287–95.
67. Wiggans K.T. Skorupski K.A. Reilly C.M. Frazier S.A. Dubielzig R.R. & Maggs D.J. (2014) Presumed solitary intraocular or conjunctival lymphoma in dogs and cats: 9 cases (1985-2013). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 244: 460–70.
68. Grindem C.B. Breitschwerdt E.B. Corbett W.T. Page R.L. & Jans H.E. (1994) Thrombocytopenia Associated With Neoplasia in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 8: 400–405.
69. MacEwen E.G. & Hurvitz A.I. (1977) Diagnosis and management of monoclonal gammopathies. *The Veterinary clinics of North America*, 7: 119–32.
70. Martineau M.M.C. (2002) Multicenter canine lymphoma in a 12-year-old keeshond: Chemotherapy options. *The Canadian Veterinary Journal la Revue Veterinaire Canadienne*, 43: 709–11.
71. Kliczkowska-Klarowicz K. Jagielski D. Czopowicz M. & Sapiernyński R.A. (2021) Demographic and clinical characteristics of dogs with centroblastic lymphoma. *International Journal of One Health*, 14: 49–55.
72. Bryan J.N. (2016) The current state of clinical application of serum biomarkers

- for canine lymphoma. *Frontiers in Veterinary Science*, 3: 1–5.
73. Ku C.K. Kass P.H. & Christopher M.M. (2017) Cytologic–histologic concordance in the diagnosis of neoplasia in canine and feline lymph nodes: a retrospective study of 367 cases. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15: 1206–17.
 74. Sapieryński R. Kliczkowska-Klarowicz K. Jankowska U. & Jagielski D. (2016) Cytodiagnosics of canine lymphomas - Possibilities and limitations. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19: 433–39.
 75. YOUNG K.R.F.A.K.M. (2020) *Diagnostic Cytopathology in Clinical Oncology* pp. 126–36.
 76. Dickinson R.M. (2008) Canine lymphosarcoma: Overcoming diagnostic obstacles and introduction to the latest diagnostic techniques. *Canadian Veterinary Journal*, 49: 305–8.
 77. Withrow S.J. (1998) Biopsy principles. *Veterinary Quarterly*, 20: S14–15.
 78. Fisher D.J. Naydan D. Werner L.L. & Moore P.F. (1995) Immunophenotyping Lymphomas in Dogs: A Comparison of Results From Fine Needle Aspirate and Needle Biopsy Samples. *Veterinary Clinical Pathology*, 24: 118–23.
 79. Wilkerson M.J. Dolce K. Koopman T. Shuman W. Chun R. Garrett L. Barber L. & Avery A. (2005) Lineage differentiation of canine lymphoma/leukemias and aberrant expression of CD molecules. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 106: 179–96.
 80. Gibson D. Aubert I. Woods J.P. Abrams-Ogg A. Kruth S. Wood R.D. & Bienzle D. (2004) Flow cytometric immunophenotype of canine lymph node aspirates. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18: 710–17.
 81. Comazzi S. & Gelain M.E. (2011) Use of flow cytometric immunophenotyping to refine the cytological diagnosis of canine lymphoma. *Veterinary Journal*, 188: 149–55.
 82. Gelain M.E. Mazzilli M. Riondato F. Marconato L. & Comazzi S. (2008) Aberrant phenotypes and quantitative antigen expression in different subtypes of canine lymphoma by flow cytometry. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 121: 179–88.
 83. Sato M. Yamazaki J. Goto-Koshino Y. Takahashi M. Fujino Y. Ohno K. &

- Tsujimoto H. (2011) Increase in Minimal Residual Disease in Peripheral Blood before Clinical Relapse in Dogs with Lymphoma that Achieved Complete Remission after Chemotherapy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25: 292–96.
84. Waugh E.M. Gallagher A. Haining H. Johnston P.E.J. Marchesi F. Jarrett R.F. & Morris J.S. (2016) Optimisation and validation of a PCR for antigen receptor rearrangement (PARR) assay to detect clonality in canine lymphoid malignancies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 182: 115–24.
85. Takanosu M. & Kagawa Y. (2015) Comparison of primer sets for T-cell clonality testing in canine intestinal lymphoma. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 27: 645–50.
86. Langner K.F.A. Joetzke A.E. Nerschbach V. Eberle N. Schubert H.J. Koy M. Nolte I. & Betz D. (2014) Detection of clonal antigen receptor gene rearrangement in dogs with lymphoma by real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis. *BMC Veterinary Research*, 10.
87. Keller S.M. Vernau W. & Moore P.F. (2016) Clonality Testing in Veterinary Medicine: A Review With Diagnostic Guidelines. *Veterinary Pathology*, 53: 711–25.
88. Avery A. (2009) Molecular Diagnostics of Hematologic Malignancies. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24: 144–50.
89. Flory A.B. Rassnick K.M. Stokol T. Scrivani P. V. & Erb H.N. (2007) Stage migration in dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21: 1041–47.
90. Raskin R.E. & Krehbiel J.D. (1989) Prevalence of leukemic blood and bone marrow in dogs with multicentric lymphoma. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 194: 1427–29.
91. Aresu L. Aricò A. Ferraresso S. Martini V. Comazzi S. Riondato F. Giantin M. Dacasto M. Guadagnin E. Frayssinet P. Rouquet N. Drigo M. & Marconato L. (2014) Minimal residual disease detection by flow cytometry and PARR in lymph node, peripheral blood and bone marrow, following treatment of dogs with diffuse large B-cell lymphoma. *Veterinary Journal*, 200: 318–24.
92. Vail D.M. Michels G.M. Khanna C. Selting K.A. & London C.A. (2018)

- Response evaluation criteria for peripheral nodal lymphoma in dogs (v1.0)-a veterinary cooperative oncology group (VCOG) consensus document. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8: 28–37.
93. Graff E.C. Spangler E.A. Smith A. Denhere M. & Brauss M. (2014) Hematologic findings predictive of bone marrow disease in dogs with multicentric large-cell lymphoma. *Veterinary Clinical Pathology*, 43: 505–12.
 94. Nyman H.T. Nielsen O.L. McEvoy F.J. Lee M.H. Martinussen T. Hellmén E. & Kristensen A.T. (2006) Comparison of B-mode and Doppler ultrasonographic findings with histologic features of benign and malignant mammary tumors in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 67: 985–91.
 95. Jones I.D. Daniels A.D. Lara-Garcia A. Peters L.M. & Mantis P. (2017) Computed tomographic findings in 12 cases of canine multi-centric lymphoma with splenic and hepatic involvement. *Journal of Small Animal Practice*, 58: 622–28.
 96. Geyer N.E. Reichle J.K. Valdés-Martínez A. Williams J. Goggin J.M. Leach L. Hanson J. Hill S. & Axaam T. (2010) Radiographic appearance of confirmed pulmonary lymphoma in cats and dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 51: 386–90.
 97. Lawrence J. Vanderhoek M. Barbee D. Jeraj R. Tumas D.B. & Vail D.M. (2009) Use of 3'-Deoxy-3'-[18F]fluorothymidine PET/CT for evaluating response to cytotoxic chemotherapy in dogs with non-hodgkin's lymphoma. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 50: 660–68.
 98. LeBlanc A.K. Jakoby B.W. Townsend D.W. & Daniel G.B. (2009) 18FDG-PET imaging in canine lymphoma and cutaneous mast cell tumor. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 50: 215–23.
 99. Mealey K.L. (2004) Therapeutic implications of the MDR-1 gene. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27: 257–64.
 100. Gramer I. Kessler M. & Geyer J. (2015) Determination of MDR1 gene expression for prediction of chemotherapy tolerance and treatment outcome in dogs with lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 13: 363–72.
 101. Huber P.C. Maruiama C.H. & Almeida W.P. (2010) Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. *Química*

- Nova, 33: 2148–54.
102. Elliott J.W. Cripps P. Marrington A.M. Grant I.A. & Blackwood L. (2013) Epirubicin as part of a multi-agent chemotherapy protocol for canine lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 11: 185–98.
 103. Ettinger S.N. (2003) Principles of treatment for canine lymphoma. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18: 92–97.
 104. Gauthier M.J. Aubert I. Abrams-Ogg A. Woods J.P. & Bienzle D. (2005) The immunophenotype of peripheral blood lymphocytes in clinically healthy dogs and dogs with lymphoma in remission. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19: 193–99.
 105. Bailey D.L.G. and D.B. (2019) Cancer Chemotherapy. In Withrow and MacEwen's *Small Animal Clinical Oncology*, pp. 182–200.
 106. Zenker I. Meichner K. Steinle K. Kessler M. & Hirschberger J. (2010) Thirteen-week dose-intensifying simultaneous combination chemotherapy protocol for malignant lymphoma in dogs. *Veterinary Record*, 167: 744–48.
 107. Hosoya K. Kisseberth W.C. Lord L.K. Alvarez F.J. Lara-Garcia A. Kosarek C.E. London C.A. & Couto C.G. (2007) Comparison of COAP and UW-19 protocols for dogs with multicentric lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21: 1355–63.
 108. Morrison-Collister K.E. Rassnick K.M. Northrup N.C. Kristal O. Chretien J.D. Williams L.E. Cotter S.M. & Moore A.S. (2003) A combination chemotherapy protocol with MOPP and CCNU consolidation (Tufts VELCAP-SC) for the treatment of canine lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 1: 180–90.
 109. Thamm D.H. Vail D.M. Post G.S. Fan T.M. Phillips B.S. Axiak-Bechtel S. Elmslie R.S. Klein M.K. & Ruslander D.A. (2017) Alternating Rabacfosadine/Doxorubicin: Efficacy and Tolerability in Naïve Canine Multicentric Lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31: 872–78.
 110. Wolf-Ringwall A. Lopez L. Elmslie R. Fowler B. Lori J. Sfiligoi G. Skope A. Arnold E. Hughes K.L. Thamm D.H. Ehrhart E.J. Avery A.C. & Lana S.E. (2020) Prospective evaluation of flow cytometric characteristics, histopathologic diagnosis and clinical outcome in dogs with naïve B-cell lymphoma treated with

- a 19-week CHOP protocol. *Veterinary and Comparative Oncology*, 18: 342–52.
111. Curran K. & Thamm D.H. (2015) Retrospective analysis for treatment of naïve canine multicentric lymphoma with a 15-week, maintenance-free CHOP protocol. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14: 147–55.
 112. Lautscham E.M. Kessler M. Ernst T. Willimzig L. & Neiger R. (2017) Comparison of a CHOP-LAsp-based protocol with and without maintenance for canine multicentric lymphoma. *Veterinary Record*, 180: 303.
 113. Burton J.H. Garrett-Mayer E. & Thamm D.H. (2012) Evaluation of a 15-week CHOP protocol for the treatment of canine multicentric lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 11: 306–15.
 114. Garrett L.D. Thamm D.H. Chun R. Dudley R. & Vail D.M. (2002) Maintenance Therapy for Dogs with Lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16: 704–9.
 115. Macdonald V.S. Thamm D.H. Kurzman I.D. Turek M.M. & Vail D.M. (2005) Does L-Asparaginase Influence Efficacy or Toxicity When Added to a Standard CHOP Protocol for Dogs with Lymphoma? *Survival*, 732–36.
 116. Couto C.G. (2019) Oncology, small animal internal medicine. In *Angewandte Chemie International Edition*, pp. 1269–1310.
 117. Carolyn J. Henry M.L.H. (2010) Chemotherapy, Cancer management in small animal practice pp. 116–24.
 118. Simon D. Moreno S.N. Hirschberger J. Moritz A. Kohn B. Neumann S. Jurina K. Scharvogel S. Schwedes C. Reinacher M. Beyerbach M. & Nolte I. (2008) Efficacy of a continuous, multiagent chemotherapeutic protocol versus a short-term single-agent protocol in dogs with lymphoma. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232: 879–85.
 119. De Clercq E. (2018) Tanovea® for the treatment of lymphoma in dogs. *Biochemical Pharmacology*, 154: 265–69.
 120. Saba C.F. Vickery K.R. Clifford C.A. Burgess K.E. Phillips B. Vail D.M. Wright Z.M. Morges M.A. Fan T.M. & Thamm D.H. (2018) Rabacfosadine for relapsed canine B-cell lymphoma: Efficacy and adverse event profiles of 2 different doses. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16: E76–82.
 121. Brown P.M. Tzannes S. Nguyen S. White J. & Langova V. (2018) LOPP

- chemotherapy as a first-line treatment for dogs with T-cell lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16: 108–13.
122. Brodsky E.M. Maudlin G.N. Lachowicz J.L. & Post G.S. (2009) Asparaginase and MOPP Treatment of Dogs with Lymphoma. 578–84.
 123. Rebhun R.B. Kent M.S. Borroffka S.A.E.B. Frazier S. Skorupski K. & Rodriguez C.O. (2011) CHOP chemotherapy for the treatment of canine multicentric T-cell lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 9: 38–44.
 124. Goodman I.H. Moore A.S. & Frimberger A.E. (2016) Treatment of canine non-indolent T cell lymphoma using the VELCAP-TSC protocol: A retrospective evaluation of 70 dogs (2003-2013). *Veterinary Journal*, 211: 39–44.
 125. Selting K.A. Ringold R. Husbands B. & Pithua P.O. (2016) Thymidine Kinase Type 1 and C-Reactive Protein Concentrations in Dogs with Spontaneously Occurring Cancer. *Journal of veterinary internal medicine*, 30: 1159–66.
 126. Alexandrakis I. Tuli R. Ractliffe S.C. Tappin S.W. Foale R.D. Roos A. & Slater K.J. (2017) Utility of a multiple serum biomarker test to monitor remission status and relapse in dogs with lymphoma undergoing treatment with chemotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15: 6–17.
 127. Zandvliet M. Teske E. Schrickx J.A. & Mol J.A. (2015) A longitudinal study of ABC transporter expression in canine multicentric lymphoma. *Veterinary Journal*, 205: 263–71.
 128. Tomiyasu H. & Tsujimoto H. (2015) Comparative aspects of molecular mechanisms of drug resistance through ABC transporters and other related molecules in canine lymphoma. *Veterinary Sciences*, 2: 185–205.
 129. Parsons-Doherty M. Poirier V.J. & Monteith G. (2014) The efficacy and adverse event profile of dexamethasone, melphalan, actinomycin D, and cytosine arabinoside (DMAC) chemotherapy in relapsed canine lymphoma. *Canadian Veterinary Journal*, 55: 175–80.
 130. Weiskopf K. Anderson K.L. Ito D. Schnorr P.J. Tomiyasu H. Ring A.M. Bloink K. Efe J. Rue S. Lowery D. Barkal A. Prohaska S. McKenna K.M. Cornax I. O'Brien T.D. O'Sullivan M.G. Weissman I.L. & Modiano J.F. (2016) Eradication of canine diffuse large B-cell lymphoma in a murine xenograft model with CD47 blockade and anti-CD20. *Cancer Immunology Research*, 4: 1072–87.

131. Rue S.M. Eckelman B.P. Efe J.A. Bloink K. Deveraux Q.L. Lowery D. & Nasoff M. (2015) Identification of a candidate therapeutic antibody for treatment of canine B-cell lymphoma. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 164: 148–59.
132. Impellizeri J.A. Howell K. McKeever K.P. & Crow S.E. (2006) The role of rituximab in the treatment of canine lymphoma: An ex vivo evaluation. *Veterinary Journal*, 171: 556–58.
133. Marconato L. Aresu L. Stefanello D. Comazzi S. Martini V. Ferrari R. Riondato F. Rouquet N. Frayssinet P. & Sabbatini S. (2019) Opportunities and challenges of active immunotherapy in dogs with B-cell lymphoma: A 5-year experience in two veterinary oncology centers. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 7: 1–9.
134. van Stee LL, Boston SE S.A. (2016) Outcome and prognostic factors for canine splenic lymphoma treated by splenectomy. *Advances in Small Animal Medicine and Surgery*, 29: 7–8.
135. D. Stefanello, P. Valenti, E. Zini, S. Comazzi, M.E. Gelain, P. Roccabianca G.A. & M. Caniatti and L.M. (2010) Splenic Marginal Zone Lymphoma in 5 Dogs (2001 –2008). 90–93.
136. Rao S. Lana S. Eickhoff J. Marcus E. Avery P.R. Morley P.S. & Avery A.C. (2011) Class II Major Histocompatibility Complex Expression and Cell Size Independently Predict Survival in Canine B-Cell Lymphoma. 1097–1105.
137. Jagielski D. Lechowski R. Hoffmann-Jagielska M. & Winiarczyk S. (2002) A retrospective study of the incidence and prognostic factors of multicentric lymphoma in dogs (1998-2000). *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, 49: 419–24.
138. Keller E.T. MacEwen E.G. Rosenthal R.C. Helfand S.C. & Fox L.E. (1993) Evaluation of Prognostic Factors and Sequential Combination Chemotherapy With Doxorubicin for Canine Lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 7: 289–95.
139. Rosenberg M.P. Matus R.E. & Patnaik A.K. (1991) Prognostic Factors in Dogs with Lymphoma and Associated Hypercalcemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 5: 268–71.
140. Marconato L. Stefanello D. D P. Valenti P. Bonfanti U. Comazzi S. Roccabianca

- P. Caniatti M. Romanelli G. Massari F. & Zini E. (2011) Predictors of long-term survival in dogs with high-grade multicentric lymphoma. *238*: 2–7.
141. Starrak G.S. Berry C.R. Page R.L. Johnson J.L. & Thrall D.E. (1997) Correlation between thoracic radiographic changes and remission/survival duration in 270 dogs with lymphosarcoma. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 38: 411–18.
 142. Affolter V.K. Gross T.L. & Moore P.F. (2009) Indolent cutaneous T-cell lymphoma presenting as cutaneous lymphocytosis in dogs. *Veterinary Dermatology*, 20: 577–85.
 143. Gentilini F. Calzolari C. Turba M.E. Agnoli C. Fava D. Forni M. & Bergamini P.F. (2005) Prognostic value of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and plasma activity of matrix metalloproteinase (MMP) 2 and 9 in lymphoma-affected dogs. *Leukemia Research*, 29: 1263–69.
 144. Kaiser C.I. Fidel J.L. Roos M. & Kaser-Hotz B. (2007) Reevaluation of the University of Wisconsin 2-year protocol for treating canine lymphosarcoma. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 43: 85–92.
 145. Miller A.G. Morley P.S. Rao S. Avery A.C. Lana S.E. & Olver C.S. (2009) Anemia is associated with decreased survival time in dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23: 116–22.
 146. Price G.S. Page R.L. Fischer B.M. Levine J.F. & Gerig T.M. (1991) Efficacy and Toxicity of Doxorubicin/Cyclophosphamide Maintenance Therapy in Dogs with Multicentric Lymphosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 5: 259–62.
 147. Boerkamp K.M. Teske E. Boon L.R. Grinwis G.C.M. van den Bossche L. & Rutteman G.R. (2014) Estimated incidence rate and distribution of tumours in 4,653 cases of archival submissions derived from the Dutch golden retriever population. *BMC Veterinary Research*, 10: 1–10.
 148. Tasca S. Carli E. Caldin M. Menegazzo L. Furlanello T. & Gallego L.S. (2009) Hematologic abnormalities and flow cytometric immunophenotyping results in dogs with hematopoietic neoplasia: 210 cases (2002–2006). *Veterinary Clinical Pathology*, 38: 2–12.
 149. Crabtree A.C. Spangler E. Beard D. & Smith A. (2010) Diagnostic accuracy of gray-scale ultrasonography for the detection of hepatic and splenic lymphoma in dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 51: 661–64.

Anexo 2- Protocolo quimioterápico CHOP de 19 semanas utilizado no Boss.



Folha Terapêutica

Paciente: Boss Couto Diagnóstico: Linfoma B células grandes Estadio: V

Medicação Protetora: Para fazer até ao fim do protocolo (19 Semanas):
 NOTA: No Endoxan, a dose total deve ser repartida em tomas iguais durante 2 dias consecutivos. Nas semanas 5, 10, 15 e 20 não faz medicação nenhuma exceto a acima indicada.

Esquema Terapêutico

Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
DOXORRUBICINA (30 mg/m ² >10 Kg ou 1 mg/kg <10kg)				X					X					X					X		Re-estadia mento
VINCISTINA (0,5mg/m ²)	X		X			X		X			X		X			X		X			
ENDOXAN (200mg/m ² , PO)		X					X					X					X				
Prednicortone mg	P1	P2	P3	P4																	P5
Painel Quimioterapia			X	X				X		X			X		X				X		X
Hemograma				X				X					X		X						X
	DATA																				

Prednicortone

P5 Análises+ eco abdominal+ consulta
 P1 1 mg/kg BID
 P2 0,5 mg/kg/BID
 P3 0,25 mg/kg BID
 P4 0,25 mg/kg sid

Nota: Sempre que se realizar Doxorubicina deverá ser realizada ecocardiografia antes de iniciar terapêutica.

Anexo 3- Risultado da análise de citometria de fluxo.

 <p>UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO</p>	<p>Struttura Didattica Speciale Veterinaria Ospedale Veterinario Universitario</p> <p>LARGO P. BRACCINI, 2-5 10095 GRUGLIASCO Cod. fisc. 80088230018 - P. IVA 02099550010 Telefono (+39)011.6709157, fax (+39)011.6709165</p> <p>Direttore della SDSV: Prof. Bruno Peirone Direttore Sanitario: Prof. ssa Ada Rota</p>	 	
<p>IMMUNOFENOTIPIZZAZIONE LEUCOCITARIA</p>			
Analisi:	269340	Caso:	111111
Data:	10-02-2021		
Proprietario:			
Specie:	CANE	Razza:	PASTORE TEDESCO
Sesso:	M	Età:	7
		Nome animale:	BOSS
Veterinario:	ONEVET GROUP SA		
Campione:	Linfonodo, Sangue periferico		
<p>Descrizione</p> <p>Date of collection: 08.02.21. Date of analysis: 10.02.21. Lymph node aspirate (left and right popliteal) in RPMI medium, peripheral blood in EDTA. All the samples are adequate for the analysis. Lymph node aspirate is mainly composed (82.9%) by large CD45+CD21+MHCII+hi cells that are CD34- and CD5-. The remaining part of the population is represented by small (7.9%) and large (1.5%) CD5+CD21- or small CD5-CD21+ (5.3%) lymphocytes and events referable to neutrophils (0.5%). Large CD21+ cells in peripheral blood represent 1% of leukocytes.</p>			
<p>Interpretazione</p> <p>Large B-cell lymphoma with peripheral blood involvement (1%)</p>			
<p>Il responsabile Barbara Miniscalco</p> <p><i>BMiniscalco</i></p>			