



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Linfoma Multicêntrico Canino

Raquel Sousa Ruela Cardoso Costa

Orientador(es) | David Orlando Ferreira
Filipa Alexandra Brízido Silva Fernandes

Évora 2023





Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Linfoma Multicêntrico Canino

Raquel Sousa Ruela Cardoso Costa

Orientador(es) | David Orlando Ferreira

Filipa Alexandra Brízido Silva Fernandes

Évora 2023



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 | Andreia Alexandra Ferreira dos Santos (Universidade do Porto - Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar) (Arguente)
David Orlando Ferreira (Universidade de Évora) (Orientador)

AGRADECIMENTOS

Um obrigada gigante aos meus pais, pelo amor, princípios, valores e garra que me transmitem todos os dias da minha vida mas, em particular, durante estes anos. As palavras nunca serão suficientes e jamais farão jus ao quanto vos estou eternamente grata por me terem proporcionado este caminho, não só sem nunca me faltar nada, como a ter sempre mais do que alguma vez poderia idealizar.

À minha pequena flor, por ser a melhor irmã do mundo e a mais velha quando é preciso. As palavras também são poucas para a grandeza e imensidão do teu ser.

À minha restante família e aos amigos que andaram sempre de mão dada comigo, desde o início. Vocês sabem quem são, obrigada por tudo o que me proporcionam.

Aos que Évora me deu, por terem sido casa quando estava longe da minha. Saíram-me os melhores na rifa, para construir todo este trilha comigo. E que caminhada foi. E a que continuará a ser. Obrigada pelas infinitas memórias com cada um de vocês, foram só o início de uma bela coleção. Que, Carolina, contigo dava um livro, obrigada pela partilha de teto mais especial e que jamais esquecerei. À minha bonita família dos Fixes e a vocês, Sara, Ricardo, Deci, levo-vos para a vida. A ti Marco, pelo companheirismo de tantos anos, pela história, por uma jornada inesquecível, pela família do coração e por me teres proporcionado o meu sonho, a melhor coisa do mundo, a para sempre nossa, Mar.

Miguel, um obrigada tão peculiar como tu, pela presença, equilíbrio, amparo e pelas ações sempre acima das palavras. És, para sempre, imprescindível.

O obrigada mais especial, esse, vai para os meus companheiros de quatro patas. Os mais leais e que me enchem, todos os dias, de uma verdadeira inspiração e avassaladora vontade de ser sempre melhor no que faço. Há muito poucas coisas melhores que vocês e que conseguir fazer-vos felizes. Podem não saber ler, mas têm direito a agradecimentos todos os dias, sussurrados às suas orelhas mais fofas, entre beijos e abraços. Nico, Naitis, Tufas, Simba, Buga e Mocha, os meus amores maiores para sempre.

À Mar, que se enquadra no parágrafo anterior, mas que merecia um parágrafo exclusivo, por tantas vezes me ter salvo, por ser a minha estabilidade. À minha companheira de estrada, de cabeça sobre o colo nos melhores e piores momentos, a voltar a casa depois de uma festa ou na ansiedade da véspera dos exames, nas idas à praia ou

regressos a casa após dias mais difíceis, nas maiores alegrias e nas maiores perdas. Pelas orelhas de veludo que secaram as lágrimas e lambidelas que arrancaram sorrisos.

Um grande obrigada ao Professor Doutor David Ferreira por ter aceite orientar-me durante este processo, por estar comigo desde o início, pelo exemplo e conversas fundamentais para as linhas que vim a traçar, as mesmas que me permitiram chegar até aqui, pela disponibilidade e sábios conselhos.

À Mariana, pelos últimos meses e tudo o que implicaram, essenciais para que conseguisse chegar, hoje, até aqui.

A toda a equipa do HVC, por me terem acolhido durante seis longos, duros, mas também tão recompensadores, meses. Em especial à Filipa, à Eduarda, à Lúcia e à Mónica, obrigada pela paciência, por me fazerem aprender com os erros para que possa evitá-los, por me deixarem rir, chorar e chorar a rir nos momentos certos, por me mostrarem um bocadinho do que quero ser e por tudo o que aprendi com vocês. Trouxe-vos comigo.

Um último obrigada, mas não menos importante, às estrelinhas Paco e Pipas, pelo privilégio que me deram ao terem passado na minha vida, e ao guerreiro Diamond, com direitos de autor neste trabalho.

RESUMO

O presente relatório surge na sequência do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Évora, realizado no Hospital Veterinário de Coimbra. A primeira parte deste relatório refere-se às atividades desenvolvidas durante os seis meses de estágio, na área da clínica e cirurgia de animais de companhia, incluindo a análise estatística da casuística acompanhada pela autora, continuando numa segunda parte com elaboração de uma revisão bibliográfica com o tema “Linfoma Multicêntrico Canino”. De seguida, é apresentado e discutido um caso clínico com o objetivo de complementar a monografia. A prevalência oncológica em animais de companhia tem aumentado, integrando uma das principais causas de morte em animais idosos e, conseqüentemente, uma das principais preocupações dos tutores. O linfoma é a neoplasia maligna mais vulgarmente diagnosticada em cães e constitui um distúrbio do sistema hematopoiético. O tratamento mais eficiente baseia-se na utilização de protocolos quimioterápicos com múltiplos fármacos.

Palavras chave: Linfoma multicêntrico canino, oncologia, cão, citologia, quimioterapia.

“CANINE MULTICENTRIC LYMPHOMA”

ABSTRACT

This report follows the curricular internship of the Integrated Master’s Degree in Veterinary Medicine of University of Évora, held at Hospital Veterinário de Coimbra. The first part of this report refers to the developed activities during the six months of internship, in small animal practice, including statistical analysis of the caseload followed by the author, proceeding with a second part with the development of a bibliographical review with the theme “Canine Multicentric Lymphoma”. From that point forward, a clinical case is presented and discussed, complementing the monograph. Cancer prevalence in pet animals has been increasing, being one of the main causes of death in older animals and, consequently, one of the main concerns of pet owners. Canine lymphoma is among the most common diagnosed malignancies in dogs and is a disorder of hematopoietic system. The most efficient treatment is based on the use of chemotherapy protocols with multiple drugs.

Key words: Canine multicentric lymphoma, oncology, dog, cytology, chemotherapy.

ÍNDICE GERAL

Resumo	III
Abstract.....	III
Índice geral	IV
Índice de gráficos.....	VIII
Índice de tabelas	VIII
Índice de figuras	X
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos.....	XI
Introdução	- 1 -
I. Relatório de Casuística.....	- 2 -
1. Descrição do local de estágio e atividades desenvolvidas	- 2 -
2. Descrição da casuística	- 3 -
2.1. Distribuição da Casuística por Espécie Animal e Área Clínica.....	- 3 -
2.2. Distribuição Casuística da Clínica Médica	- 4 -
2.2.1. Cardiologia.....	- 6 -
2.2.2. Dermatologia.....	- 7 -
2.2.3. Doenças Infecciosas e Parasitárias.....	- 8 -
2.2.4. Doenças Músculo-esqueléticas	- 9 -
2.2.5. Endocrinologia	- 9 -
2.2.6. Gastroenterologia e Glândulas Anexas	- 10 -
2.2.7. Hematologia	- 11 -
2.2.8. Imunologia e Alergologia	- 12 -
2.2.9. Neurologia.....	- 12 -
2.2.10. Odontostomatologia	- 13 -
2.2.11. Oftalmologia	- 14 -
2.2.12. Oncologia.....	- 15 -

2.2.13.	Otorrinolaringologia.....	- 16 -
2.2.14.	Pneumologia.....	- 16 -
2.2.15.	Reprodução, Ginecologia e Andrologia.....	- 17 -
2.2.16.	Toxicologia	- 17 -
2.2.17.	Urgências	- 18 -
2.2.18.	Urologia e Nefrologia	- 18 -
2.2.19.	Procedimentos Médico-cirúrgicos	- 19 -
2.2.20.	Exames Complementares de Diagnóstico.....	- 20 -
2.3.	Distribuição Casuística da Clínica Cirúrgica	- 21 -
2.3.1.	Cirurgia Geral e Tecidos Moles	- 22 -
2.3.2.	Cirurgia Ortopédica, Traumática e Neurocirurgia	- 23 -
2.4.	Medicina Preventiva	- 23 -
3.	Aquisição e Consolidação de Competências	- 24 -
II.	Monografia: Linfoma Multicêntrico Canino.....	- 25 -
1.	Introdução	- 25 -
2.	Epidemiologia do linfoma canino.....	- 25 -
3.	Etiologia.....	- 26 -
3.1.	Fatores Ambientais	- 26 -
3.2.	Fatores Genéticos e Moleculares	- 27 -
3.3.	Fatores Imunológicos	- 29 -
3.4.	Fatores Infecciosos.....	- 29 -
4.	Sistemas de Classificação	- 30 -
4.1.	Classificação do Linfoma.....	- 31 -
4.1.1.	Classificação Anatômica.....	- 32 -
4.1.2.	Classificação Histopatológica e Imunofenotípica.....	- 33 -
5.	Apresentação Clínica	- 35 -

5.1. Forma Multicêntrica.....	- 35 -
6. Síndromes Paraneoplásicas.....	- 36 -
7. Diagnósticos Diferenciais	- 37 -
8. Diagnóstico	- 38 -
8.1. Exame Físico.....	- 40 -
8.2. Hematologia, Análise Bioquímica e Urinálise.....	- 41 -
8.3. Avaliação Citológica.....	- 43 -
8.4. Avaliação Histopatológica	- 46 -
8.5. Imagiologia	- 47 -
8.6. Técnicas de Diagnóstico Molecular.....	- 50 -
8.6.1. Imunofenotipagem	- 51 -
8.6.2. Citometria de Fluxo	- 52 -
8.6.3. Testes de Clonalidade	- 54 -
9. Estadiamento.....	- 56 -
9.1. Avaliação da Medula Óssea.....	- 57 -
10. Tratamento	- 58 -
10.1. Resistência Farmacológica no Linfoma Canino	- 59 -
10.2. Quimioterapia.....	- 60 -
10.2.1. Protocolos Quimioterápicos de Múltiplos Agentes	- 62 -
12.2.1.1. Protocolos baseados no CHOP	- 63 -
12.2.1.2. Protocolos baseados no COP	- 65 -
10.2.2. Protocolos Quimioterápicos de Agente Único.....	- 66 -
10.2.3. Tratamento do Linfoma T Multicêntrico	- 68 -
10.2.4. Avaliação da Resposta Terapêutica	- 69 -
10.2.5. Protocolos Quimioterápicos de Reindução ou Resgate	- 70 -
10.2.6. Efeitos adversos da quimioterapia	- 71 -

12.2.6.1.	Toxicidade Hematológica	- 72 -
12.2.6.2.	Toxicidade Gastrointestinal	- 73 -
12.2.6.3.	Reações Anafiláticas	- 73 -
12.2.6.4.	Toxicidade Dermatológica	- 74 -
12.2.6.5.	Cardiotoxicidade	- 74 -
12.2.6.6.	Urotoxicidade	- 74 -
12.2.6.7.	Outras Toxicidades	- 74 -
10.3.	Imunoterapia	- 75 -
10.4.	Cirurgia	- 75 -
10.5.	Radioterapia	- 75 -
11.	Fatores de Prognóstico	- 76 -
III.	Caso Clínico	- 79 -
1.	Identificação do paciente	- 79 -
2.	Anamnese e Exame Físico	- 79 -
3.	Problemas e Diagnósticos Diferenciais	- 80 -
4.	Exames Complementares de Diagnóstico.....	- 80 -
5.	Diagnóstico	- 83 -
6.	Tratamento e Evolução Clínica.....	- 83 -
7.	Discussão	- 85 -
8.	Conclusão.....	- 88 -
	Referências Bibliográficas	- 90 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Frequência relativa da casuística distribuída por espécie.	4 -
Gráfico 2 - Frequência relativa da casuística de cada especialidade médica, distribuída por espécie.	6 -

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição da casuística por espécie animal e área clínica.	4 -
Tabela 2 - Distribuição casuística da área de clínica médica, por especialidade e espécie animal.	5 -
Tabela 3 - Distribuição da casuística observada na área da cardiologia.	7 -
Tabela 4 - Distribuição da casuística observada na área da dermatologia.	7 -
Tabela 5 - Distribuição da casuística observada na área das doenças infecciosas e parasitárias.	8 -
Tabela 6 - Distribuição da casuística observada na área das doenças músculo-esqueléticas.	9 -
Tabela 7 - Distribuição da casuística observada na área da endocrinologia.	10 -
Tabela 8 - Distribuição da casuística observada na área da gastroenterologia e glândulas anexas.	11 -
Tabela 9 - Distribuição da casuística observada na área da hematologia.	11 -
Tabela 10 - Distribuição da casuística observada na área da imunologia e alergologia. ...	12 -
Tabela 11 - Distribuição da casuística observada na área da neurologia.	13 -
Tabela 12 - Distribuição da casuística observada na área da odontostomatologia. .-	13 -
Tabela 13 - Distribuição da casuística observada na área da oftalmologia.	14 -
Tabela 14 - Distribuição da casuística observada na área da oncologia.	15 -
Tabela 15 - Distribuição da casuística observada na área da otorrinolaringologia. ...-	16 -
Tabela 16 - Distribuição da casuística observada na área da pneumologia.	16 -
Tabela 17 - Distribuição da casuística observada na área da reprodução, ginecologia e andrologia.	17 -
Tabela 18 - Distribuição da casuística observada na área da toxicologia.	18 -
Tabela 19 - Distribuição da casuística observada na área das urgências.	18 -
Tabela 20 - Distribuição da casuística observada na área da urologia e nefrologia. .-	19 -

Tabela 21 - Distribuição casuística de procedimentos médico-cirúrgicos.	- 20 -
Tabela 22 - Distribuição casuística dos exames complementares de diagnóstico.....	- 21 -
Tabela 23 - Distribuição da casuística da área de clínica cirúrgica, por especialidade e espécie animal.....	- 21 -
Tabela 24 - Distribuição da casuística por técnica cirúrgica e espécie animal, referente à área da cirurgia de tecidos moles.....	- 22 -
Tabela 25 - Distribuição da casuística por técnica cirúrgica e espécie animal, referente à área da cirurgia ortopédica, traumática e neurocirurgia.	- 23 -
Tabela 26 - Distribuição dos procedimentos observados e realizados no contexto da medicina preventiva.....	- 24 -
Tabela 27 – Classificação clínica do linfoma em animais de companhia, segundo a OMS (Adaptado de Vail et al., 2020). ⁴	- 33 -
Tabela 28 - Critérios de malignidade citológica (Adaptado de WSAVA Rebar & Raskin, 2006 – VIN, 2019).....	- 45 -
Tabela 29 - Caracterização da resposta ao tratamento, com base nas normas RECIST (Response Evaluation Criteria for Solid Tumors) - (v1.0), VCOG (Adaptado de Vail et al., 2010) ¹⁵¹	- 61 -
Tabela 30 - Protocolo CHOP, curto de 19 semanas, atualmente utilizado para tratamento de linfoma canino (UW-Madison-19) (Adaptado de Vail et al., 2020) ⁴	- 64 -
Tabela 31 - Toxicidades associadas aos agentes quimioterápicos (Adaptado de Couto et al., 2019) ³⁰	- 72 -
Tabela 32 - Fatores de prognóstico para o linfoma, em cães (Adaptado de Vail et al., 2020) ⁴	- 77 -
Tabela 33 - Hemograma inicial do Diamond, os valores de referência são adaptados do HVC.....	- 80 -
Tabela 34 - Bioquímicas iniciais do Diamond, os valores de referência são adaptados do HVC.....	- 81 -
Tabela 35 - Resultados do exame citológico dos linfonodos poplíteos.....	- 81 -
Tabela 36 - Caracterização Imunocitoquímica do linfoma de células grandes diagnosticado ao Diamond.	- 82 -

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore de decisão diagnóstica: linfoma canino (Adaptado de Turek et al., 2008) ²	- 39 -
Figura 2 - Esquema representativo da técnica de PAAF (Adaptado de Morris & Dobson, 2001) ¹¹⁰	- 44 -
Figura 3 - Diamond (Arquivo pessoal).....	- 79 -
Figura 4 - Secções da TC torácica do Diamond, através das quais se confirmou a maior proeminência dos linfonodos cervicais superficiais (setas vermelhas), axilares (setas roxas), pré-esternais (setas laranja), mediastínicos craniais (setas azuis) e traqueobrônquicos (seta amarela). Imagens gentilmente cedidas pelo HVC.	- 82 -
Figura 5 - Secções da TC abdominal do Diamond, através das quais se observaram os linfonodos hepáticos (setas azuis) e ilíacos mediais (setas vermelhas). Imagens gentilmente cedidas pelo HVC.	- 83 -

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADN - Ácido desoxirribonucleico	EBV - Vírus Epstein-Barr
AgNOR - Regiões organizadoras nucleolares argirofílicas	EU-cLN - <i>European Canine Lymphoma Network</i>
AHIM - Anemia hemolítica imunomediada	FDG - 18F-Fluorodeoxiglicose
ALP - Fosfatase alcalina	Fi - Frequência absoluta da afeção ou procedimento
ALT - Alanina aminotransferase	Fip - Frequência absoluta relativa à espécie animal
ATP - Adenosina trifosfato	FLT - Fluorotimidina F-18
BID - Duas vezes ao dia	Fr (%) - Frequência relativa em percentagem
bpm - Batimentos por minuto	GI - Gastrointestinal
CCNU - Lomustina	HVC - Hospital veterinário de Coimbra
CD - Marcadores antigénios <i>clusters of differentiation</i>	Ig - Imunoglobulina
CF - Citometria de fluxo	IL-1 - Interleucina 1
CHOP - Ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisolona	ILSG - <i>International Lymphoma Study Group</i>
COAP - Ciclofosfamida, vincristina, citosina arabinosídeo e prednisona	IV - Intravenoso
COP - Ciclofosfamida, vincristina e prednisolona	L-CHOP - Ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona e L-asparaginase
DAPP - Dermatite alérgica à picada da pulga	LDCBG - Linfoma difuso de células B grandes
DDx - Diagnósticos diferenciais	LDH - Lactato desidrogenase sérica
DE - Doença estável	LMP - Clorambucil, metotrexato e prednisolona
DMAC - Dexametasona, melfalano, actinomicina D e citosina arabinosídeo	LNH - Linfoma Não Hodgkin
DP - Doença progressiva	LOPP - Lomustina, vincristina, prednisolona e procarbazina
DRC - Doença renal crónica	MALT - Tecido linfóide associado à mucosa
DRM - Doença residual mínima	
DVG - Dilatação volvo-gástrica	

MDR - Resistência a múltiplas drogas

MHC II - Complexo de histocompatibilidade classe II

MOPP - Mecloretamina, vincristina, prednisolona e procarbazina

NCI-WF - *National Cancer Institute Working Formulation*

NF-κB - Fator nuclear Kappa B

OMS - Organização Mundial de Saúde

OVH - Ovariohisterectomia

PAAF - Punção aspirativa com agulha fina

PARR - PCR para detecção do rearranjo dos recetores de antigénios dos linfócitos

PAX-5 - *Paired box transcription factor*

PCNA - Antígeno nuclear de proliferação celular

PCR - Reação em cadeia da polimerase

PET - Tomografia por emissão de positrões

p. ex. - por exemplo

PIO - Pressão intraocular

PO - *Per os* (oralmente)

PTHrP- Péptido relacionado com a hormona da paratiróide

RC - Remissão completa

REAL - *Revised European-American Classification*

RECIST - *Response Evaluation Criteria In Solid Tumours*

RM - Ressonância magnética

RP - Remissão parcial

rpm - Respirações por minuto

SID - Uma vez ao dia

SNC - Sistema nervoso central

TC - Tomografia Computorizada

TCR - Deleções parciais do recetor das células T

TNF-α - Fator de necrose tumoral alfa

TSM - Tempo de sobrevivência médio

US FDA - *United States Food and Drug Administration*

VCOG - *Veterinary Cooperative Oncology Group*

VELCAP-TSC - Doxorrubicina, prednisolona, procarbazina e mecloretamina

INTRODUÇÃO

O presente relatório foi elaborado no âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora, sob a orientação interna do Professor Doutor David Ferreira e orientação externa da Dr.^a Filipa Fernandes. O estágio curricular corresponde à última fase de formação em Medicina Veterinária e o seu propósito é preparar os estudantes para a realidade da profissão, aprofundando as suas competências teóricas e práticas.

Este trabalho pretende descrever as atividades concretizadas e assistidas durante seis meses, com início a 18 de outubro de 2021 e termo a 18 de abril de 2022, no Hospital Veterinário de Coimbra (HVC), na cidade de Coimbra, em Portugal. Ao longo deste período foi então possível à autora consolidar a aprendizagem teórica e prática, adquirida no curso, e obter novas competências, tendo ganho maior autoconfiança e segurança no desempenhar de procedimentos clínicos e ainda uma maior proximidade com o quotidiano de um centro de atendimento médico veterinário.

A recolha de informação ao longo do tempo de estágio culminou na elaboração deste relatório composto por três partes. A primeira componente contempla uma breve análise estatística dos casos acompanhados nas várias áreas e especialidades da Medicina Veterinária, durante os seis meses de estágio. Na segunda parte figura uma revisão bibliográfica com o tema “Linfoma Multicêntrico Canino”, seguindo-se uma terceira e última parte com apresentação e discussão de um caso clínico acompanhado pela estagiária, que retrata o tema desenvolvido previamente na monografia.

I. RELATÓRIO DE CASUÍSTICA

1. Descrição do local de estágio e atividades desenvolvidas

O Hospital Veterinário de Coimbra (HVC) fundado em 2014, disponibiliza de um serviço de urgências 24 horas por dia, 365 dias por ano e é constituído por uma equipa de seis médicos veterinários, seis auxiliares e duas rececionistas. Os serviços prestados pelo HVC incluem consultas, análises clínicas, imagiologia, internamento e cirurgia e, no sentido de facultar estes serviços, dispõe de distintas instalações. Possui o espaço da receção e sala de espera, com área diferenciada para cães e gatos, bem como dois consultórios, sendo um deles expressamente destinado a animais da espécie felina, e um espaço para tosquiadas e banhos. O internamento divide-se em quatro áreas: uma somente para cuidados intensivos, uma área destinada à espécie canina, uma para a espécie felina e animais exóticos e outra destinada às doenças infetocontagiosas. Existe ainda um laboratório, um espaço para realização de radiografia, ecografia e ecocardiografia, uma sala de tomografia computadorizada (TC), uma farmácia e banco de sangue, uma sala de cirurgia (cirurgia clássica e cirurgia endoscópica e de mínima invasão), uma sala de esterilização e equipamentos para cirurgia e uma zona de tratamentos correspondente à área onde é realizada grande parte dos procedimentos.

A estagiária pôde participar, de forma ativa, na rotina diária do HVC, tendo colaborado nas diversas práticas médico-cirúrgicas. Os turnos foram efetuados não só em dias úteis, como também em feriados e fins de semana, das dez às 21 horas, com duas horas de almoço, ou por turnos noturnos, o que enriqueceu e fortaleceu o conhecimento teórico através da componente prática, ao possibilitar o contacto com o funcionamento do hospital em regime de urgências.

Na cirurgia a estagiária pôde participar em todo o processo de preparação pré-cirúrgica, bem como na monitorização pós-cirúrgica dos pacientes, podendo assistir aos procedimentos cirúrgicos. Em contexto de consulta, a estagiária auxiliou os médicos veterinários nos procedimentos necessários durante o decorrer da mesma. No que diz respeito ao internamento, foi possível participar na atenta monitorização dos animais e interagir ativamente na discussão da terapêutica mais apropriada para o paciente, tendo considerado fulcral a participação em todas as passagens de casos entre colegas.

2. Descrição da casuística

Esta parte do relatório abrange uma análise estatística dos diferentes casos acompanhados no decorrer dos seis meses de estágio curricular, durante os turnos da estagiária, pelo que não corresponde à casuística real do HVC.

Neste trabalho, deve compreender-se por “caso” toda a entidade clínica ou cirúrgica, com recurso a sedação ou anestesia, acompanhada pela estagiária. Cada paciente foi classificado em concordância com a espécie a que pertencia e cada caso foi distribuído pela área clínica correspondente (clínica médica, cirúrgica ou medicina preventiva). Assim, o número de pacientes não acomoda a totalidade de casos seguidos, sendo de esperar um número de casos superior ao número de animais observados, visto que muitos dos animais exibiam afeções concomitantes e, vários dos casos referidos na clínica médica, careceram de procedimentos contemplados na clínica cirúrgica, ou seja, o mesmo animal poderá ser contabilizado mais do que uma vez. Para uma mais clara leitura e interpretação dos dados ao longo desta análise estatística, estes foram agrupados, consoante a área clínica a que pertenciam, sob a forma de tabelas e gráficos que mostram 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 (n).

Por fim, a estagiária tece um breve comentário alusivo à aquisição e consolidação das competências alcançadas através do contacto com a casuística exposta.

2.1. Distribuição da Casuística por Espécie Animal e Área Clínica

A distribuição dos casos consoante a espécie compreende as espécies canina (*Canis lupus familiaris*) e felina (*Felis catus*). O gráfico 1 demonstra que a espécie com maior representação no decorrer do estágio foi a canina com uma frequência relativa Fr (%) de 62,39% (n=428) e que a casuística de felinos correspondeu a 37,61% do total de casos (n=258), não sendo um gráfico referente ao número de pacientes, mas sim ao número de casos observados.

Relativamente à distribuição da casuística por cada área clínica, a tabela 1 demonstra que a clínica médica assume maior preponderância comparativamente às restantes áreas, com uma Fr (%) de 58,89%. Por outro lado, a clínica cirúrgica

correspondeu a apenas 23,18% dos casos acompanhados, seguindo-se a medicina preventiva com uma Fr (%) de 17,93%.

Distribuição da casuística por espécie animal

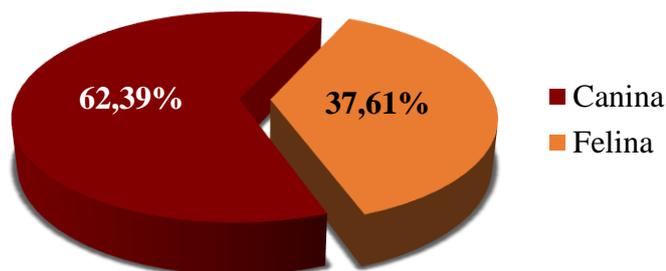


Gráfico 1 - Frequência relativa da casuística distribuída por espécie.

A espécie canina assumiu, unanimemente, uma maior prevalência nas três áreas clínicas.

Tabela 1 - Distribuição da casuística por espécie animal e área clínica.

Área Clínica	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Clínica Médica	247	157	404	58,89
Clínica Cirúrgica	99	60	159	23,18
Medicina Preventiva	82	41	123	17,93
Total	428	258	686	100

2.2. Distribuição Casuística da Clínica Médica

No âmbito da clínica médica foi possível assistir a consultas relativas a diferentes especialidades, permitindo à estagiária o desenvolvimento da sua capacidade de obtenção de anamneses completas, realização de exames físicos e formulação de listas de diagnósticos diferenciais (DDx) para posterior discussão, com os tutores, sobre os possíveis cursos de ação a seguir. Foram ainda incluídos nesta área todos os procedimentos realizados aos animais internados, incluindo a avaliação da sua evolução, e os cuidados implícitos, tais como alimentação, higiene e administração da terapêutica instituída.

A clínica médica foi dividida em 18 especialidades, sumarizadas e ordenadas alfabeticamente na tabela 2, consoante a casuística acompanhada em ambiente hospitalar, as quais serão abordadas individualmente.

Tabela 2 - Distribuição casuística da área de clínica médica, por especialidade e espécie animal.

Clínica Médica	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Cardiologia	10	8	18	4,46
Dermatologia	30	8	38	9,41
Doenças Infecciosas e Parasitárias	29	19	48	11,88
Doenças Músculo-esqueléticas	13	10	23	5,69
Endocrinologia	6	7	13	3,22
Gastroenterologia e Glândulas Anexas	38	18	56	13,86
Hematologia	3	1	4	0,99
Imunologia e Alergologia	6	0	6	1,49
Neurologia	15	2	17	4,21
Odontostomatologia	9	12	21	5,20
Oftalmologia	16	7	23	5,69
Oncologia	12	4	16	3,96
Otorrinolaringologia	9	2	11	2,72
Pneumologia	16	19	35	8,66
Reprodução, Ginecologia e Andrologia	8	1	9	2,23
Toxicologia	6	3	9	2,23
Urgências	7	2	9	2,23
Urologia e Nefrologia	14	34	48	11,88
Total	247	157	404	100

Depreende-se, pela análise da tabela 2, que a área de clínica médica com maior expressão foi a Gastroenterologia, a qual representa 13,86% dos casos observados e, em contrapartida, a hematologia foi a especialidade que obteve menor representatividade, com apenas quatro casos registrados, o que corresponde a uma Fr (%) de 0,99%. Sendo enviados não só pela preferência da estagiária por determinadas áreas, como também pelo facto dos horários serem rotativos, estes resultados não servem para inferir conclusões sobre a casuística do hospital ou da região.

O Gráfico 2 ilustra, mais claramente, a distribuição dos casos acompanhados nas diferentes especialidades médicas, ao detalhar as frequências relativas das espécies canina e felina. Pode observar-se a predominância dos casos na espécie canina, à exceção de algumas especialidades, principalmente na Urologia e Nefrologia onde a espécie felina assume a representatividade.

Distribuição da casuística por espécie e especialidade médica

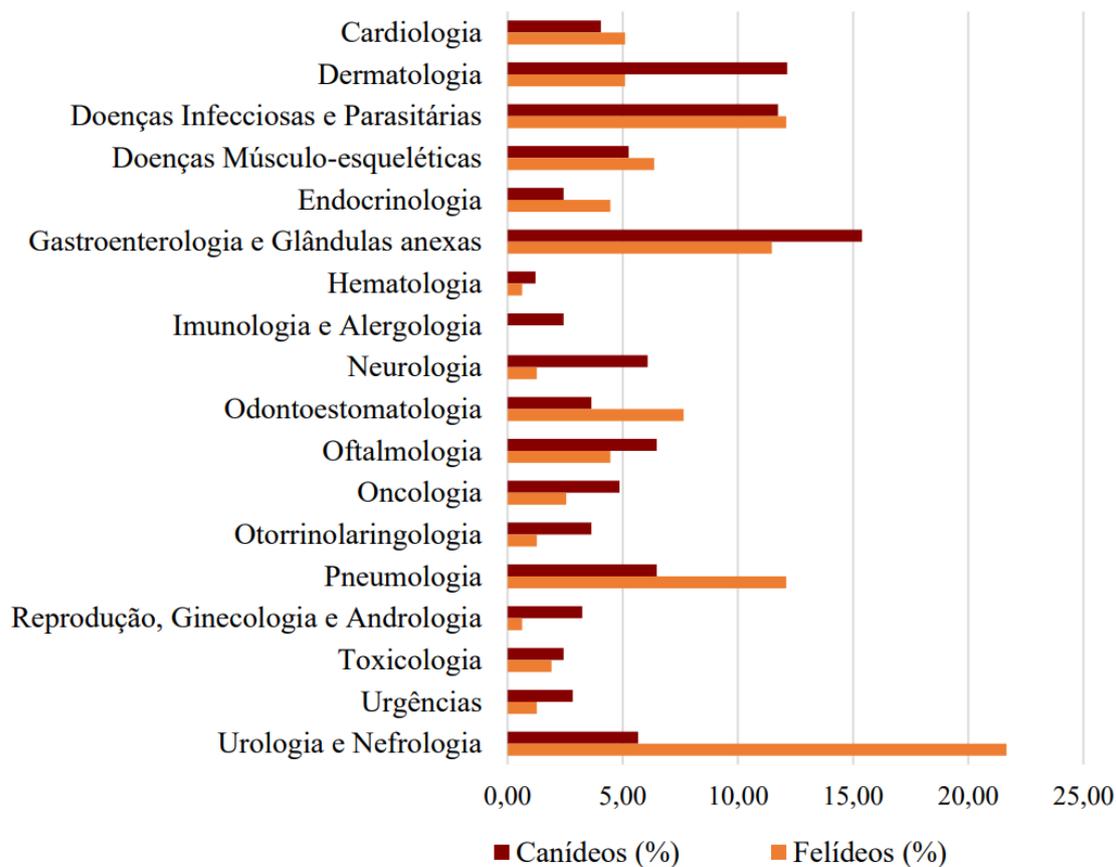


Gráfico 2 - Frequência relativa da casuística de cada especialidade médica, distribuída por espécie.

2.2.1. Cardiologia

A cardiologia é a especialidade que se destina à prevenção, diagnóstico e tratamento das doenças que comprometem o coração e o sistema cardiovascular.

A tabela 3 apresenta os casos observados, distribuídos por espécie, e as respetivas frequências relativas, verificando-se que, na espécie canina, a doença degenerativa valvular foi a afeção mais frequente, enquanto que, em gatos, foi a cardiomiopatia hipertrófica.

A autora conseguiu desenvolver capacidades ao nível da auscultação cardíaca e da radiografia torácica, tendo tido a oportunidade de assistir a algumas ecocardiografias, realizadas por um especialista que se dirigia ao hospital consoante a necessidade de realização das mesmas. Além disso, o contacto com esta área também possibilitou a familiarização com alguns tratamentos característicos destas condições.

Tabela 3 - Distribuição da casuística observada na área da cardiologia.

Cardiologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Cardiomiopatia Dilatada	3	0	3	16,67
Cardiomiopatia Hipertrófica	0	4	4	22,22
Doença Degenerativa Valvular	6	1	7	38,89
Efusão Pericárdica	1	1	2	11,11
Tromboembolismo Aórtico	0	2	2	11,11
Total	10	8	18	100

2.2.2. Dermatologia

A dermatologia representa a especialidade direcionada ao diagnóstico e tratamento das doenças que afetam a pele e anexos.

A área da dermatologia ocupou o terceiro lugar da especialidade com maior número de casos acompanhados ao longo do estágio, com um total de 38 ocorrências (tabela 2). Os casos acompanhados encontram-se, divididos por espécie, na tabela 4.

Tabela 4 - Distribuição da casuística observada na área da dermatologia.

Dermatologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Alopecia	2	0	2	5,26
Dermatite Alérgica à Picada da Pulga (DAPP)	5	3	8	21,05
Dermatite Atópica	8	0	8	21,05
Dermatite por Hipersensibilidade Alimentar	4	0	4	10,53
Higroma de decúbito	2	0	2	5,26
Lacerações Cutâneas	7	4	11	28,95
Nódulos Cutâneos	2	1	3	7,89
Total	30	8	38	100

Através desta, é possível verificar que a afeção dermatológica mais frequentemente acompanhada resultou de lacerações cutâneas (Fr 28,95%), seguidas da DAPP e da dermatite atópica (Fr 21,05%).

Durante o acompanhamento destes casos foi possível a aplicação de determinadas técnicas como a observação de citologias cutâneas, o que permitiu desenvolver habilidades na avaliação de amostras ao microscópio ótico.

2.2.3. Doenças Infecciosas e Parasitárias

As especialidades de infecciologia e parasitologia dedicam-se, respetivamente, ao diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias, correspondendo a 11,88% da clínica médica. A tabela 5 indica que a ocorrência com maior expressão, na espécie canina, foi a infeção por parvovírus (Fr 20,83%) enquanto o vírus da imunodeficiência felina (FIV) representou a doença infecciosa mais observada na espécie felina (Fr 12,50%).

Tabela 5 - Distribuição da casuística observada na área das doenças infecciosas e parasitárias.

Doenças Infecciosas e Parasitárias	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Coriza	0	4	4	8,33
Coronavirose	2	0	2	4,17
Dirofilariose	3	0	3	6,25
Leishmaniose	8	0	8	16,67
Leptospirose	3	0	3	6,25
Panleucopénia	0	5	5	10,42
Parvovirose	10	0	10	20,83
Peritonite Infecciosa Felina (PIF)	0	2	2	4,17
Rinotraqueíte Infecciosa (tosse do canil)	3	0	3	6,25
Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV)	0	6	6	12,50
Vírus da Leucemia Felina (FeLV)	0	4	4	8,33
Toxoplasmose	0	2	2	4,17
Total	29	19	48	100

O acompanhamento destes pacientes permitiu relembrar alguns cuidados particulares a ter em conta no internamento destes animais, visando a proteção pessoal e evitando a contaminação das instalações e contágio de outros animais, para além de terem dado à estagiária a oportunidade de rever os tratamentos instituídos em caso de doenças virais, sendo estes, essencialmente, de suporte e sintomáticos.

A realização de algumas transfusões de plasma ofereceu à estagiária a hipótese de compreender o cálculo de volumes e unidades, relembrando a importância dos cuidados a ter para uma correta manipulação das unidades de plasma fresco congelado.

2.2.4. Doenças Músculo-esqueléticas

As afeções músculo-esqueléticas refletem 5,69% da clínica médica e foi a displasia coxofemoral, na espécie canina, que exibiu maior pertinência nesta especialidade (21,74%). Já na espécie felina, os casos acompanhados remetem, principalmente, para afeções de etiologia traumática.

Tabela 6 - Distribuição da casuística observada na área das doenças músculo-esqueléticas.

Doenças Músculo-esqueléticas	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Displasia coxofemoral	5	0	5	21,74
Fratura	Mandíbula	0	3	13,04
	Rádio/Ulna	1	2	13,04
	Fémur	1	1	8,70
	Pélvis	0	2	8,70
	Tíbia/Fíbula	0	1	4,35
Luxação	Coxofemoral	1	0	4,35
	Patela	2	0	8,70
	Sacroilíaca	0	1	4,35
Rotura do ligamento cruzado cranial	3	0	3	13,04
Total	13	10	23	100

2.2.5. Endocrinologia

A endocrinologia é a especialidade que se encarrega do estudo, diagnóstico e tratamento de doenças endócrinas.

Através da análise da tabela 7, que apresenta o número de casos de cada entidade clínica, acompanhados nas duas espécies, é possível concluir que a diabetes *mellitus* destacou-se, percentualmente, como doença endócrina e metabólica mais frequente, no decorrer dos seis meses, com 53,85% (n=7) dos casos observados, seguida de hiperadrenocorticismos (Fr 15,38%) e hipertiroidismo (Fr 15,38%) nas espécies canina e felina, respetivamente.

Esta especialidade foi particularmente interessante de acompanhar devido ao caráter desafiante que o diagnóstico de algumas doenças endócrinas proporciona. Após a elaboração da lista de diferenciais, foram realizadas várias provas específicas, para confirmar ou descartar alguma doença endócrina, como por exemplo: doseamento da T4 (tiroxina) e TSH (hormona estimulante da tiroide) plasmáticas, testes de supressão com

baixas doses de dexametasona e testes de estimulação com ACTH (hormona adrenocorticotrópica).

Tabela 7 - Distribuição da casuística observada na área da endocrinologia.

Endocrinologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Diabetes <i>Mellitus</i>	2	5	7	53,85
Hiperadrenocorticismo (<i>Cushing</i>)	2	0	2	15,38
Hipertiroidismo	0	2	2	15,38
Hipoadrenocorticismo (<i>Addison</i>)	1	0	1	7,69
Hipotireoidismo	1	0	1	7,69
Total	6	7	13	100

Com o intuito de avaliar o progresso terapêutico, bem como possíveis ajustes necessários na dose de insulina instituída, a estagiária pôde acompanhar a concretização de curvas de glicemia, efetuadas em animais com diabetes *mellitus* ou sob suspeita de desenvolvimento de insulinoresistência.

Um episódio de crise Addisoniana e os casos de cetoacidose diabética observados foram incorporados na especialidade de Urgências, por se tratarem de afeções endócrinas de caráter urgente e, portanto, com protocolos terapêuticos distintos.

2.2.6. Gastroenterologia e Glândulas Anexas

Como outrora mencionado, a gastroenterologia e glândulas anexas representa a área da clínica médica com maior relevância (Fr 13,86%). A nível da casuística médica gastrointestinal, a gastroenterite inespecífica, assim como a pancreatite, destacaram-se percentualmente relativamente à restante diversidade de afeções desta mesma área, sendo responsáveis por 44,64% (n=25) dos casos observados, como assinala a tabela 8. Os cães foram a espécie com mais ocorrências registadas. Nos gatos, a lipidose hepática e a pancreatite foram as principais afeções desta área.

No âmbito da imagiologia e especialmente em casos de corpos estranhos esofágicos ou gástricos, as radiografias, ecografias e endoscopias, são fundamentais na exclusão de DDx e, em determinados quadros clínicos, só se torna possível alcançar o diagnóstico definitivo recorrendo a biópsia seguida de análise histopatológica como, por exemplo, no caso de doença inflamatória intestinal.

Os casos de gastroenterologia acompanhados realçaram a importância de obter uma anamnese minuciosa, um exame físico detalhado que inclua uma palpação abdominal cuidada e ainda uma lista de DDx o mais completa possível, visto que estas afeções são caracterizadas por possuírem sinais clínicos idênticos e pouco específicos, compatíveis com outras doenças sistêmicas.

Tabela 8 - Distribuição da casuística observada na área da gastroenterologia e glândulas anexas.

Gastroenterologia e Glândulas Anexas	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Ascite	2	1	3	5,36
Dilatação e torção gástrica	1	0	1	1,79
Doença Inflamatória Intestinal	3	0	3	5,36
Fecaloma	0	1	1	1,79
Gastrite	1	1	2	3,57
Gastroenterite Hemorrágica	4	0	4	7,14
Gastroenterite Inespecífica	9	3	12	21,43
Hepatopatia	2	1	3	5,36
Hérnia Perianal	1	0	1	1,79
Impactação dos sacos anais	1	0	1	1,79
Ingestão de corpo estranho	5	2	7	12,50
Lipidose Hepática	0	4	4	7,14
Pancreatite	9	4	13	23,21
Triadite Felina	0	1	1	1,79
Total	38	18	56	100

2.2.7. Hematologia

A área da medicina que diagnostica e trata as doenças que afetam a circulação sanguínea é a hematologia. A tabela 9 apresenta a única entidade clínica acompanhada, com as respectivas frequências absolutas em ambas as espécies, bem como a frequência relativa total. O hemograma mostra-se um exame complementar de especial interesse nesta área, no que ao diagnóstico e planeamento terapêutico diz respeito.

Tabela 9 - Distribuição da casuística observada na área da hematologia.

Hematologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Anemia Hemolítica Imunomediada	3	1	4	100
Total	3	1	4	100

Foram apenas observados quatro casos nesta área, durante os seis meses (um impacto de apenas 0,99% na área da clínica médica), tendo ocorrido apenas um deles na espécie felina.

O acompanhamento desta afeção, apesar de limitado, permitiu a prática da observação de esfregaços sanguíneos ao microscópio e a realização de uma monitorização mais rigorosa dos animais afetados, aquando das transfusões sanguíneas, devido ao risco de reação às mesmas.

2.2.8. Imunologia e Alergologia

A imunologia e alergologia dedicam-se ao estudo e tratamento das doenças do sistema imunitário e situações alérgicas, respetivamente. Na tabela 10 encontram-se as respetivas frequências absoluta e relativa dos casos referentes a esta área.

Tabela 10 - Distribuição da casuística observada na área da imunologia e alergologia.

Imunologia e Alergologia		Fip		Fi	Fr (%)
		Canídeos	Felídeos		
Angioedema	Secundário a picada de inseto	2	0	2	33,33
	Secundário a reação vacinal	1	0	1	16,67
	Secundário a transfusão de plasma	3	0	3	50,00
Total		6	0	6	100

Todos os casos acompanhados durante o estágio curricular foram de angioedema em cães. Três destes sofreram de angioedema secundário a transfusão de plasma (Fr 50,00%), dois foram consequência de picada de inseto (Fr 33,33%) e um caso resultou de reação vacinal (Fr 16,67%). Acompanhar estas ocorrências permitiu a familiarização com a terapêutica escolhida para casos como estes, que passa essencialmente pelo tratamento sintomático.

2.2.9. Neurologia

A neurologia é a especialidade encarregue do diagnóstico e tratamento das doenças do sistema nervoso, perfazendo um total de 17 casos, representativos de 4,21% da clínica médica, com apenas dois a pertencerem à espécie felina.

Na tabela 11, encontram-se expostos os casos observados em ambas as espécies, tendo a herniação do disco intervertebral (cervical e toracolombar) sido mais comum que

qualquer outra entidade clínica, com um total de 9 casos correspondentes a 52,94% da casuística desta área.

Tabela 11 - Distribuição da casuística observada na área da neurologia.

Neurologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Epilepsia Idiopática	4	1	5	29,41
Espondilomielopatia Cervical (Síndrome de Wobbler)	1	0	1	5,88
Hérnia discal	Cervical	0	2	11,76
	Toracolombar	7	7	41,18
Massa Intracraniana	1	0	1	5,88
Síndrome de Horner	0	1	1	5,88
Total	15	2	17	100

Esta afeção foi unicamente observada em cães, maioritariamente da raça *Dachshund*, diagnosticada por TC e, na maioria dos casos, necessitou de resolução cirúrgica. Seguiu-se a epilepsia, com cinco casos (Fr 29,41%), diagnosticada como epilepsia idiopática, uma vez que o diagnóstico foi conseguido por exclusão de outras afeções.

O acompanhamento de casos de neurologia permitiu praticar o exame neurológico, principalmente em animais internados, para além de ter facilitado não só a familiarização com as necessidades diárias mais peculiares destes pacientes, mas também com os tratamentos implementados, nomeadamente a fisioterapia, realizada durante a recuperação pós-operatória.

2.2.10. Odontoestomatologia

A odontoestomatologia dedica-se ao estudo das doenças que comprometem a cavidade oral.

Tabela 12 - Distribuição da casuística observada na área da odontoestomatologia.

Odontoestomatologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Doença Periodontal	9	6	15	71,43
Estomatite	0	2	2	9,52
Fenda Palatina	0	1	1	4,76
Gengivite	0	3	3	14,29
Total	9	12	21	100

Num total de 5,20% da clínica médica, a representatividade da espécie canina, nesta área, foi relativamente idêntica à da espécie felina, tendo sido a doença periodontal a afeção com maior relevância (Fr 71,43%), tanto em canídeos como em felídeos.

O acompanhamento destes casos permitiu à estagiária realizar exames minuciosos à cavidade oral dos pacientes, recordando alguns aspetos da anatomia dentária em cães e gatos.

2.2.11. Oftalmologia

Esta é a especialidade médica destinada ao diagnóstico e tratamento de afeções oculares, estando os casos observados em oftalmologia expostos na tabela 13.

Em cães, a afeção com maior predominância foi cataratas, enquanto que, em gatos, foi conjuntivite.

Tabela 13 - Distribuição da casuística observada na área da oftalmologia.

Oftalmologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Catarata	4	0	4	17,39
Conjuntivite	2	4	6	26,09
Entrópion	2	0	2	8,70
Glaucoma	2	0	2	8,70
Perfuração Ocular	1	1	2	8,70
Prolapso do globo ocular	0	1	1	4,35
Protusão da Glândula da 3ª Pálpebra	2	0	2	8,70
Úlcera da Córnea	3	1	4	17,39
Total	16	7	23	100

A maioria dos casos de oftalmologia eram atendidos por um especialista que era chamado ao HVC para o efeito, o que limitou a possibilidade de um maior acompanhamento.

No entanto, através dos casos observados, a estagiária teve a oportunidade de praticar o exame oftalmológico, com recurso a exames complementares oftalmológicos, inclusivamente o teste de fluoresceína, o teste de *Schirmer* e tonometria, bem como consolidar alguns tratamentos, lembrando os cuidados a ter com o paciente oftalmológico.

2.2.12. Oncologia

A oncologia dedica-se ao estudo, estadiamento, tratamento e vigilância de neoplasias. Pela análise da tabela 14, verifica-se que, consoante a localização anatómica, existe uma grande diversidade de tumores.

Tabela 14 - Distribuição da casuística observada na área da oncologia.

Oncologia		Fip		Fi	Fr (%)
		Canídeos	Felídeos		
Tumores cutâneos e subcutâneos	Lipoma	2	0	2	12,50
Tumores Gastrointestinais	Carcinoma Gástrico	1	0	1	6,25
Tumores Mamários	Carcinoma Mamário Túbulo-papilar	0	2	2	12,50
Tumores do Sistema Esquelético	Osteossarcoma	1	0	1	6,25
Tumores do Sistema Hematopoiético	Hemangiossarcoma Esplénico	3	0	3	18,75
	Linfoma Multicêntrico	3	2	5	31,25
Tumores do Sistema Urinário	Carcinoma das Células de Transição da Bexiga	2	0	2	12,50
Total		12	4	16	100

A mesma tabela, permite também apurar que o linfoma multicêntrico (Fr 31,25%) e o hemangiossarcoma (Fr 18,75%) foram as neoplasias mais frequentemente observadas durante o período de estágio, sendo ainda possível reparar na reduzida representatividade da espécie felina, que contou somente com quatro ocorrências, das quais apenas uma avançou para tratamento.

O acompanhamento dos casos desta especialidade médica tornou possível a familiarização da estagiária não só com alguns dos protocolos de quimioterapia aplicados aos pacientes oncológicos, mas também com fatores importantes, que devem ser considerados na monitorização dos pacientes, ao longo do tratamento, e com alguns cuidados fundamentais durante a manipulação de quimioterápicos.

2.2.13. Otorrinolaringologia

A otorrinolaringologia estuda e trata as afeções que acometem os ouvidos, as fossas nasais, os seios perinasais, a faringe e a laringe. Num total de 11 casos nesta área clínica, os de otite externa foram predominantes (Fr 45,45%), seguidos pelos de otohematoma (Fr 27,27%).

O seguimento dos casos de otorrinolaringologia possibilitou a prática do exame otológico, a exploração das fossas nasais e a observação de citologias otológicas. Além disso, permitiu tomar conhecimento dos diferentes tratamentos a instituir consoante o tipo de otite externa em causa.

Tabela 15 - Distribuição da casuística observada na área da otorrinolaringologia.

Otorrinolaringologia		Fip		Fi	Fr (%)
		Canídeos	Felídeos		
Otite externa	Bacteriana	1	1	2	18,18
	<i>Malassezia spp.</i>	3	0	3	27,27
Otohematoma		3	0	3	27,27
Paralisia Laríngea		2	0	2	18,18
Pólipo no ouvido		0	1	1	9,09
Total		9	2	11	100

2.2.14. Pneumologia

A pneumologia é a especialidade incumbida de diagnosticar e tratar doenças do trato respiratório. Pela análise da tabela 16, verifica-se que foram acompanhados 35 casos na área da pneumologia, tendo sido a efusão pleural (Fr 22,86%) e o edema pulmonar (Fr 20,00%) as afeções com maior relevância.

Tabela 16 - Distribuição da casuística observada na área da pneumologia.

Pneumologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Asma Felina	0	3	3	8,57
Corpo estranho intranasal	3	0	3	8,57
Edema Pulmonar	3	4	7	20,00
Efusão Pleural	2	6	8	22,86
Pneumonia	2	2	4	11,43
Pneumotórax	2	4	6	17,14
Síndrome Respiratório Braquicefálico	4	0	4	11,43
Total	16	19	35	100

Esta especialidade facilitou a compreensão de determinados aspetos da imagiologia, por ter permitido praticar a interpretação de radiografias torácicas, bem como a distinção dos diferentes padrões pulmonares e o reconhecimento da existência de ar ou líquido na cavidade torácica. Simplificou também a identificação dos diferentes ruídos respiratórios através da auscultação e permitiu a aprendizagem dos métodos de contenção mais indicados para obter radiografias de animais dispneicos, causando-lhes o mínimo de stress para que não descompensassem.

2.2.15. Reprodução, Ginecologia e Andrologia

A especialidade médica relacionada com reprodução, ginecologia e andrologia dedica-se ao estudo das afeções do trato reprodutivo, reprodução e gestação.

Como é visível através da tabela 17, a piómetra revelou ser a afeção ginecológica mais frequente dentro desta especialidade, constituindo 66,67% dos casos. A nível andrológico a hiperplasia benigna da próstata revelou-se a afeção predominante, com valores relativos de 15,38% dos casos totais desta área de especialidade que abrange os dois géneros.

Tabela 17 - Distribuição da casuística observada na área da reprodução, ginecologia e andrologia.

Reprodução, Ginecologia e Andrologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Criptorquidismo	1	0	1	11,11
Hiperplasia Prostática Benigna	2	0	2	15,38
Piómetra	5	1	6	66,67
Total	8	1	9	100

A observação destes casos permitiu não só recordar alguns métodos de diagnóstico e tratamento destas entidades clínicas, como também alguns aspetos relacionados com o ciclo éstrico das duas espécies.

2.2.16. Toxicologia

A toxicologia é a especialidade encarregue do reconhecimento da sintomatologia instigada pela exposição à toxicidade de determinadas substâncias químicas e da sua posterior terapêutica. Na tabela 18 encontram-se discriminados os nove casos (2,23% da clínica médica) de intoxicação, ocorridos no HVC durante o período de estágio. Na

maioria dos casos, a origem do agente causador do processo permaneceu desconhecida (Fr 44,44%).

Tabela 18 - Distribuição da casuística observada na área da toxicologia.

Toxicologia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Dicumarínicos	2	0	2	22,22
Ibuprofeno	1	2	3	33,33
Indeterminado	3	1	4	44,44
Total	6	3	9	100

O acompanhamento de pacientes nesta área ressaltou a importância da anamnese no desenvolver de um raciocínio clínico que conduza à suspeita de intoxicação e permitiu adquirir conhecimentos relativamente aos tratamentos a instituir nos diferentes casos.

2.2.17. Urgências

A área médica de urgências e emergências é responsável por prestar atendimento médico veterinário aos pacientes que requerem assistência urgente e prioritária por perigo de vida, permitindo a sua ressuscitação e estabilização.

Pela tabela 19, conclui-se que as afeções mais observadas foram a cetoacidose diabética e o hemoabdómen, ambas com a mesma frequência relativa, tendo os três casos de hemoabdómen sido consequência de hemangiossarcoma.

Tabela 19 - Distribuição da casuística observada na área das urgências.

Urgências	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Cetoacidose diabética	1	2	3	33,33
Contacto com <i>Thaumetopoea pytyocampa</i> (lagarta do pinheiro)	2	0	2	22,22
Crise Addisoniana	1	0	1	11,11
Hemoabdómen	3	0	3	33,33
Total	7	2	9	100

A especialidade de medicina de urgências possibilitou à estagiária alcançar maior aptidão em termos de triagem e de eficiência na resposta ao lidar com situações urgentes.

2.2.18. Urologia e Nefrologia

A urologia e nefrologia representa uma das especialidades com maior número de ocorrências, além de representar também o maior número de casos seguidos em gatos,

como se pode observar através da tabela 20. As afeções mais reportadas, na espécie felina, foram a doença renal crónica (DRC), com 11 casos, e a FLUTD (*Feline low urinary tract disease*) em 12,50% do número total de casos. Já nos cães, predominaram a presença de cálculos vesicais e situações de incontinência urinária.

Tabela 20 - Distribuição da casuística observada na área da urologia e nefrologia.

Urologia e Nefrologia		Fip		Fi	Fr (%)
		Canídeos	Felídeos		
Cálculos	Renais	1	0	1	2,08
	Ureterais	0	2	2	4,17
	Uretrais	0	2	2	4,17
	Vesicais	3	0	3	6,25
Cistite Idiopática		0	2	2	4,17
Doença do Trato Urinário Felino (FLUTD)		0	6	6	12,50
Hematúria		1	3	4	8,33
Incontinência Urinária		3	1	4	8,33
Infeção Urinária		2	3	5	10,42
Insuficiência Renal Aguda		2	4	6	12,50
Doença Renal Crónica		2	11	13	27,08
Total		14	34	48	100

As situações de urolitíase observadas possibilitaram o contacto com diferentes tratamentos, dependendo do tipo de urólito em questão. Os vários casos de DRC também permitiram a consolidação de conhecimentos sobre o diagnóstico, estadiamento e tratamento desta afeção. A estagiária teve ainda oportunidade de realizar a algaliação urinária de alguns animais internados e de prestar auxílio em cistocentese ecoguiadas.

2.2.19. Procedimentos Médico-cirúrgicos

Na tabela 21 estão descritos os procedimentos médicos considerados de maior pertinência, e por isso contabilizados, que foram realizados e acompanhados durante todo o período de estágio, perfazendo um total de 86 procedimentos.

Deste grande grupo destacaram-se a cistocentese (Fr 25,58%) e a algaliação (Fr 16,28%).

A multiplicidade destes procedimentos, a par dos exames complementares de diagnóstico, é fundamental para obter um diagnóstico final e, posteriormente, poder proceder ao maneio terapêutico de determinadas afeções. Ademais, a observação e

concretização de alguns destes procedimentos, por parte da autora, foram benéficas na sua aquisição de prática e conhecimento.

Tabela 21 - Distribuição casuística de procedimentos médico-cirúrgicos.

Procedimentos Médico-cirúrgicos	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Abdominocentese	5	2	7	8,14
Algaliação	6	8	14	16,28
Cistocentese	7	15	22	25,58
Colheita de líquido cefalorraquidiano (LCR)	2	0	2	2,33
Colonoscopia	0	1	1	1,16
Endoscopia	8	0	8	9,30
Enema	0	1	1	1,16
Pericardiocentese	1	0	1	1,16
Quimioterapia	5	1	6	6,98
Rinoscopia	3	0	3	3,49
Soro subcutâneo	4	7	11	12,79
Toracocentese	2	1	3	3,49
Transusão de sangue	5	2	7	8,14
Total	48	38	86	100

2.2.20. Exames Complementares de Diagnóstico

Os exames complementares de diagnóstico realizados e presenciados, com o objetivo de chegar a um diagnóstico definitivo, encontram-se detalhados na tabela 22.

Não foram registados alguns dos procedimentos como colheitas sanguíneas, hemogramas, hematócritos, ionogramas, análises bioquímicas, testes rápidos, análises da densidade urinária, medições de glucose, esfregaços sanguíneos e urianálises, por serem exames realizados de forma rotineira, inumeráveis vezes por dia, o que tornava a sua contabilização difícil e pouco prática.

Como seria de esperar, o exame mais utilizado foi a ecografia, seguido da radiografia e, ainda que com menor frequência, houve também oportunidade de acompanhar outras práticas, particularmente tomografias computadorizadas e ecocardiografias.

A assistência, auxílio e execução de alguns destes exames permitiram à estagiária aperfeiçoar a sua aptidão prática e, na área da imagiologia, serviram para apurar a capacidade de diagnóstico com um reconhecimento mais eficaz de estruturas e anomalias.

Tabela 22 - Distribuição casuística dos exames complementares de diagnóstico.

Exames Complementares de Diagnóstico		Fip		Fi	Fr (%)
		Canídeos	Felídeos		
Citologia	Aposição	4	2	6	1,95
	Citologia zaragatoa	4	2	6	1,95
	PAAF	24	6	30	9,77
Imagiologia	Ecocardiografia	17	14	31	10,10
	Ecografia	57	38	95	30,94
	Radiografia	52	34	86	28,01
	TC	20	5	25	8,14
Testes Dermatológicos	Raspagem cutânea	1	1	2	0,65
Testes Oftalmológicos	Medição da P.I.O.	8	5	13	4,23
	Teste de fluoresceína e Teste de <i>Schirmer</i>	10	3	13	4,23
Total		197	110	307	100

2.3. Distribuição Casuística da Clínica Cirúrgica

A clínica cirúrgica foi repartida em duas partes integrantes. De um lado, em cirurgia geral e de tecidos moles e, do outro, em cirurgia ortopédica, traumática e neurocirurgia.

Como se pode concluir pela análise da tabela 23, houve um total de 159 casos que incluíram procedimentos cirúrgicos, tanto para fins diagnósticos como terapêuticos, preventivos ou paliativos, pertencendo na sua maioria à cirurgia geral e de tecidos moles (Fr 89,94%).

Tabela 23 - Distribuição da casuística da área de clínica cirúrgica, por especialidade e espécie animal.

Clínica Cirúrgica	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Cirurgia Geral e Tecidos Moles	87	56	143	89,94
Cirurgia Ortopédica, Traumática e Neurocirurgia	12	4	16	10,06
Total	99	60	159	100

2.3.1. Cirurgia Geral e Tecidos Moles

A tabela 24 diz respeito à área da cirurgia geral e tecidos moles e apresenta os diversos procedimentos que foram observados e auxiliados pela estagiária.

Tabela 24 - Distribuição da casuística por técnica cirúrgica e espécie animal, referente à área da cirurgia de tecidos moles.

Cirurgia Geral e Tecidos Moles		Fip		Fi	Fr (%)
		Canídeos	Felídeos		
Cirurgia da Bexiga	Cistotomia	2	1	3	2,10
Cirurgia da Pele e Tecidos Anexos	Exérese de pequenas e grandes massas	3	0	3	2,10
Cirurgia Dentária	Destartarização	12	4	16	11,19
	Extração Dentária	5	2	7	4,90
Cirurgia do Estômago	Gastropexia Preventiva	1	0	1	0,70
	Gastrotomia	2	1	3	2,10
	Resolução de DVG	1	0	1	0,70
Cirurgia do Fígado	Lobectomia Parcial Hepática	1	0	1	0,70
Cirurgia do Intestino Delgado	Enterectomia	3	0	3	2,10
	Enterotomia	2	0	2	1,40
Cirurgia do Pavilhão Auricular	Resolução de Otohematoma	3	0	3	2,14
Cirurgia do Sistema Hemolinfático	Esplenectomia	2	0	2	1,40
Cirurgia do Sistema Reprodutor	Cesariana	1	0	1	0,70
	Mastectomia	0	2	2	1,40
	Orquiectomia	28	19	47	32,87
	OVH	20	26	46	32,17
Cirurgia do Sistema Respiratório Superior	Resolução de Síndrome Braquicefálico	1	0	1	0,70
Total		87	56	143	100

A maioria dos procedimentos foram de rotina, como orquiectomias (Fr 32,87%), OVH (Fr 32,17%) e destartarizações (Fr 11,19%). Todavia, também foram observadas cirurgias com um maior grau de complexidade como lobectomia parcial hepática e resolução de DVG, cada uma com uma frequência relativa de 0,70%.

Os casos acompanhados nesta área possibilitaram à estagiária, não só a observação de várias cirurgias, como ainda a possibilidade de desempenhar as funções de circulante

e ajudante de cirurgião, em alguns casos. Apesar da monitorização anestésica ser responsabilidade da anestesista do HVC, a estagiária ganhou experiência por, muitas vezes, ter ficado encarregue do acompanhamento dos animais na recuperação da anestesia.

2.3.2. Cirurgia Ortopédica, Traumática e Neurocirurgia

Neste âmbito foram observados 16 casos, a grande maioria verificados na espécie canina (Fr 75,00%), tendo sido recebidos sete animais com doença do disco intervertebral toracolombar, ao longo dos seis meses no HVC, o que concedeu às hemilaminectomias uma representação de cerca de 37,50% das cirurgias acompanhadas nesta área.

Tabela 25 - Distribuição da casuística por técnica cirúrgica e espécie animal, referente à área da cirurgia ortopédica, traumática e neurocirurgia.

Cirurgia Ortopédica, Traumática e Neurocirurgia	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Amputação de membro anterior	1	0	1	6,25
Osteossíntese de avulsão da crista da tíbia	1	0	1	6,25
Hemilaminectomia	6	0	6	37,50
Osteossíntese de Fraturas	Rádio/Ulna	0	3	18,75
	Fémur	1	0	6,25
	Pélvica	0	1	6,25
Rotura de Ligamentos Cruzados	2	0	2	12,50
Fenestração ventral	1	0	1	6,25
Total	12	4	16	100

2.4. Medicina Preventiva

No decorrer do estágio curricular foram acompanhadas várias consultas de aconselhamento e profilaxia de cães e gatos, que incluíram a vacinação e desparasitação, assim como identificação eletrónica. Através da tabela 26 é possível inferir que a vacinação constituiu o ato médico mais observado (Fr 65,04%).

A desparasitação (Fr 27,64%), interna e externa, foi o segundo procedimento mais acompanhado, seguido da colocação do microchip, para identificação eletrónica. Mais uma vez, a espécie canina foi a que mais se destacou nesta área.

Tabela 26 - Distribuição dos procedimentos observados e realizados no contexto da medicina preventiva.

Medicina Preventiva	Fip		Fi	Fr (%)
	Canídeos	Felídeos		
Desparasitação	16	18	34	27,64
Identificação Eletrónica	7	2	9	7,32
Vacinação	59	21	80	65,04
Total	82	41	123	100

3. Aquisição e Consolidação de Competências

O estágio curricular no HVC tornou-se, para a estagiária, numa experiência altamente enriquecedora para crescimento tanto profissional quanto pessoal, proporcionando a sua inclusão numa equipa e no funcionamento diário do hospital, o que lhe valeu uma visão mais concreta daquela que será a sua futura realidade profissional. Além disso, foi também confiada à estagiária uma grande autonomia para seguir e executar alguns procedimentos, bem como para desenvolver a capacidade de comunicação e proximidade com os tutores.

A partir da análise dos casos anteriormente apresentados, é possível concluir que este estágio concedeu à estagiária a oportunidade de fortalecer diversas capacidades em campos distintos da medicina veterinária, para além de lhe ter permitido consolidar os conhecimentos outrora obtidos durante o percurso académico.

Adicionalmente ao ganho de experiência, no que diz respeito aos cuidados a ter com os animais hospitalizados, foi ainda possível evoluir em áreas como a imagiologia, análises clínicas e até cirurgia.

II. MONOGRAFIA: LINFOMA MULTICÊNTRICO CANINO

1. Introdução

A prevalência de neoplasias continua a aumentar e tem-se tornado um problema cada vez mais presente ao constituir uma das principais causas de morte, tanto nos cães como nas pessoas. A esperança média de vida dos animais tem apresentado um aumento progressivo ao longo do tempo, sendo esta uma das razões por detrás deste fenómeno.¹

O linfoma, sinónimo de linfoma maligno ou linfossarcoma^{2,3}, representa uma das neoplasias mais comuns na espécie canina^{2,3,4,5,6,7} e revela-se como um conjunto de doenças heterogéneas^{5,6,8} que têm em comum a sua origem na proliferação clonal dos linfócitos^{4,8,9}. Uma vez tendo origem no sistema linforreticular⁷, a expressão clínica do linfoma pode ser mais frequentemente observada nos órgãos com maior abundância de linfócitos³, como linfonodos, baço e medula óssea, apesar de poder aparecer em praticamente qualquer localização^{4,7}.

O linfoma no cão constitui um dos tumores mais responsivos a tratamento quimioterápico, com uma taxa de resposta inicial de 69 a 94%¹⁰, contudo, qualquer que seja a terapêutica implementada, é considerado uma doença fatal⁶ e afeta cães de todas as raças e idades^{11,12,13}, apesar de parecer ter uma menor incidência em certas raças e em fêmeas inteiras^{5,12}. A sua etiologia aponta-se como multifatorial^{4,6,7,14}, embora ainda seja desconhecida, o que dificulta o desenvolvimento de novas terapias⁶.

Existem semelhanças consideráveis entre o linfoma não Hodgkin (LNH) nos humanos e o linfoma nos cães^{5,15,16}, nomeadamente no que diz respeito ao comportamento biológico e histopatológico^{13,16,17}, apresentação clínica desta neoplasia, tratamento e resposta ao mesmo^{18,19}. Em ambas as espécies, o subtipo de linfoma mais habitualmente encontrado é o linfoma difuso de células B grandes (LDCBG)^{6,8,9,20}, podendo integrar até cerca de 40%-50% de todos os casos de LNH^{11,21}. Tudo isto torna a espécie canina um modelo exemplar na análise da progressão e tratamento do linfoma em humanos.^{6,16}

2. Epidemiologia do linfoma canino

O linfoma representa aproximadamente 7% a 24% de todas as neoplasias em cães⁴, exibindo uma incidência anual de, aproximadamente, 13 a 114 casos por cada 100.000 cães em risco^{4,18} e correspondendo a 83% de todas as neoplasias hematopoiéticas

caninas ^{4,22}. Assim, esta é uma das neoplasias mais diagnosticadas na espécie canina e mais frequentemente abordadas em oncologia veterinária ¹⁸, sendo também a neoplasia mais comumente tratada com quimioterapia ^{11,13}.

Embora o linfoma possa surgir em cães de qualquer raça ou idade, os mais afetados incluem-se maioritariamente no grupo etário que vai dos seis aos nove anos (meia-idade a mais velhos). ^{2,3,4,13,18,23,24} No entanto, cães com linfoma das células T tendem a ser mais jovens ⁴, verificando-se uma maior incidência em cães com menos de três anos ²⁵.

No que diz respeito à predisposição sexual, ainda não há um consenso entre autores, sendo que alguns defendem que o género não constitui fator de risco ⁷, ou seja, a não existência de predisposição sexual ^{18,26,27}, e outros defendem que as fêmeas inteiras têm menor risco de vir a desenvolver linfoma quando comparadas a cadelas esterilizadas ^{5,15,18}, sugerindo uma certa relevância das hormonas femininas na prevenção da doença ¹⁵.

Qualquer raça pode apresentar a doença ^{7,12,18}, contudo algumas parecem ser mais predispostas e incluem: Boxer, Bullmastiff, Basset Hound, São Bernardo, Scottish Terrier ^{4,5,7,18,23,28}, Airedale Terrier ^{4,5,7,23}, Bulldog ^{4,7,18}, Rottweiler ^{4,5,18,23} e Golden Retriever ^{18,28,29}. Por outro lado, as raças reportadas como tendo menor risco de desenvolver a doença são a Dachshund, Pomeranian ^{4,23,28} e Chihuahua ^{18,23}.

3. Etiologia

Como referido anteriormente, a etiologia do linfoma canino permanece uma incógnita, ainda que seja considerada multifatorial, visto que até então não foi possível isolar um agente etiológico único como sendo causador desta neoplasia. ^{4,30}

3.1. Fatores Ambientais

À semelhança dos fatores ambientais descritos para a evolução tumoral em seres humanos, também nos cães é colocada a hipótese de existir uma relação entre a amplificação do risco de linfoma com a exposição a determinadas circunstâncias ambientais. ^{19,31}

Um estudo de Hayes *et al.*, 1991, indicou que cães cujos proprietários usavam herbicidas nas suas casas, especificamente o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), apresentaram um maior risco de desenvolver linfoma e que o risco duplicava quando os tutores faziam quatro ou mais aplicações de 2,4-D, por ano. ^{4,32} No entanto, esta

informação já foi revogada em estudos posteriores que, após uma reanálise dos dados originais, refutam a influência deste herbicida no desenvolvimento de linfoma canino.^{18,33,34}

Segundo alguns autores, parece haver um maior risco de vir a desenvolver linfoma, em cães que residem em zonas industriais e que coabitam com tutores que utilizam tintas e solventes.^{18,22} O comportamento biológico do linfoma é igualmente influenciado pela exposição a campos magnéticos residenciais^{14,18} e ao fumo do tabaco, devido aos seus contaminantes, nomeadamente a nicotina, relacionada com índices de propagação do linfoma canino mais elevados, qualquer que seja o subtipo ou grau, aumentando a sua agressividade.³⁵

Outros fatores de risco são as zonas de distribuição geográfica onde ocorre incineração de resíduos, áreas poluídas e, principalmente, substâncias radioativas, que aparecem relacionadas com um risco mais elevado de surgimento desta neoplasia.^{18,36} Todavia, estas últimas são vistas como indicadores de risco e não como fatores de risco, sendo que os cães que habitam continuamente em regiões críticas, como estas, vão estar mais suscetíveis ao desenvolvimento de linfoma.^{36,37}

Num estudo de Takashima-Uebelhoer *et al.*, 2012, com o propósito de avaliar a possível relação entre a utilização de produtos para controlo de pulgas e carraças e o risco de desenvolver linfoma canino, não foi verificada nenhuma associação.¹⁹

3.2. Fatores Genéticos e Moleculares

Como referido anteriormente, o linfoma maligno é o tumor mais frequentemente tratado com recurso a quimioterapia. Contudo, a maior prevalência de linfoma em determinadas raças e ainda a diferença nas células a partir das quais se origina, consoante as diferentes raças, indica que existem fatores de risco genéticos.¹³

Os cães têm sido apontados como um modelo de suporte exemplar para o estudo do linfoma em humanos^{6,16,38,39}, por apresentar características clínicas, patológicas e eventos oncogénicos idênticos e, consequentemente, uma fisiopatologia tumoral com particularidades semelhantes^{13,17}.

O acumular de mutações e rearranjos de ADN (ácido desoxirribonucleico) pode culminar, por um lado, na estimulação de oncogenes e/ou, por outro, na desativação de genes supressores de tumores, gerando afeções genéticas reconhecidas como formações

tumorais. As mutações oncogénicas podem advir de uma variedade de fatores tais como a exposição à radiação ionizante, a substâncias químicas genotóxicas, a produtos resultantes do metabolismo celular e a danos espontâneos no ADN. As translocações, inserções e deleções, conhecidas como rearranjos cromossómicos, são eventos frequentes e prematuros no processo da linfomagénesis, sendo os mecanismos endogénicos envolvidos na diversificação do recetor do antigénio, importantes na simplificação destes rearranjos.³⁹

No linfoma canino, a trissomia do cromossoma 13 foi associada a uma vantagem no prognóstico ao ser verificada uma maior duração da primeira remissão e um aumento do tempo de sobrevivência.^{4,40,41}

A comunicação entre o sistema imunitário e as células cancerígenas⁸ e as anomalias (de origem hereditária ou adquirida) na reparação dos danos do ADN, que estão na origem das mutações, têm um papel importante na tumorigénese³⁹. No caso específico do linfoma, a ativação do fator nuclear Kappa B (NF-κB), pertencente aos fatores de transcrição (principais reguladores do desenvolvimento, proliferação e sobrevivência das células B) promove a linfomagénesis e a resistência ao tratamento ao impossibilitar a apoptose.^{42,43}

Existem diferentes predisposições raciais e padrões mutacionais, no caso do linfoma, consoante o tipo de células afetadas.^{13,44} No linfoma do tipo T, o padrão mutacional é diferente de acordo com a raça, uma vez que, para diferentes raças com a mesma predisposição para o desenvolvimento deste tipo de linfoma, não são afetados os mesmos genes.¹³ No Boxer, sensivelmente 90% dos linfomas são originados a partir das células T e, particularmente nesta raça, o linfoma desenvolve um comportamento mais agressivo quando comparado a outras raças como, por exemplo, o Golden Retriever, que apresenta a mesma incidência tanto para o linfoma de células B como para o linfoma de células T.^{13,44} A predisposição de certas raças para desenvolver, seletivamente, determinados tipos de neoplasias, aponta para a hipótese de que os cães, durante o processo de evolução racial, possam ter adquirido genomas que tornam suscetíveis à transformação maligna, certas células específicas.⁴⁵

3.3. Fatores Imunológicos

O sistema imunitário desempenha um papel fundamental na identificação e eliminação das células tumorais, pelo que, quando estas lhe escapam, geram uma desregulação imunitária, estimulando condições imunológicas promotoras da progressão tumoral e inibindo respostas (inatas e adaptativas) antitumorais.⁴⁶ Esta desregulação do sistema imunológico, associada a um estímulo contínuo por parte dos antigénios, estimula a proliferação dos linfócitos e, por conseguinte, o desenvolvimento de neoplasias, nomeadamente, linfoma.^{47,48}

Os oncogenes são genes que fazem, naturalmente, parte do genoma e que, quando se apresentam alterados ou em sobre-expressão, conduzem à transformação maligna das células. Alguns oncogenes são excessivamente expressos nos linfócitos de pacientes sem neoplasias, mas com várias doenças autoimunes.⁴⁹ Assim, a presença de doenças imunomediadas, que causam defeitos no sistema autoimune, pode culminar no desenvolver de neoplasias, visto que as alterações imunológicas parecem estar associadas a um risco evolutivo mais elevado da doença, na espécie canina, por já ter sido verificada uma ocorrência concomitante entre linfoma e várias doenças imunomediadas como lúpus e pênfigo foliáceo^{47,48}, poliartrite, dermatite atópica^{47,48} e anemia hemolítica imunomediada (AHIM) e trombocitopenia imunomediada.⁴⁹

O uso de fármacos imunossuppressores, como a ciclosporina, também aparece associado ao desenvolvimento de linfoma.⁵⁰ Apesar de serem necessárias mais pesquisas, no sentido de esclarecer não só o risco, mas também a repercussão da ciclosporina na linfomagénese⁵⁰, já foram reportados, em cães, casos de desenvolvimento tumoral após o uso crónico de ciclosporina.⁵¹

O mecanismo exato pelo qual os processos inflamatórios crónicos induzem a linfomagénese ainda não está claro. Porém, a imunossupressão persistente⁵⁰ e a imunossenescência⁵² têm sido associadas ao desenvolvimento de linfoma.

3.4. Fatores Infecciosos

As infeções estão associadas à inflamação e à desregulação imunitária e ambas podem levar à tumorigénese.⁵³

Ainda que a eventualidade de haver uma associação entre o aparecimento de linfoma em simultâneo com certas doenças infecciosas (*Leishmania infantum*, *Anaplasma*

phagocytophilum, *Ehrlichia canis* e *Bartonella henselae*) não tenha sido comprovada ⁵⁴, existem relatos de cães infetados por *Ehrlichia canis* ^{55,56}, *Bartonella spp.* ⁵⁷, *Leishmania spp.* ^{58,59} e *Heterobilharzia americana* ⁶⁰, com linfoma concomitante.

Ainda não foi comprovado que um retrovírus possa estar envolvido na patogênese do linfoma canino. Foi também investigado um gammaherpesvirus, no âmbito do linfoma canino, o vírus Epstein-Barr (EBV), associado a algumas formas de linfoma humano. ⁴ Apesar da hipótese de que os cães podem ser naturalmente infetados com um vírus semelhante ao gammaherpesvirus EBV (que pode contribuir para a linfomagenese) ter sido suportada por um estudo ⁶¹, outros, inclusive um mais recente, não encontraram indícios serológicos ou moleculares sugestivos da contribuição do vírus no desenvolvimento desta neoplasia em cães. ^{4,6,62}

Existe, em humanos, uma relação direta entre o aparecimento de linfoma gástrico e a infecção por *Helicobacter pylori*. ^{4,63} Ainda que esta mesma associação não tenha sido, até ao momento, definitivamente comprovada na espécie canina, exigindo mais estudos para compreender a influência destes microorganismos na linfomagenese, foi demonstrado, em Beagles, que a infecção experimental por *Helicobacter pylori* deu origem ao aparecimento de um folículo linfóide gástrico que, em humanos, é tido como uma forma precursora de linfoma do tecido linfóide associado à mucosa (MALT). ^{4,64}

4. Sistemas de Classificação

Ao longo do tempo foram vários os sistemas criados para classificar o linfoma canino. Nestes incluem-se *Rappaport*, *Lukes and Collins*, *National Cancer Institute Working Formulation* (NCI-WF) e *Kiel-Lennert*. Todavia, são sistemas que apresentam algumas limitações, especialmente quando se trata da capacidade demonstrada para serem reproduzidos consistentemente. ^{11,65}

A classificação original de Kiel foi revista, surgindo uma versão atualizada que se mostrou aplicável aos linfomas malignos caninos e a sua utilidade prognóstica foi documentada por vários estudos ¹¹, juntamente com o sistema NCI-WF ⁴. Em ambos estes sistemas, os tumores podem ser categorizados como sendo de baixo grau, grau intermédio ou de alto grau. ⁴

Uma das críticas direcionadas ao sistema de Kiel e ao NCI-WF foi a não consideração dos linfomas extranodais enquanto categoria isolada. ^{4,11} Assim, foi criado

o *International Lymphoma Study Group* (ILSG), que sugeriu a *Revised European-American Classification* (REAL).¹¹

Atualmente, o sistema de classificação da OMS (Organização Mundial de Saúde), correspondente a uma atualização da REAL^{11,66,67}, é considerado o sistema mais competente, com uma taxa de precisão de 83%⁶⁸. Valli *et al.*, 2011 afirma que até mesmo os patologistas veterinários, sem especialização em hematopatologia, conseguem obter grande rigor na classificação do linfoma canino recorrendo ao sistema da OMS.^{11,68} Este último, ajustado à espécie canina, classifica o linfoma atendendo à localização, morfologia do tumor (com base na citologia e histologia) e particularidades genéticas, moleculares, clínicas e do imunofenótipo^{11,66,67}, sendo a categorização histológica baseada na arquitetura tumoral (difusa ou nodular/folicular), no tamanho, forma e características do citoplasma e núcleo das células malignas, assim como no seu índice mitótico.⁶⁶ Neste sistema, cada subtipo de linfoma é classificado como uma doença distinta⁴, o que se mostra fundamental no sentido de conseguir relacionar as diferentes categorias com o comportamento biológico do tumor, a resposta à terapêutica instituída e, conseqüentemente, o prognóstico.^{69,70,71} Não obstante, na literatura veterinária, a classificação atualizada de Kiel continua a ser comumente aplicada⁶⁵, principalmente a amostras citológicas⁷², juntamente com a classificação da OMS adaptada à espécie canina, e ambas constituem os sistemas de classificação com maior interesse, baseado nos estudos disponíveis e nos seus níveis de evidência⁶⁵.

Os sistemas de classificação só são considerados relevantes, em contexto clínico, se forem capazes de oferecer informação relativa à resposta ao tratamento, ao manter da remissão e ao tempo de sobrevivência.⁴ Uma correta classificação, que corresponda aos conhecimentos atuais sobre a linfomagenese, assume um papel fundamental na obtenção de eficácia terapêutica. A urgência em obter mais conhecimento nesta área é crucial se considerarmos que o linfoma se tornará a forma mais comum de neoplasia, nas próximas duas décadas.⁷³

4.1. Classificação do Linfoma

Como referido anteriormente, a classificação do linfoma é determinada pela sua sua topografia (tabela 27), características histológicas e imunofenóticas (fenótipo das células B/fenótipo das células T).⁴

4.1.1. Classificação Anatômica

Sendo o linfoma uma das neoplasias frequentemente diagnosticadas no cão, a sua classificação segundo a localização anatômica dos órgãos afetados revela-se muito útil.⁷⁴ A forma multicêntrica é a mais prevalente, seguindo-se a gastrointestinal (GI), a mediastinal e a cutânea.⁴ Por sua vez, as formas extranodais primárias, ainda que menos frequentes⁷⁵, podem manifestar-se em qualquer parte do corpo externa ao sistema linfático (a nível ocular, da pele, sistema nervoso central (SNC), medula óssea, cavidade nasal, coração e bexiga).⁴

A forma anatômica multicêntrica, por ser o âmbito deste trabalho, será abordada mais à frente, com mais detalhe.

A forma alimentar constitui 5% a 7% de todos os linfomas em cães^{4,76}, constituindo a forma extranodal mais frequente⁷⁷ e, apesar de haver relatos que indicam que afeta mais machos do que fêmeas⁷⁶, essa informação ainda não está comprovada⁷⁸. O linfoma GI pode surgir como uma lesão focal (apesar de, geralmente, afetar múltiplos segmentos intestinais, sob a forma de úlceras na mucosa, parede espessada e lúmen comprimido), multifocal ou difusa.^{4,18} A nível histológico, os linfócitos neoplásicos infiltram-se a meio da mucosa e da submucosa, sendo eventualmente possível observar infiltração transmural.⁴ Os linfomas GI são comumente primários e ocorrem, maioritariamente, do mais para menos frequente, a nível do intestino delgado, estômago e cólon⁷⁶, podendo ocorrer envolvimento secundário do fígado e dos linfonodos regionais. De acordo com estudos recentes, a maior parte dos linfomas GI no cão é originada a partir de células T⁷⁷, apresentando epiteliotropismo.^{4,77}

A forma mediastínica, mais diagnosticada em animais jovens⁷⁹, corresponde a cerca de 5% de todos os casos de linfoma e apresenta-se principalmente pelo aumento dos linfonodos mediastínicos craniais e/ou do timo. A maioria das formas mediastínicas relatadas no cão apresentam o fenótipo das células T⁸⁰ e a hipercalcemia ocorre mais frequentemente neste tipo de apresentação.⁴

O linfoma cutâneo no cão tem uma maior incidência em animais de idade avançada, mais precisamente entre os nove e os onze anos⁸¹, é classificado como epiteliotrópico ou não epiteliotrópico e apresenta-se, na maioria das vezes, como um linfoma de células T^{4,81}.¹⁸ A apresentação mais frequente é a epiteliotrópica, também

conhecida como micose fungoides ^{4,18,82}, e é reconhecida por apresentar epiteliotropismo, para a epiderme e estruturas anexas, de infiltrados celulares do tipo T. ^{82,83}

Tabela 27 – Classificação clínica do linfoma em animais de companhia, segundo a OMS (Adaptado de Vail *et al.*, 2020). ⁴

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

O linfoma extranodal é pouco frequente (3% das ocorrências) ^{7,75} e compreende todas as restantes formas, sendo a sintomatologia associada, regra geral, inespecífica ou diretamente relacionada com o órgão afetado. ⁷

4.1.2. Classificação Histopatológica e Imunofenotípica

Como referido anteriormente, de acordo com o sistema mais atualizado da OMS, os linfomas são classificados como sendo de baixo, intermédio ou alto grau de malignidade e o tempo de sobrevivência do paciente varia consoante este grau. ⁶⁸

O índice mitótico é fundamental para obter um diagnóstico específico e a forma mais eficiente de o determinar é através da secção histológica. ⁶⁸ Aproximadamente 85% dos linfomas caninos são de alto grau de malignidade, com arquitetura difusa ou quase difusa, e cerca de 10% são tumores de baixo grau, com arquitetura difusa, composta por células pequenas. O restante valor compreende tumores foliculares/nodulares. ⁸⁴

Portanto, grande parte dos linfomas caninos são de alto grau, agressivos, associados a um curto tempo de sobrevivência médio (TSM), constituídos por células grandes e de elevada atividade mitótica. No entanto, são mais prováveis de ter uma resposta positiva ao protocolo quimioterápico instituído.^{4,85}

Já os linfomas de baixo grau (5,3–29% dos linfomas caninos) são constituídos por células pequenas, com índice mitótico inferior, comportamento biológico indolente e respondem de forma incompleta à quimioterapia. Por outro lado, possuem um TSM mais longo, contudo, não têm cura.^{4,85}

Apesar de o linfoma de alto grau alcançar, mais frequentemente, de acordo com a maior parte dos estudos, uma resposta completa ao protocolo quimioterápico quando comparado com o baixo grau, neste último, ao usufruírem de tempos de sobrevivência maiores, os cães podem não precisar necessariamente de serem sujeitos a quimioterapia agressiva.⁴ No entanto, sendo o seu progresso lento, normalmente só causam sintomatologia quando já se encontram em estádios avançados.^{21,68} Estes sintomas mais tardios e agressivos são mais característicos dos linfomas de células T e, quando detetados, o prognóstico é mau.²¹

O estado mitótico e os níveis de proliferação celular não são iguais na totalidade dos subtipos de linfoma. Por conseguinte, o agente quimioterápico escolhido deve ter em conta o subtipo de linfoma e os diferentes estados mitóticos que o mesmo apresentar, razão pela qual se torna fundamental o diagnóstico definitivo do subtipo em questão.⁶⁸

Comparativamente a pacientes diagnosticados com linfoma do tipo B de alto grau, os cães que apresentam igualmente linfoma de alto grau, mas de células T exibem uma taxa de resposta ao tratamento, com o protocolo quimioterápico CHOP, reduzida, assim como uma menor duração da remissão e um TSM mais curto⁸⁶ (os subtipos de baixo grau de fenótipo T são exceção).^{4,87} Assim, apresentando maior agressividade, os linfomas de células T implicam um risco mais elevado de recaída e morte precoce⁹, razão pela qual costumam representar pior prognóstico para os cães afetados, quando comparados a cães com linfoma de células B.^{9,88} Além disso, são mais comumente associados a hipercalcemia, sendo que 35%-55% dos cães com linfoma das células T desenvolve hipercalcemia.^{4,89}

Enumerados segundo a ordem relativa de frequência, os subtipos de linfoma mais comumente encontrados são: o linfoma difuso de células B grandes (LDCBG), o

linfoma periférico das células T, o linfoma da zona T, o linfoma linfoblástico T e o linfoma da zona marginal.^{4,66,68} O LDCBG, um tumor de alto grau de malignidade, para além de ser o mais comum^{4,66}, é também histologicamente compatível com o LDCBG humano.^{9,13}

Fenotipicamente, o linfoma pode ser designado por linfoma de células B ou de células T.⁸⁸ A imunofenotipagem permite não só diferenciar os linfócitos B dos T, como também distinguir doença linfoproliferativa reativa de doença linfoproliferativa neoplásica.⁹⁰

Na literatura veterinária, aproximadamente 60% a 80% dos linfomas em cães são originados nas células B⁹, 10% a 38% são linfomas do tipo T⁹¹, cerca de 22% são simultaneamente de células B e T e apenas 5% dos pacientes evidenciam linfoma nulo, ou seja, sem reação com os anticorpos para células B nem T.⁴

As técnicas através das quais pode ser feita a classificação imunofenotípica incluem a imunocitoquímica, imunohistoquímica, reação em cadeia da polimerase (PCR) para clonalidade ou a citometria de fluxo (CF).³⁰ No entanto, a imunofenotipagem será abordada mais detalhadamente no âmbito das técnicas de diagnóstico molecular, para diagnóstico do linfoma.

5. Apresentação Clínica

O sinal clínico mais recorrentemente observado é linfadenomegalia generalizada⁷ (definida como o aumento anormal de mais que dois linfonodos superficiais, não contíguos, e/ou linfonodos viscerais) que, quando presente, normalmente é indicativa de doença sistémica⁹². Contudo, a apresentação clínica do linfoma pode variar bastante consoante a sua localização anatómica e extensão⁷, sendo que os sinais clínicos associados ao linfoma também vão depender da existência ou não de infiltração das células neoplásicas noutros órgãos⁵. Apresentações menos frequentes compreendem casos confinados ao baço ou que afetem tanto o baço como o fígado.⁷

5.1. Forma Multicêntrica

O linfoma multicêntrico constitui a apresentação mais comum, ao representar mais de 80% dos linfomas caninos³⁰ (dos quais 60% a 80% dos casos são de células B)⁹, e é caracterizado por uma linfadenomegalia superficial generalizada, indolor^{18,91} e

simétrica, na maioria dos casos. ⁴ Com a evolução da doença pode surgir hepatoesplenomegalia e envolvimento da medula óssea ⁹¹, juntamente com a linfadenopatia generalizada. ^{4,5,18}

Apesar da maioria dos animais apresentar linfadenomegalia sem que haja sintomatologia associada, no momento da consulta, estima-se que 80% dos mesmos já se encontrem em estádios mais avançados (III-IV) e subestádio *a* (desprovido de sinais clínicos sistêmicos). ^{4,7} Quando existem sinais clínicos, estes tendem a ser inespecíficos incluindo letargia, diarreia, perda de peso, anorexia, febre, vômitos, ascite, poliúria e polidipsia (particularmente em cães com hipercalcemia paraneoplásica) ^{7,30,75} e dispneia, sendo que a probabilidade de se manifestarem é maior em cães com linfoma das células T. ⁴ Há ainda animais que, para além da dispneia, apresentam tosse devido à compressão das vias respiratórias resultante da linfadenomegalia. O aumento dos linfonodos pode também comprometer o retorno venoso e obstruir a drenagem linfática (síndrome da veia cava), com consequente aparecimento de edema da cabeça. ^{2,30} Aproximadamente 27% a 34% dos cães podem ainda apresentar infiltração pulmonar difusa, visível por radiografia. ⁴

Em casos com infiltração tumoral da medula óssea (mieloptise), implicando um estágio V, anemia paraneoplásica, trombocitopenia ou neutropenia, podem surgir secundariamente febre, sépsis, anemia e hemorragias. ^{4,75}

6. Síndromes Paraneoplásicas

Consistem em síndromes paraneoplásicas as alterações estruturais e/ou funcionais relacionadas com a presença de uma neoplasia, que não apresentam uma relação direta com o tumor primário ou com as respetivas metástases, ocorrendo afastadas do tumor. Tratam-se de síndromes que estão associadas ao grau de malignidade tumoral, sendo várias as situações em que uma terapêutica bem-sucedida da neoplasia culmina na resolução das síndromes paraneoplásicas. Da mesma forma, a sua recorrência pode sinalizar a recidiva do tumor mesmo antes desta ser clinicamente detetada. Muitas vezes, podem ser um indicador do estado da doença e correspondem, com regularidade, ao primeiro sinal de malignidade, sendo que, dada a sua especificidade, podem gerar a suspeita de determinados tipos histológicos. As síndromes paraneoplásicas podem também causar uma morbidade maior do que a derivada do tumor em causa. ⁸⁹

As neoplasias que afetem direta ou indiretamente a eritropoiese podem resultar em anemias não regenerativas, quando as células tumorais se infiltram na medula e substituem o tecido hematopoiético normal (mieloptise), situação observada mais frequentemente em tumores hematopoiéticos.⁸⁹ No linfoma, a síndrome paraneoplásica manifestada com maior frequência é a anemia.^{4,93} Esta alteração hematológica encontra-se presente, no momento do diagnóstico, aproximadamente em 30% a 43% dos cães com linfoma⁸⁹ e, geralmente, é normocrômica e normocítica (consistente com anemia de doença crônica)⁴, sendo que anemias mais graves surgem associadas a menores TSM.⁹⁴

A hipercalcemia é outra síndrome paraneoplásica comum e aparece em cerca de 10 a 40% destes pacientes.^{4,95} Clinicamente, é caracterizada por náuseas, vômitos, desidratação, anorexia, letargia, poliúria/polidipsia, perda de peso, fraqueza músculo-esquelética e, menos frequentemente, por depressão do SNC e coma, podendo mostrar-se altamente incapacitante.^{4,7,89} Para além de parecer estar associada à produção de um péptido relacionado com a hormona da paratiróide (PTHrP), que estimula os osteoclastos na reabsorção óssea⁸⁹ e que é gerado a partir das células neoplásicas^{4,7,95}, a hipercalcemia secundária ao linfoma pode também estar relacionada com outros fatores humorais, nomeadamente o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina 1 (IL-1) e o calcitriol.^{4,89} Outras síndromes paraneoplásicas que podem estar associadas ao linfoma incluem a gamopatia monoclonal (elevação da quantidade de proteínas monoclonais geradas por plasmócitos anómalos)⁹⁶, neuropatias e caquexia.^{4,7,89}

Os glucocorticóides podem induzir, rapidamente, a redução dos níveis séricos de cálcio, no entanto é muito importante que a causa primária da hipercalcemia seja conhecida, antes de qualquer terapia com esteróides, nomeadamente quando a origem da hipercalcemia é a existência de linfoma. Isto porque o uso precoce de glucocorticóides interfere com a confirmação do diagnóstico tornando necessária a sua interrupção de modo a que os sinais da neoplasia se tornem de novo evidentes. Além do mais, o uso de esteróides pode induzir a resistência a outros agentes quimioterápicos, diminuindo a possibilidade de atingir uma remissão completa e um TSM mais longo.⁸⁹

7. Diagnósticos Diferenciais

No diagnóstico, devem ser sempre consideradas outras condições médicas que se possam confundir com o linfoma, por alguma particularidade semelhante. No que ao

linfoma multicêntrico diz respeito, os diagnósticos diferenciais de linfadenopatia dependem do tamanho, consistência e localização dos linfonodos afetados, assim como o histórico de viagem do animal (pela possibilidade de ter viajado até zonas endêmicas para determinadas doenças infecciosas)⁹².⁴ Para além do linfoma multicêntrico, outras causas de linfadenopatia incluem, então, doenças infecciosas bacterianas, virais, protozoárias (*Toxoplasma* sp., *Leishmania* sp.) fúngicas (*Blastomyces* e *Histoplasma* sp.) e rickettsiais (*Ehrlichia* sp.), sendo que as fúngicas podem ser acompanhadas de hipercalcemia, o que dificulta ainda mais a sua distinção do linfoma. Em caso de linfadenite (por infeções supurativas, eosinofílicas, histiocíticas e/ou piogranulomatosas), os linfonodos encontram-se normalmente suaves e quentes, sendo a sua palpação associada a desconforto.^{4,75,92} Doenças imunomediadas como pênfigos, lúpus eritematoso sistémico, poliartrite, dermatopatias e vasculite são também diagnósticos diferenciais, assim como hiperplasia reativa dos linfonodos, por poderem resultar num aumento dos mesmos.^{2,4,75} Por outro lado, linfonodos discretos, mas duros à palpação, assimétricos e principalmente aderidos aos tecidos adjacentes, podem advir de neoplasias com metastização linfática (por exemplo, mastocitoma ou carcinoma). A leucemia, a histiocitose maligna ou sistémica e o mieloma múltiplo fazem, igualmente, parte da lista de diagnósticos diferenciais do linfoma multicêntrico canino.^{2,4} À semelhança das doenças fúngicas, também o mieloma múltiplo, a leucemia e o adenocarcinoma das glândulas apócrinas dos sacos anais podem ser acompanhados de hipercalcemia, dificultando o diagnóstico definitivo de linfoma.^{4,89}

8. Diagnóstico

A figura 1 ilustra um resumo das devidas diretrizes a serem seguidas quando um cão se apresenta à consulta com linfadenopatia generalizada. Em pacientes suspeitos de apresentarem linfoma, a avaliação diagnóstica deve abranger: anamnese completa, incluindo o contexto epidemiológico e histórico de viagens, exame físico e hemograma completos, análises bioquímicas (que incluam cálcio ionizado)⁷⁵, citologia e/ou histopatologia dos órgãos/tecidos afetados, urianálise e técnicas de imagem como radiografia torácica (três projeções) e ecografia.

Técnicas laboratoriais mais avançadas, como citometria de fluxo e testes de clonalidade, têm especial utilidade para confirmação do diagnóstico e para fins de estadiamento ^{30, 2,4,97}. Normalmente, o diagnóstico pode ser estabelecido pela análise citológica de uma amostra recolhida a partir dos linfonodos alterados ou de outra massa, através da sua punção aspirativa com agulha fina (PAAF).

No entanto, por vezes, para confirmação, pode ser necessário recorrer à biópsia (incisional ou excisional) do linfonodo para análise histopatológica ², sendo que, nesse caso, a linfadenectomia, ao invés de biópsia incisional, é a técnica preferível ⁹². A posterior confirmação do diagnóstico vai depender das características morfológicas identificadas, tanto na análise citológica como na histopatológica. ⁷¹

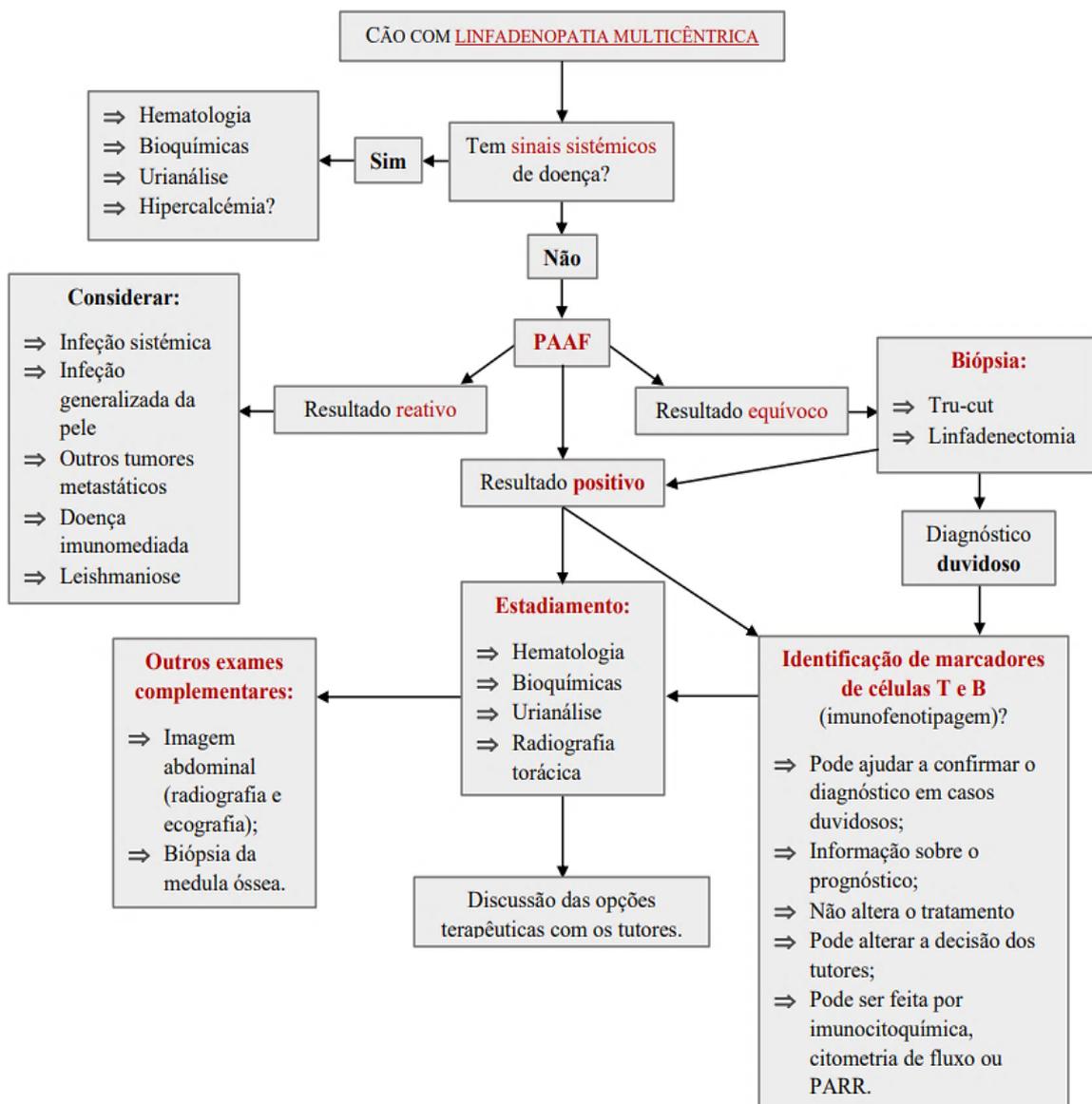


Figura 1 - Árvore de decisão diagnóstica: linfoma canino (Adaptado de Turek *et al.*, 2008) ².

Ultimamente, para chegar a um diagnóstico mais fidedigno, têm sido utilizados vários testes adicionais, possibilitando a classificação do linfoma para fins de prognóstico. Fazem parte desses testes a imunocitoquímica, imunohistoquímica, CF e PCR que, não possuindo por si só 100% de sensibilidade e/ou especificidade, normalmente, exigem o recurso a dois ou mais testes, de forma a serem garantidos um diagnóstico e um prognóstico precisos.⁷¹

8.1. Exame Físico

Previamente à realização do exame físico é fundamental obter uma anamnese o mais detalhada possível e que inclua, nomeadamente, informações relativas a doenças ou imunizações prévias, medicações recentes, duração e gravidade dos sinais clínicos e, como já referido anteriormente, realização de viagens a locais endémicos para certas doenças infecciosas, bem como exposição a possíveis agentes infecciosos.⁹²

Depois de recolhida toda a informação, deve ser iniciado um exame físico minucioso, metódico e completo.⁴ Este deve incluir a palpação cuidada dos linfonodos, sendo que os linfonodos normalmente acessíveis, em cães saudáveis, incluem os mandibulares, pré-escapulares, inguinais e poplíteos e, se doentes, podem-se tornar também palpáveis os faciais, retrofaríngeos, axilares, mesentéricos e sacrais.⁹² A localização e o tamanho dos linfonodos afetados são parâmetros que devem ser avaliados, recorrendo a uma medição precisa, para que, posteriormente, esta sirva de controlo no acompanhamento da evolução do tamanho.⁹⁸ A palpação retal também se mostra essencial, visto que a existência de pólipos retais é consistente com agregados de linfócitos neoplásicos.⁴

A cor e a presença ou ausência de sinais indicativos de anomalias na coagulação são parâmetros que devem ser inspecionados nas mucosas, sendo relevantes a palidez, icterícia, petéquias e ulceração, possivelmente indicativas não só de anemia ou trombocitopenia secundária a doença imunomediada ou mieloptise, mas também de falha orgânica ou urémia.^{4,75}

Também a palpação abdominal exhibe grande relevância, neste contexto, uma vez que nos pode indicar a existência e o grau de organomegalia (hepática e esplénica), o espessamento da parede intestinal (se marcado) e/ou linfadenopatia mesentérica.^{4,75}

Através da auscultação podemos suspeitar de envolvimento torácico por existir efusão pleural, massa mediastínica ou ambas. ^{4,75}

A observação do fundo do olho, como procedimento integrante do exame oftalmológico, deve ser realizada, havendo a possibilidade de expor a existência de infiltração ocular, hemorragia da retina, glaucoma e uveíte. Estas alterações oculares encontram-se em cerca de um terço a metade da população canina com linfoma multicêntrico ^{4,75} e são atribuídas à infiltração perivascular por parte das células neoplásicas ⁹⁹.

8.2. Hematologia, Análise Bioquímica e Urianálise

Todos os cães com linfoma e cujos tutores consideram o tratamento, devem realizar hemograma, bioquímicas séricas e urianálise, uma vez que, apesar de não serem diagnósticos, podem ajudar na decisão, mesmo que as alterações se possam revelar muito inespecíficas. ³⁰

O hemograma é indispensável, em casos confirmados de linfoma, por auxiliar no estadiamento da doença e por permitir um registo dos parâmetros hematológicos iniciais, a partir dos quais é possível realizar comparações com os resultados subsequentes. Além disso, permite fazer uma avaliação do grau de imunossupressão causado pela terapêutica instituída. ⁹¹

As alterações verificadas no hemograma são consequência da infiltração medular e esplénica por parte das células tumorais, do carácter crónico da doença ou de alterações paraneoplásicas imunomediadas. ^{30,100} Como referido anteriormente, a anemia é a alteração hematológica mais associada à forma multicêntrica e, apesar de habitualmente ser não regenerativa, pode também advir de uma hemorragia ou anemia hemolítica ⁴, sendo que as anemias regenerativas podem refletir a ocorrência de hemorragia ou hemólise concomitantes ^{4,75}. Nos cães com anemia ou com indícios de hemorragia deve ser realizada a contagem de reticulócitos, adicionalmente à de plaquetas, bem como provas de coagulação. ⁴

Cerca de 30% a 50% dos cães com linfoma apresentam trombocitopenia ⁴, sendo o risco de a desenvolver maior em pacientes com esta neoplasia ¹⁰¹, com uma prevalência de 71% em linfomas de células T (onde é mais severa) e de 22% em linfomas de células B. ¹⁰² Também 25% a 40% dos cães com linfoma têm neutrofilia e cerca de 20% exibem

linfocitose.⁴ A anemia pode surgir acompanhada por trombocitopenia e leucopenia quando já existe uma mieloptose acentuada. A circulação de linfócitos atípicos também pode indicar o comprometimento medular ou leucemia^{4,75}, sendo importante distinguir a etiologia dos linfócitos atípicos (linfoma multicêntrico em estadios V ou leucemia) uma vez que o prognóstico é distinto consoante o caso.⁴ Em cães em estadios V, a anemia pode estar presente em 85% dos casos.¹⁰² No entanto, a ausência de alterações hematológicas não exclui que já exista envolvimento medular e, apesar de não ser muito comum na prática clínica, a avaliação da medula óssea deve ser incluída tanto no diagnóstico como no estadiamento do linfoma multicêntrico canino.¹⁰³

As manifestações bioquímicas refletem, geralmente, a localização anatômica envolvida, as síndromes paraneoplásicas associadas (p. ex., hipercalcemia)⁴ e surgem devido às substâncias produzidas pelas células neoplásicas (libertação de citocinas) ou aos danos causados nos órgãos, consequentes à infiltração tumoral¹⁰⁰. Assim, a análise dos parâmetros bioquímicos deve abranger ureia, creatinina, ALT, ALP, eletrólitos e eletroforese de proteínas séricas (em cães com elevada concentração de proteínas totais)^{4,91}. É possível que o aumento das concentrações de ureia e creatinina seja indicativo, não só de infiltração tumoral a nível renal e de nefrose hipercalcêmica, como também de azotemia pré-renal, por desidratação.⁴ Assim como pode haver suspeita de infiltração neoplásica do parênquima hepático, quando se verifica elevação dos valores relativos às enzimas hepáticas específicas e à bilirrubina.⁷⁵

A quantificação de eletrólitos é aconselhada para diagnosticar hipercalcemia, sendo recomendada a mensuração do cálcio ionizado, uma vez que a sua concentração pode encontrar-se aumentada mesmo que a do cálcio plasmático esteja normal.⁴ Se a hipercalcemia for de origem desconhecida, o linfoma deve ser uma opção do topo da lista de DDx. O nível de hipercalcemia constitui um indicador útil para avaliar a resposta à terapêutica estabelecida, em casos já diagnosticados e em tratamento.^{4,75}

Como referido acima, nos pacientes em que se verifique um aumento das proteínas totais ou um aumento na concentração das globulinas séricas, deve proceder-se à eletroforese das proteínas séricas para identificar gamopatia monoclonal. A maior concentração de globulinas séricas, geralmente monoclonais, raramente ocorre em linfomas do tipo B.^{4,75} A gamopatia monoclonal constitui então uma alteração

hematológica que, apesar de poder surgir nos casos de linfoma, representa apenas uma ocorrência de 6%.⁴

Cães diagnosticados com linfoma apresentam também um aumento da atividade da lactato desidrogenase (LDH), sendo igualmente importante avaliar os níveis séricos desta enzima.¹⁰⁴

Por último, a urianálise completa o painel de análises mínimas e possibilita a avaliação da função renal e do trato urinário, podendo conduzir ou não à suspeita de envolvimento do sistema urinário. Contudo, variações na análise da urina não implicam, forçosamente, que haja afeção renal. Enquanto que um cão com proteinúria e isostenúria, sem cristalúria ou sinais de infeção, pode apresentar doença renal, outro que exiba hipercalcemia em simultâneo com isostenúria, não tem de ter obrigatoriamente doença renal, uma vez que o nível elevado de cálcio perturba a aptidão de concentração por parte dos túbulos renais, por comprometimento da resposta à hormona antidiurética (ADH).⁴ Ainda assim, quando a concentração de cálcio é elevada, deve ser tido em consideração o risco de calcificação renal com conseqüente falha orgânica.⁴ Por outro lado, a densidade urinária deve ser avaliada com o intuito de classificar a azotémia e de verificar a capacidade de concentração. Como resultado do estímulo imunitário desencadeado pelo tumor pode, eventualmente, advir tanto proteinúria como glomerulonefrite.⁷⁴

8.3. Avaliação Citológica

Na presença de um cão com linfadenomegalia devemos ponderar possíveis DDx, destacando-se a hiperplasia reativa, linfadenite, linfoma e neoplasia metastática.^{66,105} Para além do painel de análises falado anteriormente, a citologia dos linfonodos aumentados mostra-se crucial. Os linfonodos normais são compostos por uma população linfóide heterogênea, com predominância dos linfócitos pequenos e maduros (90%-95%). Menos de 5% das restantes células são linfócitos grandes.⁹² Normalmente, a citologia dos linfonodos é realizada para avaliar a natureza neoplásica, ou não, da linfadenomegalia¹⁰⁵, sendo uma prática comum em medicina veterinária, feita com recurso à punção aspirativa com agulha fina (PAAF) dos locais lesionados (figura 2).¹⁰⁶

Os linfonodos preferíveis para PAAF são os poplíteos e os pré-escapulares. A não ser que sejam os únicos aumentados, os linfonodos mandibulares não devem ser analisados recorrendo à PAAF, uma vez que drenam áreas muito reativas.⁴

A PAAF é o procedimento mais realizado como método de diagnóstico de primeira linha do linfoma ^{4,84}, por ser minimamente invasiva, bem aceita pelos tutores, segura, de custo reduzido e fácil execução ^{66,98,107}. Não obstante, durante o procedimento, é necessária alguma prudência, especialmente no que à força com que se efetua a aspiração celular diz respeito, bem como, de seguida, na técnica de preparação do esfregaço, dado que os linfócitos são células frágeis. ⁴

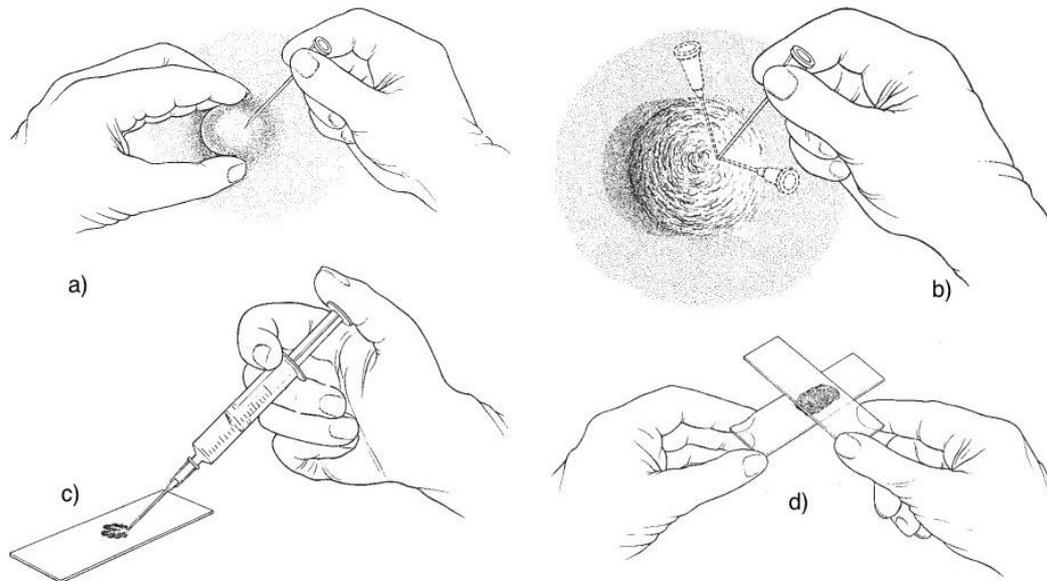


Figura 2 - Esquema representativo da técnica de PAAF (Adaptado de Morris & Dobson, 2001)¹¹⁰: a) Localizar a massa/linfonodo, fixando-a com uma mão; b) com a outra, inserir a agulha fina (23 Gauge, normalmente) e redirecioná-la algumas vezes; c) preencher a seringa com ar, acoplar à agulha e expelir a amostra para uma lâmina; d) preparar o esfregaço.

A PAAF representa um procedimento bastante sensível e específico sendo que, mais de 80% dos diagnósticos de linfoma canino revelam infiltrações, de um ou mais linfonodos, por células neoplásicas grandes. ⁶⁶ Estima-se que, quando se obtém um diagnóstico citológico positivo para neoplasia, a probabilidade de se verificarem características de malignidade é superior a 90%, comprovando a elevada especificidade do exame citológico. ¹⁰⁵

Nos cães diagnosticados com linfoma, para além de obter um diagnóstico final (nomeadamente o subtipo específico), a citologia também pode ser realizada com o objetivo de conseguir uma amostragem mais representativa do linfonodo, para posterior biópsia excisional e análise histopatológica, de estadiar a afeção ou monitorizar a sua evolução. ¹⁰⁷

Num exame citológico, a primeira coisa a fazer é diferenciar células normais de tumorais, seguindo-se a sua classificação.¹⁰⁸ A classificação morfológica usada é baseada no tamanho das células (pequeno, médio, grande), na configuração do núcleo, na densidade e estrutura da cromatina, no tamanho e distribuição dos nucléolos, na extensão e basofilia do citoplasma e no índice mitótico.¹⁰⁷

Indo ao encontro dos critérios de malignidade citológica (tabela 28), no resultado da aspiração dos linfonodos de um cão com linfoma, constata-se, regra geral, que a maior parte das células da amostra linfóide são de grande dimensão (redondas, com diâmetro superior ao de dois glóbulos vermelhos ou maiores que um neutrófilo), com nucléolo relevante e citoplasma basófilo ou com cromatina fina sem nucléolos evidentes.⁴

Tabela 28 - Critérios de malignidade citológica (Adaptado de WSAVA Rebar & Raskin, 2006 – VIN, 2019).

Critérios de Malignidade	Características Citológicas
Geral	População celular uniforme (pode indicar baixo grau)
Núcleo	Mitoses frequentes e/ou anormais
	Dimensão do núcleo
	Rácio núcleo/citoplasma variável
	Nucléolos múltiplos
	Nucléolos grandes e irregulares
	Padrões densos de cromatina
Citoplasma	Margem do núcleo irregular
	Acentuada basofilia
Estrutura	Vacuolização
	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.

O diagnóstico de linfoma, através da citologia, é estabelecido pela percentagem de células neoplásicas contidas na amostra sendo que, normalmente, tratam-se de células blásticas imaturas, em processo de diferenciação.¹⁰⁷ Dado que a população de células que compõem o linfoma pode ser morfológicamente semelhante (monomórfica) ou de morfologia distinta (pleomórfica), este critério torna-se pouco apropriado para a

categorização do linfoma.¹⁰⁷ Existem, contudo, autores que afirmam que podemos estar perante um linfoma quando prevalece uma população celular linfóide homogénea e na forma imatura.^{4,75}

Uma vez que os linfomas caninos são, na sua maioria, difusos e compostos por células de tamanho intermédio a grande, a avaliação citológica pode ser suficiente, apesar do *gold standard* no diagnóstico do linfoma humano ser a histopatologia.¹⁰⁹ Ainda assim, existem determinadas limitações no exame citológico como, por exemplo, casos de linfoma e hiperplasia reativa acentuada que, causando ambos um maior número de linfócitos grandes, vê-se comprometida a distinção entre um caso e outro. Existem ainda alguns subtipos de linfoma em que predominam os linfócitos intermédios que, apresentando um tamanho idêntico ao dos neutrófilos, tornam igualmente difícil a sua distinção.⁴

Concluindo, a PAAF possui inúmeras vantagens, mas mostra-se insuficiente, por si só, para diagnóstico de determinados subtipos de linfoma.⁶⁶

8.4. Avaliação Histopatológica

Embora, para a imunofenotipagem, não seja obrigatório realizar o exame histopatológico, já que existem métodos de diagnóstico moleculares (imunocitoquímica, CF, testes de clonalidade e análise citogenética)⁶⁶ que podem ser executados recorrendo à PAAF^{84,109}, as secções histológicas permitem uma classificação mais precisa do linfoma, providenciando um diagnóstico definitivo e informação sobre o grau de malignidade^{4,110}, como sendo baixo, intermédio ou alto.^{4,98}

A escolha do procedimento varia conforme o tecido alvo, no entanto, no sentido de obter uma avaliação histopatológica precisa é recomendada a excisão cirúrgica do linfonodo completo (linfadenectomia), incluindo a própria cápsula, de modo a evitar artefactos por atrito ou um tamanho inadequado de amostra, seguindo-se a sua colocação em formalina e envio ao patologista, para posterior análise do linfonodo na sua totalidade.^{4,90} Esta remoção da totalidade do linfonodo permite a análise de toda a sua arquitetura e das áreas afetadas por infiltrações de células tumorais, bem como o desaparecimento de elementos estruturais normais. Tudo isto é particularmente relevante no caso do linfoma, uma vez que a linfadenectomia possibilita o diagnóstico de linfomas de baixo grau e a classificação em subtipos¹⁸, tendo assim relevância prognóstica e

terapêutica e fornecendo um diagnóstico conclusivo na maioria dos casos.^{21,92} Deste modo, deve ser efetuada mesmo que a sua realização necessite de anestesia, seja mais invasiva e de custo mais elevado.²¹ No entanto, as técnicas descritas são a biópsia por agulha, a biópsia por “punch” e as biópsias incisional e excisional^{111,112}, sendo que as biópsias com recurso a agulhas não são as mais apropriadas quando o pretendido é a avaliação da morfologia nodal.⁴

Para além do diagnóstico, a avaliação histológica permite também a previsão do comportamento biológico do tumor, contribuindo para a escolha do tipo e extensão do tratamento a aplicar.¹¹¹ Daí a importância de obter uma quantidade adequada de tecido neoplásico para conseguir alcançar um diagnóstico.¹¹²

Em cães com linfoma, a modificação da arquitetura nodal normal e a disrupção da cápsula articular correspondem a alterações comumente encontradas na análise histopatológica dos linfonodos.^{4,79} Em tipos distintos de proliferações linfocitárias não neoplásicas, os achados encontrados na análise morfológica das células podem ser dúbios (p. ex., inflamações por estímulo antigénico devido a infeções ou doenças autoimunes), o que gera uma sobreposição com a morfologia das células linfóides neoplásicas, sendo esta uma das limitações apontadas à avaliação histopatológica.⁹⁰ Assim, pode surgir a necessidade de usar meios de diagnóstico mais especializados, como as técnicas de diagnóstico molecular^{4,90}, que serão abordadas mais à frente.

À semelhança do que acontece em medicina humana, em medicina veterinária o exame histopatológico dos tecidos afetados é altamente preditivo no que diz respeito ao diagnóstico definitivo de LDCBG.⁶⁶ Contudo, no sentido de obter um diagnóstico o mais fidedigno possível e reduzir a necessidade de possíveis biópsias excisionais¹⁸, o uso da técnica de citometria de fluxo demonstrou ter relevância neste tipo de neoplasia ao permitir o estudo da infiltração neoplásica na medula óssea, linfonodos e sangue periférico¹¹³, podendo ser usada para estadiamento tumoral e ainda na avaliação da doença residual mínima após o tratamento¹¹⁴.

8.5. Imagiologia

A avaliação radiográfica do paciente pode ser pertinente no sentido de perceber a extensão de envolvimento interno existente.⁴ Aproximadamente 60% a 75% dos casos de linfoma multicêntrico exibem alterações radiográficas a nível torácico, muitas das

quais são inespecíficas. ^{115,116} Um terço dos animais surge com infiltração pulmonar (intersticial e/ou alveolar) e dois terços exibem linfadenomegalia a nível torácico (envolvendo os linfonodos esternais e traqueobrônquicos) e aumento do mediastino cranial ^{4,116}. Em 20% dos pacientes com linfoma é ainda detetada linfadenopatia mediastinal cranial, tendo a sua presença significância prognóstica. ^{4,75} À radiografia torácica também pode ser visível efusão pleural e, mais raramente, nódulos e infiltrações brônquicas. ⁴ A radiografia torácica deve constar na lista de exames de diagnóstico mínimos a efetuar, devendo ser feitas três projeções (ventro-dorsal e latero-laterais direita e esquerda). ^{2,91} Não obstante, 51% dos cães afetados podem apresentar uma radiografia torácica normal, razão pela qual esta não deve, por si só, ser utilizada para diagnóstico e estadiamento de linfoma. ^{116,117}

Caso sejam detetados sinais clínicos de afeção abdominal devem ser efetuadas radiografias abdominais, de modo a garantir um estadiamento completo, sendo visível o comprometimento dos linfonodos ilíacos mediais (sublombares) ou mesentéricos, fígado e/ou baço, em cerca de 50% dos pacientes. ^{4,116} Na ausência de sinais clínicos a nível abdominal, em situações típicas de linfoma multicêntrico canino, o recurso à radiografia restringe-se normalmente à torácica, que é pertinente para o prognóstico, contrariamente à abdominal, visto que não se verificam diferenças prognósticas significativas entre cães em estadio III e cães em estadio IV. ^{4,75}

Apesar da citologia, como referido anteriormente, auxiliar na distinção de determinadas afeções a nível dos linfonodos, a sua acessibilidade pode ser condicionada pela localização dos linfonodos afetados, surgindo a ecografia como um exame de auxílio que se mostra importante na deteção e avaliação de linfonodos, principalmente dos mais profundos. A ecografia permite obter informação sobre o tamanho, forma, estrutura interna e vascularização dos linfonodos, sendo que alguns achados ecográficos aparecem associados a malignidade. Assim, quando comparados com os linfonodos normais, os neoplásicos tendem a ser maiores e mais irregulares, de padrão hipoecoico e heterogéneo, com perda de definição da região hilar e vascularização alterada. ¹¹⁸

A ecografia com o uso do modo doppler tem vindo a ser explorada e também apresenta benefícios, quando empregue na avaliação da vascularização dos linfonodos (por intermédio do mapeamento dos sinais de fluxo presentes), sendo que os que apresentam características malignas demonstram um fluxo mais exuberante e maiores

índices de resistência, de pulsatilidade e elasticidade, quando comparados a linfonodos normais. ¹¹⁹ A ecografia pode também revelar-se útil para efeitos de estadiamento, pois alterações na ecogenicidade dos órgãos podem refletir anomalias na sua textura, podendo estas ser resultantes de infiltrações metastáticas. Há também a possibilidade da PAAF e da biópsia por agulha serem realizadas com recurso à ecografia (biópsia ecoguiada) ³⁰, sendo que o uso do modo doppler pode auxiliar na escolha do local mais adequado para o efeito, evitando focos mais anecoicos ou hipoeoicos, que possam ser sugestivos de necrose ou inflamação, assim como zonas altamente vascularizadas, que possam influenciar negativamente a qualidade da amostra aspirada. ¹¹⁹

As modalidades de imagem avançadas têm demonstrado uma utilização crescente na prática clínica veterinária e incluem a tomografia computadorizada (TC), a ressonância magnética (RM), a tomografia por emissão de positrões (PET), a PET/TC e a PET/RM. ⁴ O uso destes diagnósticos imagiológicos mais avançados permite analisar, com elevada precisão, a localização anatómica tumoral, bem como as diferenças dos tecidos na resposta à terapêutica médica. ¹²⁰

A TC tem a vantagem de ser bastante sensível no que à deteção de pequenos tumores ou metástases diz respeito, sendo comumente usada para planeamento cirúrgico ou radioterapia. No entanto, não só implica uma grande exposição, do animal, à radiação ionizante, como também um custo elevado. Já a RM tem o benefício de utilizar campos magnéticos de elevada potência, ao invés da exposição à radiação ionizante, constituindo um exame excelente para diferenciação de tecido mole, mas mais demorado e dispendioso, quando comparado à TC. ⁵

Em medicina humana, o exame PET é utilizado no diagnóstico de LNH, por ser mais específico e sensível na deteção do envolvimento de neoplasias nodais e extranodais. No entanto, em medicina veterinária, devido a fatores como o custo elevado e disponibilidade limitada de equipamento e radioisótopo, o PET ainda não faz parte dos protocolos de estadiamento do linfoma. ⁹⁸ Este exame baseia-se no princípio de que os tumores malignos fazem uma maior absorção de glicose que os tecidos saudáveis ⁹⁸, sendo por isso usado um análogo da glicose, principalmente o 18F-Fluorodeoxiglicose (FDG), como biomarcador metabólico. ¹²⁰ Assim, é possível identificar a presença de lesões malignas, com recurso ao FDG-PET, por este detetar o metabolismo da glucose que lhes está associado, antes de serem visíveis alterações anatómicas. ¹²¹ Também o

fluorotimidina F-18 (FLT), outro biomarcador, análogo da timidina, é usado no PET, pela sua capacidade de acumulação nos tecidos proliferativos, categoria onde estão incluídos os tumores malignos.¹²⁰ Em cães com linfoma, acresce à precisão da imagem anatômica e funcional obtida, a utilidade do FLT-PET/TC na avaliação da resposta à quimioterapia citotóxica e previsão da recaída, prévia à confirmação clínica.^{4,120} Assim, ambos os biomarcadores moleculares são convenientes no estadiamento, avaliação da resposta à terapêutica instituída, detecção da recorrência tumoral e previsão de recidivas.^{4,120,121}

No que diz respeito ao diagnóstico tumoral, ao constituir uma técnica com maior sensibilidade que a radiografia, a ecografia e a RM, o PET/TC melhora a caracterização de lesões equívocas, o que se verifica imprescindível no sucesso do estadiamento e escolha do tratamento.¹²¹

8.6. Técnicas de Diagnóstico Molecular

Linfonodos, tecidos, efusões, células de sangue periférico e outro tipo de amostras podem ser analisados recorrendo a técnicas moleculares como citoquímica, histoquímica, imunocitoquímica, imunohistoquímica, CF, PCR e técnicas citogenéticas.^{4,66,122} A necessidade de recorrer a estas técnicas justifica-se, sobretudo, em situações menos frequentes, em que a sensibilidade na deteção precoce das células malignas presentes entre uma população celular não neoplásica, mediante as avaliações citológicas e histológicas, é limitada para o diagnóstico de linfoma^{75,90} (sendo o diagnóstico inconclusivo, com linfoma e linfocitose reativa na lista de DDx prováveis)⁴.

Ainda assim, apesar de serem usadas como método de diagnóstico complementar de linfoma, as técnicas de diagnóstico molecular são mais aplicadas na caracterização tumoral após o estabelecimento do diagnóstico.^{4,75} Permitem alcançar informações relativas ao tamanho celular, ao subtipo (baixo, intermédio ou elevado grau), ao imunofenótipo (p. ex., células B, T, nulas ou a maior expressão do complexo de histocompatibilidade) e à taxa de proliferação das células tumorais (p. ex., Ki-67, antígeno nuclear de proliferação celular [PCNA], regiões organizadoras nucleolares argirofílicas [AgNOR]). Também a contínua investigação, referente aos marcadores moleculares, possibilita uma maior descoberta e compreensão relativamente ao seu potencial para estabelecer um prognóstico, tanto preditivo como terapêutico.⁷⁵

Apesar de haver uma disponibilidade crescente no que diz respeito à análise genética e molecular em oncologia veterinária, atualmente, apenas a imunofenotipagem e os testes de clonalidade são usados de forma mais rotineira, em cães. ⁴ Estas técnicas moleculares, além de eficientes no diagnóstico, são ainda vantajosas na determinação mais precisa do estadió clínico, na detecção de recidivas e na avaliação da doença residual mínima (DRM). ⁷⁵

8.6.1. Imunofenotipagem

A imunofenotipagem possibilita a determinação do tipo de células linfóides pelas quais o tumor é composto ⁴ e, para além de ter como objetivo diferenciar as populações de células reativas das neoplásicas e neoplasias linfóides de não linfóides ^{90,123}, é também útil na obtenção do prognóstico e na escolha do protocolo terapêutico mais conveniente para cada caso ^{4,88,123,124,125}.

A análise imunofenotípica das células linfóides torna possível a identificação de combinações de múltiplos marcadores antigénios, existentes na superfície das mesmas, os *clusters of differentiation* (CD). No linfoma canino, os epitópos utilizados na determinação do imunofenótipo são CD79a, CD20, CD21, PAX-5, IgM e IgG (marcadores dos linfócitos B), sendo os quatro primeiros mais comumente usados e CD3, CD4, CD8 e CD5 (marcadores dos linfócitos T), com os primeiros três a serem mais utilizados. ^{18,88} Para tal, é utilizada uma vasta gama de anticorpos específicos que, detetando os CD correspondentes, permitem reconhecer os diferentes tipos celulares (B e T). ^{90,126} A aplicação de anticorpos pode ser feita em amostras citológicas, cortes histológicos ou células individuais em meio fluido, por imunocitoquímica, imunohistoquímica ou CF, respetivamente. ⁴ Todas estas opções apresentam boas correlações. ¹⁸ No entanto, há relatos de que, em alguns casos, as células malignas podem expressar simultaneamente marcadores das células B e T. ⁴ Deve ser considerado, para a mesma linhagem, o uso de múltiplos epitópos, uma vez que a utilização de um único marcador de células T ou B pode não ser suficiente para identificar com precisão a linhagem celular, especialmente em tumores de células B. ¹²⁷

É a identificação exata dos CD nos linfócitos neoplásicos que permite prever a patogénese da afeção, auxiliando, desta forma, na escolha da terapêutica que deve ser realizada. ¹²⁶

O suposto é que as populações de células linfóides reativas (populações policlonais) possuam combinações distintas de marcadores na superfície celular, indicando o fenótipo das células (B ou T) presente dentro da população celular em proliferação.⁹⁰ Já no que às neoplasias linfóides diz respeito, o rearranjo dos genes do recetor do antigénio ocorre antes da transformação, o que resulta na aquisição dos mesmos genes do recetor do antigénio por parte da linhagem das células filhas provenientes do progenitor maligno (população monoclonal).¹²⁴ Assim, quando é detetada uma população de células homogéneas (mesmo imunofenótipo, com marcadores idênticos em todas as células) confirma-se a existência de um processo neoplásico.^{4,90,123,126}

Apesar da grande importância da imunofenotipagem, esta não deve depender apenas da imunohistoquímica. Assim, técnicas mais sensíveis como PCR para deteção do rearranjo dos recetores de antigénios dos linfócitos (PARR), devem ser também efetuadas de modo a aumentar a sensibilidade aquando do diagnóstico de linfoma.^{128,129}

8.6.2. Citometria de Fluxo

O recurso à citometria de fluxo tem-se tornado cada vez mais comum na determinação imunofenotípica do linfoma maligno, em cães.^{130,131} O seu uso crescente deve-se ao facto de se mostrar muito útil na análise e caracterização desta neoplasia linfóide uma vez que, em doenças linfoproliferativas, a identificação de antigénios de superfície ou de citoplasma, por citometria de fluxo, não só auxilia na subclassificação imunofenotípica do linfoma, como permite detetar a expressão de antigénios aberrantes, tendo um importante significado prognóstico^{132,133} (a deteção da expressão de antigénios aberrantes em células B e T está associada a um mau prognóstico)¹²⁶.

Quando comparada a outros métodos, a citometria de fluxo tem a vantagem de poder ser efetuada a partir de células recolhidas por PAAF, evitando o recurso a métodos mais invasivos, caros e que possam necessitar de sedação ou anestesia.¹³³ Além disso, precisa apenas de um pequeno volume de amostra⁶⁶ para obter a mensuração simultânea de uma grande quantidade de células e a análise de múltiplos parâmetros em cada célula individualmente (dimensão, complexidade e características associadas à fluorescência).^{88,130}

A citometria de fluxo permite uma rápida avaliação, quantitativa e qualitativa, da população de células hematopoiéticas, proporcionando a determinação dos linfócitos neoplásicos ¹³⁴, e o seu princípio baseia-se na observação de partículas suspensas num meio líquido em fluxo, quando expostas a uma fonte de luz (laser), analisando a capacidade das células de dispersar a luz. Esta dispersão em ângulo nulo (dispersão direta) e em, sensivelmente, 90 graus (dispersão lateral) possibilita a diferenciação dos distintos tipos de células através da sua granularidade e tamanho. ^{125,135} Consoante o tipo de célula linfóide que estão a marcar, os fluorocromos (substâncias químicas que emitem luz de um comprimento de onda específico, quando estimulados por uma fonte luminosa) ¹³² existentes nos diferentes antígenos são expressos com intensidades distintas, o que permite inferir sobre o grau de diferenciação tumoral. ¹³⁵ Desta forma, dependendo do grau de diferenciação das células neoplásicas, verifica-se a expressão de diferentes antígenos. É possível que a avaliação, em termos quantitativos, da expressão antigénica se revele benéfica na indicação do estado de maturação celular ¹²⁶, ou seja, do estadió de desenvolvimento tumoral. ⁸⁸ Por exemplo, em linfócitos B, a expressão de CD79a e CD20 verifica-se em todos os estadios de maturação, enquanto a expressão de CD21 e imunoglobulinas de superfície (Ig) ocorre apenas em linfócitos B maduros. ⁸⁸

As suspeitas de malignidade provêm, precisamente, de expressões antigénicas anormais, de mudanças na dimensão das células, bem como da perda ou diminuição da expressão de determinados antígenos, em particular (p. ex., CD45). ¹²⁴

A quantificação dos antígenos nos linfócitos é muito importante na determinação da patogénese da doença e na abordagem terapêutica a ser instituída. Por permitir a quantificação de células com baixa expressão antigénica, esta técnica possibilita ainda a deteção, estadiamento e avaliação da DRM. ¹²⁶ A DRM resume-se à identificação de células neoplásicas residuais que, por sobreviverem ao tratamento antitumoral, estão na origem de uma recidiva do tumor. ¹⁰

Comparativamente a outras técnicas de imunofenotipagem, a citometria de fluxo é simples de efetuar e consegue os resultados num curto período de tempo. No entanto, em medicina veterinária, o custo relativo ao equipamento e à técnica, bem como o limitado número de anticorpos disponíveis para a sua aplicação ¹²⁶, dificulta a sua prática em muitos dos laboratórios de diagnóstico veterinários. ⁸⁸

8.6.3. Testes de Clonalidade

A técnica de PCR é muito dispendiosa^{30,126}, razão pela qual surge com maior relevância em casos dúbios, quando os métodos convencionais se mostram insuficientes para o diagnóstico.^{90,136}

O teste de clonalidade baseado na técnica de PCR, utilizado na prática veterinária, é denominado por PARR, como referido anteriormente, e tem tido uma aderência crescente.¹³⁷ A técnica de PARR pode ser realizada com recurso a tecidos fixados em formalina, tecidos embebidos em parafina, sangue, esfregaços secos ao ar, corados ou não, amostras congeladas ou fluidos.^{129,138} Estima-se uma sensibilidade de 72% a 100% e especificidade de 96% a 100%, sendo que estes valores dependem da técnica e dos *primers* (segmentos de ácidos nucleicos) usados¹²⁹, uma vez que existem *primers* de PCR que não reconhecem determinados genes recetores de alguns tumores^{90,136}.

O termo teste de clonalidade refere-se então à deteção de genes únicos que, por um lado, codificam, nas células B, os recetores de antigénio de Ig e, por outro, deleções parciais do recetor das células T (TCR) nas células T.¹³⁶ A clonalidade é uma particularidade dos tumores malignos, sendo que uma população celular maligna advém do expandir de um clone particular, definido por uma região única de ADN.^{4,75} Estes testes verificam a variedade de rearranjos genéticos dos recetores de antigénios linfocitários e contribuem para a distinção entre processos neoplásicos e processos reativos, quando as outras abordagens diagnósticas não são conclusivas^{137,138}, sendo a PARR dispensável em casos comprovados de linfoma.¹³⁶

A técnica começa com o isolamento do ADN das células suspeitas de serem neoplásicas e, posteriormente, são usados os *primers*, iniciadores de PCR, que vão codificar os recetores de antigénio de Ig e TCR, para a deteção e amplificação de genes específicos.¹³⁶ Desta forma, em cães com linfoma de células T, as células tumorais devem possuir, na sua totalidade, a mesma sequência de ADN codificadora para a região variável do recetor das células T. Seguindo este raciocínio, em cães com linfoma de células B, também a totalidade das células tumorais deve dispor de sequências de ADN semelhantes que codifiquem para a região variável dos recetores de Ig.^{4,75}

Um produto de PCR de tamanho único indicia clonalidade e, pelo contrário, produtos de PCR de tamanhos diferentes apontam para um processo de índole reativa. Ou

seja, a probabilidade de se tratar de uma neoplasia é superior quando a maioria da amostragem celular exhibe genes de recetores (células T ou Ig) idênticos.¹³⁶

Assim, na prática, esta técnica de diagnóstico molecular tem sido empregue com maior frequência com o propósito de analisar a clonalidade de amostras, cujo linfoma constitua um diagnóstico diferencial.¹³⁷ A PARR possibilita não só distinguir populações de linfócitos reativos de populações de linfócitos neoplásicos, permitindo diferenciar doenças linfoproliferativas reativas de doenças linfoproliferativas neoplásicas, como o linfoma, como também se prova vantajosa na monitorização da DRM durante e após a quimioterapia do linfoma canino.^{30,136,139,140,141}

No entanto, é de salientar que, apesar de ser uma afeção não neoplásica, em cães, a infeção por *Erlichia canis*¹⁴² pode causar expansão monoclonal de linfócitos e que, aparentemente, é sempre de células T^{30,136,141}. Num estudo mais recente, também a infeção por *Leishmania infantum* mostrou provocar picos clonais, estando na origem de falsos positivos.¹⁴³ Podem manifestar-se, igualmente, bandas monoclonais se a qualidade do ADN da amostra for baixa ou se este pertencer apenas a algumas células linfóides normais. Por outro lado, células sem recetores antigénicos para anticorpos de células B ou T (p. ex., as *natural killer*) ou quantidades inadequadas de ADN na amostra podem originar falsos negativos.⁹⁰

Apesar da PARR ser útil no conhecimento da linhagem celular que esteve na origem das células tumorais, quando o diagnóstico mais provável é linfoma, a CF, a imunocitoquímica e a imunohistoquímica são métodos preferíveis para determinação do fenótipo, por fornecerem mais informações.^{30,124,126,136,141} No entanto, na ausência de amostras frescas¹⁸, quando o conjunto de células neoplásicas na amostra não é suficiente ou os antigénios da superfície dos linfócitos se apresentam sub-regulados, a PARR é mais precisa que a CF¹³⁷, constituindo uma boa alternativa pela sua elevada especificidade¹⁸.

Todos estes métodos de diagnóstico molecular são úteis para diagnosticar, estadiar, avaliar a resposta ao tratamento e analisar os níveis de DRM. Outras técnicas, nomeadamente análise proteómica do ADN e biomarcadores celulares estão ainda a ser investigadas.^{4,75}

9. Estadiamento

Após confirmado o diagnóstico de linfoma, deve-se avaliar a distribuição e extensão da neoplasia, sendo indicado o seu estadiamento bem como o desenvolvimento do plano de tratamento, de modo a otimizar o tratamento e atenuar ao máximo a sua toxicidade. Para estadiar o linfoma, com eficácia, são elementos cruciais o diagnóstico imagiológico e a avaliação da medula óssea.^{4,12,144} O recurso à imagiologia revela-se essencial não só no diagnóstico (principalmente na ausência de linfadenopatia superficial), como também na determinação da extensão da doença, ou seja, no seu estadiamento.⁷⁵ A radiografia e a ecografia são importantes no estadiamento clínico exatamente por facultarem informações relativas à extensão interna envolvida.¹¹⁶ Para além destas, também a aplicação de testes de estadiamento com maior sensibilidade (TC, RM, PET, PET/TC, PET/RM e a citologia/biópsia da medula óssea) tem vindo a aperfeiçoar o maneio terapêutico adotado pelos médicos veterinários na abordagem ao linfoma canino.⁷⁵

Assim, fazem parte das finalidades essenciais do estadiamento do linfoma, em cães, a sua classificação clínica, conhecer o estado de saúde geral do animal e saber, conseqüentemente, se está apto para ser sujeito a quimioterapia ou a outro tipo de terapia oncológica, de maneira a que a sua administração ocorra em segurança, a escolha do tratamento mais adequado e posterior monitorização da resposta ao mesmo e o estabelecimento, o mais preciso possível, do prognóstico^{144,145}, uma vez que os resultados do estadiamento podem afetar significativamente o prognóstico geral e a decisão dos tutores em prosseguir ou não com o tratamento.⁷⁵

O linfoma canino é estadiado de acordo com o sistema de classificação concebido pela OMS (tabela 27)¹⁴⁴, em estadio (I-V), tendo em conta a localização anatómica envolvida e subestadio (*a/b*), de acordo com a sintomatologia clínica.¹⁰⁹ A ausência de chegada a um acordo sobre quais os exames de diagnóstico complementares a realizar antes da atribuição de um estadio, no linfoma multicêntrico canino, pode culminar num conceito denominado *stage migration* (migração de estadio, em qualquer direção, resultante da utilização de métodos de estadiamento com maior sensibilidade, como ecografia, radiografia, avaliação de medula óssea e outros).¹⁴⁴ Estudos realizados neste âmbito evidenciam que o fenómeno de *stage migration* poderia ser evitado caso existissem protocolos de estadiamento padronizados. Na falta destes, é afetada a

comparação entre resultados obtidos por grupos de investigação distintos ^{144,146}, razão pela qual este conceito deve ser tido em conta aquando da comparação de diferentes publicações ⁴.

9.1. Avaliação da Medula Óssea

Este é um procedimento efetuado por aspiração ou biópsia (a partir do úmero proximal ou da crista íliaca) e é recomendado, no sentido de alcançar um estadiamento e prognóstico completos, a pacientes que exibam, por exemplo, anemia, linfocitose e citopenias periféricas. ⁴ A avaliação da medula óssea é considerada uma etapa importante para o estadiamento do linfoma canino e a colheita apenas num local mostra-se suficiente para conseguir um estadiamento preciso, uma vez que a distribuição de células tumorais pela medula óssea parece ser uniforme. ¹⁴⁷

A ausência de alterações no sangue periférico não exclui o envolvimento da medula óssea e, da mesma forma, células neoplásicas em circulação não implicam, necessariamente, o comprometimento da medula óssea. ^{103,148} A existência de prolinfócitos e de linfoblastos pode ser indicativa de comprometimento medular e/ou de afeções de natureza não neoplásica, nomeadamente doenças imunomediadas (AHIM) ¹⁴⁵, afeções inflamatórias ou infecciosas. ⁴ Os prolinfócitos e os linfoblastos podem ainda ser encontrados em situações de intoxicação por estrogénios e em cães a efetuar quimioterapia. ¹⁴⁵ Também é possível que a avaliação da medula óssea seja efetuada via CF ou através da PARR (quando o resultado obtido pela via anterior não é claro). ¹⁴⁹

Apesar do envolvimento medular constituir um fator de prognóstico, a sua análise não é de carácter obrigatório ⁴ (pela controvérsia ainda existente no que diz respeito à sua relevância clínica e valor prognóstico) ^{148,150}, principalmente se a intenção do tutor for tratar independentemente do estadio ⁴. Alguns oncologistas, assim como o *Veterinary Cooperative Oncology Group* (VCOG), defendem que o envolvimento da medula óssea não afeta a decisão terapêutica ^{103,151} e que a sua análise, além de um esfregaço de sangue periférico, não influencia significativamente o *stage migration*. Contudo, existe uma associação entre uma infiltração de 3% da medula óssea com células neoplásicas e um mau prognóstico. ¹⁵²

Ainda assim, e apesar de não ser um exame obrigatório, a *European Canine Lymphoma Network* (EU-cLN) continua a recomendar a sua realização. ⁹⁷

10. Tratamento

O tratamento escolhido para cães com linfoma é influenciado por fatores respeitantes ao seu subtipo e estadió, à presença ou não de síndromes paraneoplásicas ou doenças concomitantes, ao tempo e compromisso financeiro dos tutores, bem como à capacidade dos mesmos de lidarem com a probabilidade de sucesso relativa ao tratamento e possíveis efeitos colaterais.⁴ Assim que concluído o diagnóstico definitivo, se não forem sujeitos a tratamento médico, a maioria dos pacientes que apresentam linfoma de grau intermédio a alto têm um TSM de quatro a seis semanas^{4,7,74} (valores que podem variar, por exemplo, consoante a localização anatómica e o subtipo de linfoma)⁷⁵.

Atingir a remissão do linfoma e providenciar qualidade de vida ao animal, durante o maior período de tempo possível, são os principais objetivos do tratamento oncológico.² De forma a alcançá-los com os melhores resultados, e visto que o linfoma se trata de uma doença sistémica, o tratamento sistémico, como quimioterapia e imunoterapia, constitui a opção terapêutica mais adequada^{2,4,7,74,75}, sendo que, de entre os vários tipos de linfoma, o linfoma multicêntrico é o que apresenta melhor resposta ao tratamento². Casos menos comuns incluem os de linfoma nodal/extranodal solitário, para os quais é indicado, em primeira instância, o tratamento localizado (cirurgia e radioterapia).^{4,7,75} Nestes casos, dada a hipótese de metastização, a quimioterapia pode eventualmente vir a revelar-se necessária.⁷

Chegado o momento, não realizar tratamento ou usar protocolos quimioterápicos recorrendo a múltiplos agentes ou apenas a um único fármaco são as opções mais recorridas.² Todavia, os protocolos quimioterápicos de múltiplos agentes demonstram ter uma eficácia superior à dos protocolos quimioterápicos de agente único.^{4,74}

É fundamental que os tutores estejam cientes de que, independentemente da terapêutica adotada, a cura raramente é conseguida^{2,74,153} e, portanto, na maioria dos casos, o tratamento não é curativo⁹⁸. Na verdade, sendo que a maioria dos pacientes já se encontra num estadió avançado, aquando do diagnóstico, o objetivo do tratamento, nestes casos, é essencialmente paliativo e de suporte, assegurando a qualidade de vida do animal através da melhoria dos sinais clínicos.⁹⁸

10.1. Resistência Farmacológica no Linfoma Canino

Inicialmente, as células neoplásicas são mais sensíveis à quimioterapia sendo, por isso, mais facilmente eliminadas. Porém, as que se conseguem manter ganham, progressivamente, maior resistência aos agentes quimioterápicos.⁷⁴ A resistência a múltiplas drogas (MDR), intrínseca ou adquirida, por parte das células tumorais, ainda não é totalmente compreendida, continuando a representar um obstáculo para o sucesso, a longo prazo, da quimioterapia.^{74,154}

O gene ABCB1, também designado gene resistente a múltiplos fármacos (MDR1), codifica uma proteína, a glicoproteína P.¹⁵⁵ Esta tem a função de bomba transmembranar de efluxo adenosina trifosfato (ATP) dependente¹⁵⁵, o que a torna capaz de promover, de forma ativa, a passagem de substâncias intracelulares para fora das células, limitando, por um lado, a absorção de determinados fármacos e propiciando, por outro, a sua excreção através dos sistemas biliar e urinário.¹⁵⁶

Há relatos de que as células tumorais são mais suscetíveis a expressar o gene codificador da glicoproteína P.⁴ Não obstante, para além de se expressar em tecidos neoplásicos, a glicoproteína P também pode ser encontrada na membrana celular de tecidos normais como fígado, rins, cólon, endométrio uterino e células endoteliais da barreira hematoencefálica.¹⁵⁷ Esta proteína pode ser expressa em mais de metade dos linfomas caninos, apresentando uma sobreexpressão no de células T, de alto grau.¹⁵⁸

Existem animais com uma mutação ao nível do gene ABCB1¹⁵⁵, sendo que os homozigóticos para esta mutação não expressam uma glicoproteína P normal, o que os torna muito sensíveis a fármacos por ela transportados, particularmente, a alguns quimioterápicos (doxorrubicina, vinblastina, vincristina).^{155,157,159} Há predisposição racial para a mutação em Collies (p. ex., border collie), cães pastores^{155,156} e no whippet de pêlo longo¹⁵⁶, contudo os Collies constituem a raça mais afetada (frequência que ronda os 70%).¹⁵⁹ Devido ao seu papel no desenvolvimento de reações quimioterápicas graves e na progressão da doença, quando indicado (por motivos de raça, comorbidades, escolha do tratamento), pode ser necessário sujeitar o paciente a um despiste genético para o MDR1, antes e durante o tratamento.^{155,156,159} A MDR pode também ser adquirida devido a interações entre determinados fármacos.^{2,156,159}

Contrariamente à situação anterior, quando a expressão funcional da glicoproteína P é insuficiente ou a expressão do gene MDR1 basal ocorre em pequena quantidade, a

consequência é haver uma maior quantidade de fármaco acumulada no interior das células, o que as torna mais suscetíveis aos efeitos citotóxicos, situação que, por sua vez, pode culminar em toxicidade hematológica e gastrointestinal. Por exemplo, os pacientes com uma deleção homozigótica do gene MDR1, quando sujeitos a tratamento com vincristina, apresentam-se mais vulneráveis a desenvolver neutropenia e trombocitopenia do que os que não apresentam esta mutação. ¹⁵⁶

10.2. Quimioterapia

Em cães, o linfoma representa um dos tumores mais responsivos à quimioterapia e, embora a cura seja rara, a quimioterapia proporciona, normalmente, uma remissão com qualidade de vida e uma toxicidade mínima ⁸⁷, não afetando significativamente a qualidade de vida do cão e, mesmo que se tratem de animais geriátricos, os protocolos de quimioterapia para o linfoma são bem tolerados ¹⁶⁰. Não obstante e como referido anteriormente, os efeitos colaterais existem e podem acontecer.

No que diz respeito ao linfoma, as principais finalidades da quimioterapia incluem a indução de uma remissão inicial, que seja completa e superior a seis meses (fase da indução), seguindo-se a reindução da remissão aquando do reaparecimento do tumor (fase da reindução) e, finalmente, a indução da remissão, de novo, se a resposta à terapêutica utilizada nas fases anteriores não for bem sucedida, sendo necessária a introdução de protocolos de resgate/emergência, com recurso a novos fármacos, não utilizados anteriormente, com o intuito de induzir uma nova remissão (fase de resgate). ^{4,74}

O protocolo da primeira fase do tratamento (fase da indução) deve ser mais intenso do que o utilizado na fase seguinte e realizado com uma frequência semanal. A fase seguinte diz respeito à manutenção e o seu propósito é estender e preservar a remissão, sendo as sessões terapêuticas efetuadas com intervalos aproximados de duas a três semanas. ⁷⁴

A existência desta fase de manutenção (com duração entre 12 a 25 semanas), após uma primeira fase agressiva de indução, de seis meses ou menos, com remissão completa, tem vindo a ser questionada, não só por não mostrar nenhum benefício para a maioria dos cães com linfoma ^{4,7,12,18}, como por ser tão ou menos eficiente quando comparada ao uso de protocolos sem fase de manutenção ^{161,162,163,164}. Assim, até que surjam estudos que

comprovem o contrário, há oncologistas que preferem recorrer a protocolos que impliquem uma indução mais agressiva, mas sem fase de manutenção.⁴

Por remissão deve compreender-se a resolução da sintomatologia clínica, das alterações laboratoriais, da afeção mensurável ou das alterações observadas ao exame físico⁷⁴, podendo ser classificada em remissão completa (RC), remissão parcial (RP), doença estável (DE) ou doença progressiva (DP), como é possível observar recorrendo à análise da tabela 29.^{74,151,165} Normalmente, a sua avaliação é feita tendo em conta a palpação ou medição dos linfonodos com tamanho normal e a inexistência de síndromes paraneoplásicas e sinais clinicopatológicos. Todavia, esta metodologia diagnóstica é bastante subjetiva, podendo ainda ser influenciada por alterações acessórias do linfonodo, nomeadamente a deposição de gordura no seu redor ou a presença de fibrose.¹⁶⁶

Tabela 29 - Caracterização da resposta ao tratamento, com base nas normas RECIST (*Response Evaluation Criteria for Solid Tumors*) - (v1.0), VCOG (Adaptado de Vail *et al.*, 2010)¹⁵¹.

Resposta à terapêutica	Definição
Remissão Completa (RC)	100% de redução das lesões detetadas inicialmente
Remissão Parcial (RP)	≥ 30% de redução da soma dos diâmetros das lesões alvo detetadas inicialmente
Doença Estável (DE)	Não há redução suficiente para RP, nem 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)

Contrariamente à remissão, a recaída consiste no reaparecimento da sintomatologia clínica, das primeiras alterações detetadas durante o exame físico ou da afeção mensurável.^{4,74} Para o primeiro reaparecimento do tumor, ou seja, a primeira recaída, deve ser feita a reindução com o protocolo anteriormente usado, com sucesso, na indução.⁴ Não obstante, a probabilidade de alcançar a remissão, bem como a respetiva durabilidade, é cerca de 50% da conseguida através do mesmo protocolo, mas aplicado inicialmente.¹⁶⁷

De uma maneira geral, o linfoma representa um tumor com grande suscetibilidade à quimioterapia, apresentando taxas de remissão completa a variar entre os 65% a 95% e

TSM de seis a doze meses (valores que variam de acordo com a escolha do protocolo quimioterápico).¹⁶¹

10.2.1. Protocolos Quimioterápicos de Múltiplos Agentes

A teoria subjacente ao recurso a planos terapêuticos mais elaborados assenta no facto de diferentes agentes, usados concomitantemente no mesmo protocolo quimioterápico, têm mecanismos de ação e eficiência diferentes, atuando em fases distintas do ciclo celular. Assim, com a combinação de vários agentes, é destruído um maior número de células tumorais (prevenindo a sua multirresistência aos fármacos) do que utilizando protocolos com apenas um agente quimioterápico.¹⁶⁸ O abrandar do desenvolvimento de multirresistências celulares a determinados fármacos, através da ação de múltiplos agentes, explica-se por estes provocarem a morte do maior número de células possível, dentro da gama de toxicidade tolerada por parte do paciente, o que proporciona uma maior interação entre o princípio ativo e o tumor (formado por uma população celular heterogénea).¹⁶⁵ Na seleção de fármacos a combinar, idealmente, deve ser garantida a ausência de resistência entre os mesmos e de sobreposição de toxicidades, devendo ainda ter a capacidade de mostrar eficácia enquanto agentes únicos.¹⁵³

Apesar da vasta diversidade de protocolos quimioterápicos combinados, o tratamento ideal para cães com linfoma multicêntrico consiste no protocolo CHOP¹⁶⁹, constituído pelos agentes quimioterápicos considerados mais eficazes¹⁷⁰: ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisolona⁷⁴, aos quais pode ser adicionada L-asparaginase (L-CHOP)¹⁸. A maioria ou a totalidade dos agentes enumerados estão integrados numa grande parte dos protocolos quimioterápicos destinados à indução da remissão.¹⁶⁹

Geralmente, o protocolo CHOP, resulta em altas e longas taxas de resposta, constituindo um dos protocolos mais usados para linfomas de alto grau, no cão.¹⁸ A grande generalidade das combinações habitualmente aplicadas na prática veterinária resultam de adaptações do CHOP, inicialmente concebido para tratamento do linfoma humano.⁷ Apesar de existirem vários protocolos para além do CHOP, o seguinte mais utilizado em medicina veterinária é o COP (ciclofosfamida, vincristina e prednisolona).¹⁶⁹ Ainda que estejam reportados períodos de remissão mais longos com o protocolo CHOP (seis a dez meses)¹⁷¹ relativamente ao COP (três a seis meses)¹⁶⁹, a probabilidade do CHOP acarretar toxicidades mais graves (mielossupressão e efeitos gastrointestinais) é

maior comparativamente ao protocolo COP, pela presença da doxorubicina no primeiro^{30,165}.

12.2.1.1. Protocolos baseados no CHOP

O CHOP desprovido de fase de manutenção constitui, atualmente, o tratamento *standard* para o linfoma multicêntrico canino de alto grau.^{161,169,171,172} A resposta terapêutica conseguida inclui uma indução da remissão em, aproximadamente, 80% a 95% dos casos⁴, prolongando-se durante cerca de seis a dez meses¹⁷¹, e dez a doze meses de tempo de sobrevivência médio⁴. Tanto esta taxa de resposta como a sua respetiva extensão, são influenciadas por determinados fatores de prognóstico⁴, abordados mais à frente. No entanto, grande parte dos pacientes que atingem a remissão, através deste protocolo quimioterápico, possivelmente recidiva, sendo que a percentagem aproximada de cães que conseguem atingir um tempo de vida superior a dois anos é inferior a 25%.^{162,171}

Embora os linfomas de células B e T mostrem, normalmente, diferentes graus de sensibilidade à quimioterapia, com os de células T a exibirem-se mais quimiorresistentes, os protocolos baseados no CHOP são os mais comumente usados como escolha de primeira linha para ambos os imunofenótipos.^{98,173,174} O protocolo CHOP de 19 semanas (tabela 30), como protocolo de indução inicial, é o recomendado por vários autores, pelo facto da sua utilização estar associada não só a uma primeira remissão mais longa, como também a uma vantagem considerável na sobrevivência do paciente.^{4,169}

Estudos relativamente recentes propõem o uso da L-asparaginase e a inclusão de agentes alquilantes (p. ex., lomustina, procarbazona) na terapia de primeira linha do linfoma de células T, visto que aparentam melhorar as taxas de resposta e o TSM.^{87,175} Existem ainda relatos indicadores de que animais com linfoma, em estadio V, podem beneficiar com a incorporação de citosina arabinosídeo no protocolo, por parecer prolongar o TSM.^{98,173} No que diz respeito à adição de uma dose da enzima L-asparaginase na fase inicial da indução (protocolo L-CHOP) é possível constatar que a taxa de sobrevivência e o tempo livre de doença são idênticos, independentemente da sua incorporação ou não no protocolo CHOP. Deste modo, parece mais apropriado não a incluir na fase de indução pelo seu elevado custo, baixa disponibilidade, elevada toxicidade e ainda pela vantagem de a reservar para situações de recidiva ou para aplicação em protocolos de resgate.^{162,164,176,177}

Tabela 30 - Protocolo CHOP, curto de 19 semanas, atualmente utilizado para tratamento de linfoma canino (UW-Madison-19) (Adaptado de Vail et al., 2020) ⁴.

Semana	Doxorrubicina (30 mg/m ² IV)	Vincristina (0,7 mg/m ² IV)	Ciclofosfamida (250 mg/m ² IV/PO)	Prednisona
1		●		2 mg/kg PO a cada 24 horas (7 dias)
2			●	1,5 mg/kg PO a cada 24 horas (7 dias)
3		●		1 mg/kg PO a cada 24 horas (7 dias)
4	●			0,5 mg/kg PO a cada 24 horas (7 dias)
5				
6		●		
7			●	
8		●		
9	●			
10				
11		●		
12			●	
13		●		
14	●			
15				
16		●		
17			●	
18		●		
19	●			
IV – Administração intravenosa PO – Administração oral <ol style="list-style-type: none"> Os tratamentos são descontinuados, na sua totalidade, após a semana 19, na presença de remissão completa. Deve ser realizado um hemograma completo, previamente a cada sessão de quimioterapia. Se este evidenciar uma neutropenia de <1500 neutrófilos/μl, a sessão não deve ser realizada, voltando a repetir-se o hemograma em 5 a 7 dias. A administração de furosemida, na dose de 1-2 mg/Kg, IV ou PO, juntamente com a ciclofosfamida, é feita com o intuito de minimizar a incidência de cistite hemorrágica. Caso esta venha a surgir, deve ser descontinuada a ciclofosfamida, procedendo-se à sua substituição por clorambucil, na dose de 1,4 mg/Kg, PO. 				

12.2.1.2. Protocolos baseados no COP

Além do CHOP, existem outras opções terapêuticas menos agressivas, nomeadamente os protocolos COP e os de agente único.⁷ O protocolo COP também é eficaz no tratamento do linfoma, é menos agressivo e dispendioso relativamente ao CHOP, não inclui a doxorrubicina³⁰ e, no geral, os animais apresentam boa tolerância², no entanto, resulta em taxas de resposta inferiores e menor duração de remissão, quando comparado com o CHOP⁷. A RC ocorre em cerca de 60% a 70% dos casos de linfoma multicêntrico canino, com TSM a variar entre os seis e os sete meses.²

O uso destes protocolos deve ser particularmente considerado quando é contraindicada a doxorrubicina (p. ex., animais com redução da contratilidade cardíaca e/ou arritmias graves). Na ausência de doenças graves, a RC é conseguida na generalidade dos casos.²

Um exemplo de protocolo derivado do COP é o COAP (ciclofosfamida, vincristina, citosina arabinosídeo e prednisona), cujo fármaco adicionado aos quimioterápicos já incluídos no COP é a citosina arabinosídeo.^{12,30} O COAP também é pouco agressivo e surge como opção para indução da remissão.³⁰ Apesar do uso do protocolo COAP ter sido associado a custos e toxicidade menores, a maior parte dos pacientes acaba por necessitar de protocolos de reindução, posteriormente e de forma mais precoce, comparativamente aos cães tratados através do CHOP, acabando por ser semelhante o investimento total final.¹⁶⁹

A indução da remissão é feita em seis a oito semanas durante as quais o paciente deve ser visto pelo médico veterinário com uma frequência semanal. Se após esta fase o cão não apresentar RC, antes do início da fase de manutenção, aconselha-se a introdução da fase de intensificação recorrendo à L-asparaginase. Por outro lado, se após o período de indução, o paciente já apresentar RC, inicia-se a fase de manutenção. Esta implica a aplicação, PO, do protocolo de manutenção LMP (clorambucil, metotrexato e prednisolona), menos dispendioso e de toxicidade mínima (não sendo, geralmente, suficiente para originar sinais clínicos passíveis de serem detetados pelos tutores). Neste caso, basta monitorizar o animal uma vez a cada seis a oito semanas.³⁰

Apesar do efeito da terapia de manutenção ainda não ser completamente claro, a experiência dita que, na sua ausência, os pacientes tratados com protocolos baseados no COP sofrem recidivas relativamente próximas ao término da fase de indução.¹⁶⁹

Neste momento, é fundamental a avaliação de possíveis alterações nos linfonodos, por parte dos tutores uma vez que, perante uma possível recidiva, pode ainda optar-se por acrescentar, ao protocolo LMP, um quarto fármaco (habitualmente a vincristina, IV, na dose de 0.5-0.75 mg/m², a cada uma a duas semanas). De um modo geral, esta abordagem é bem-sucedida no que toca à capacidade de atingir novamente a remissão, mantendo-a por semanas ou meses. A terapêutica de manutenção continua e, diante de uma nova recidiva, inicia-se novamente a reindução, semelhante em tudo à primeira indução (com o cumprimento de um tratamento intensivo), seguindo-se, uma vez mais, a fase de manutenção, após a obtenção da RC. O tratamento com este protocolo resulta numa RC (no espaço de um a 14 dias desde o início da terapêutica, na maior parte dos animais) que se prolonga por três a seis meses, em mais de 85% nos cães.³⁰

10.2.2. Protocolos Quimioterápicos de Agente Único

O recurso a protocolos compostos por apenas um agente citotóxico pode constituir uma preferência em situações em que existam restrições orçamentárias e logísticas dos tutores ou até mesmo das próprias instalações clínicas.²

A doxorrubicina, ciclofosfamida, L-asparaginase, vincristina, prednisona e prednisolona fazem parte dos agentes quimioterápicos mais eficazes e atualmente disponíveis para a abordagem ao linfoma canino. Apesar de quase todos incorporarem os protocolos de múltiplos agentes, podem também ser administrados separadamente em protocolos terapêuticos mais simples. Além destes, são ainda usados os considerados agentes de segunda linha, nomeadamente a rabacfosadina, a lomustina, a mitoxantrona, a vinblastina, o clorambucil, entre outros.⁴ À parte da doxorrubicina, a aplicação destes agentes, cada um por si só, na fase de indução, quando comparada ao uso de protocolos de múltiplos agentes, geralmente, não resulta em períodos livres de doença e TSM tão prolongados.^{2,4,178}

O protocolo de agente único baseado na doxorrubicina é considerado o mais eficaz no tratamento do linfoma canino⁴ e, para além de ser relativamente simples, conveniente e de baixo custo (caso o tutor esteja disposto a aceitar um TSM mais curto), oferece uma taxa de remissão de 65% a 85%, com duração média de cerca de três a seis meses¹⁷¹, e um TSM de oito a dez meses.^{2,179} A doxorrubicina deve ser administrada a cada 21 dias, IV lento (pelo menos 15 minutos), num total de cinco vezes, no espaço de 15 semanas¹⁷⁹,

na dose de 30 mg/m² em animais com mais de 15 kg e 25 mg/m² ou 1 mg/kg, em pacientes com menos de 15 kg⁴, sendo que cães com afeção cardíaca concomitante, não devem ser tratados com este fármaco.² Além dos possíveis efeitos cardiotoxicos, constituem ainda alguns dos inconvenientes específicos da doxorrubicina, a eventualidade de gerar reações anafiláticas, ao longo ou logo após a sua administração, e lesões, em caso de extravasamento.¹⁸⁰

A prednisona, a ciclofosfamida (250 a 300 mg/m², a cada duas a três semanas) e a lomustina (CCNU; 70 mg/m², a cada três semanas) são opções disponíveis caso os tutores prefiram optar pelo tratamento PO, apesar de ser fundamental que a decisão seja tomada tendo os tutores, na sua posse, os devidos esclarecimentos relativos à taxa de remissão e respetiva duração associadas a estes agentes, visto que são inferiores às proporcionadas pela doxorrubicina.⁷⁵ O CCNU (lomustina, a 65 a 70 mg/m², PO, a cada três semanas) é usado com mais frequência nas recidivas de linfoma multicêntrico, enquanto protocolo de resgate.²

A prednisona usada nos tratamentos quimioterápicos enquanto agente único, por ser uma opção económica, revela-se vantajosa quando existem limitações financeiras.¹⁸⁰ Também quando os tutores recusam o uso de quimioterapia e optam por um tratamento paliativo, é recomendada a utilização única da prednisolona/prednisona (2 mg/kg, PO, uma vez ao dia (SID), ao longo de sete dias, passando posteriormente a 1mg/Kg, SID), com vista a melhorar a qualidade de vida do animal, apesar da duração da remissão ser muito reduzida, de apenas um a dois meses.² Assim, é essencial, mais uma vez, alertar os tutores para esta decisão, garantindo que percebem que ao sujeitarem os seus cães a esta opção terapêutica, mais tarde, caso venham a preferir um protocolo combinado mais agressivo, a probabilidade dos animais, entretanto, terem desenvolvido resistências aos fármacos, é maior o que, por sua vez, resulta não só na menor probabilidade de alcançar a RC, como também em remissões mais curtas.^{7,75} Deste modo, a resposta terapêutica é tanto mais duradoura, quanto mais cedo o paciente for submetido a um tratamento mais agressivo.⁷

Uma pesquisa datada de 2018 menciona um protocolo com Tanovea (rabacfosadina, a 0,82 mg/Kg ou 1,0 mg/Kg, em infusão IV, ao longo de 30 minutos, a cada 21 dias e até cinco tratamentos). Os resultados conseguidos com a rabacfosadina incluíram, consoante a dose estipulada, uma taxa de remissão de, aproximadamente, 69%

ou 77%, 72 ou 108 dias de progressão livre de doença e remissão completa durante sete ou nove meses.¹⁸¹ Para além da sua eficiência no tratamento do linfoma, de ambos os fenótipos de células B e T, em cães, este fármaco foi considerado uma boa opção para tratamento de recidivas, particularmente, em pacientes com linfoma de células B¹⁸² cujo protocolo inicial tenha sido de múltiplos agentes, um dos quais a doxorrubicina^{181,182}. Assim, pode também constituir uma primeira abordagem terapêutica ao linfoma um protocolo com a doxorrubicina enquanto agente único, ao qual é adicionada a rabacfosadina.¹⁷¹ Nessa circunstância, a administração de ambas é realizada alternadamente (nas semanas zero, seis e doze a rabacfosadina, a 1mg/Kg, IV e nas semanas três, nove e quinze a doxorrubicina, a 30mg/m², IV)¹⁷¹, revelando uma taxa de resposta de 84%^{171,181,182}.

A rabacfosadina não está disponível na União Europeia, porém é o único agente quimioterápico aprovado, para o tratamento de cães com linfoma, pela US FDA, do inglês *U. S. Food and Drug Administration*, departamento responsável pela regularização das indústrias alimentar e farmacêutica, nos Estados Unidos.^{4,182}

10.2.3. Tratamento do Linfoma T Multicêntrico

Salvo algumas exceções, como por exemplo o linfoma da zona T, usualmente, o linfoma T multicêntrico mostra taxas de remissão iniciais semelhantes⁴, mas duração da remissão menor (dois a seis meses), quando comparado ao linfoma multicêntrico de células B, representando, conseqüentemente, um TSM mais curto (quatro a nove meses).¹⁸³ Num estudo realizado com o propósito desta comparação entre imunofenótipos, 50% dos cães com linfoma multicêntrico de células T não responderam à administração de uma dose única de doxorrubicina, enquanto os cães com linfoma de células B alcançaram 100% de taxa de resposta perante o mesmo protocolo.¹⁸⁴ A resposta a protocolos quimioterápicos com doxorrubicina, dos cães que apresentam linfoma das células T, é limitada, inclusive com o protocolo CHOP.^{4,87} Mesmo com este, os casos de linfoma canino de alto grau das células T, comparativamente aos de linfoma canino de alto grau das células B, manifestam não só uma taxa de remissão mais baixa como também recaídas mais precoces.⁸⁷

Algumas alternativas ao CHOP têm sido reportadas e revistas para o tratamento do linfoma T multicêntrico e incluem o protocolo MOPP (mecloretamina, vincristina,

prednisolona, procarbazina), o LOPP (lomustina, vincristina, prednisolona, procarbazina) e o VELCAP-TSC (doxorrubicina, prednisolona, procarbazina, mecloretamina).⁴

O MOPP é exemplo de um protocolo composto por um agente alquilante único ou combinado, cuja utilização, para tratar casos de linfoma T canino, exibe uma taxa de remissão na ordem dos 78%, cerca de seis meses de progressão livre de doença e, aproximadamente, nove de sobrevivência média, provando prolongar o TSM dos pacientes através de resultados mais favoráveis que os proporcionados pelo CHOP (para o mesmo tipo de linfoma).^{87,183,185,186} O protocolo LOPP, com taxa de remissão de 97%, seis meses de duração da mesma e 11 meses de tempo de sobrevivência médio, também demonstrou ser uma escolha terapêutica praticável em casos de linfoma de células T de alto grau.¹⁸³

Por último, para além da utilização do protocolo VELCAP-TSC oferecer um TSM de mais de um ano, não demonstra variações significativas a este nível conforme o imunofenótipo, o que representa uma vantagem para cães com linfoma T.¹⁷⁵ O mesmo acontece com a L-asparaginase, que revela taxas de remissão aproximadas de 70%.⁸⁷

Resumindo, no diz respeito ao linfoma T multicêntrico, os resultados com o protocolo CHOP, são menos satisfatórios. Assim, no sentido de alcançar TSM mais longos, será eventualmente necessária a aplicação de protocolos de resgate, nomeadamente o CCNU, a L-asparaginase ou protocolos compostos por fármacos alquilantes, como a mecloretamina e a procarbazina, caso o CHOP seja utilizado como tratamento de primeira linha.⁸⁷

10.2.4. Avaliação da Resposta Terapêutica

Uma vez concluído o plano terapêutico, é recomendada a padronização da reavaliação clínica. Esta deve ser realizada todos os meses, durante um ano e meio e, após este período, a cada dois meses, segundo as *guidelines* instituídas pelo VCOG. Para além de uma anamnese e exame físico completos, a avaliação das lesões não alvo deve também fazer parte dos procedimentos a realizar, em cada reavaliação clínica, adicionalmente à medição periférica das lesões alvo mensuráveis. Juntamente com estes, nas reavaliações a cada dois meses, deve ser repetido um hemograma completo.¹⁵¹

O recurso a métodos imagiológicos avançados, nomeadamente a PET, a TC^{115,120}, PARR e PCR¹⁵¹, citometria de fluxo¹⁴⁹ e o uso de marcadores biológicos mostram-se

fundamentais para a detecção da DRM bem como da recidiva precoce. Alguns dos marcadores biológicos cuja atividade demonstrou ter alguma pertinência na monitorização da afeção e de possíveis recorrências são a LDH, a haptoglobina, a timidina quinase tipo 1 e a proteína C-reativa.^{4,104,167,187} Por exemplo, num estudo realizado em cães com linfoma, cujo objetivo era avaliar a relevância da proteína C-reativa na detecção da remissão, a sua concentração, no momento do diagnóstico, mostrou-se acima dos valores de referência em 68% dos cães com a neoplasia. Mais tarde, os valores voltaram ao normal em 90% dos cães que atingiram a RC. Neste estudo, a proteína C-reativa comprovou-se útil na determinação da RC, em cães com linfoma, após o tratamento com agentes citotóxicos.¹⁸⁸ Não obstante, estes exames complementares de diagnóstico mais avançados são, normalmente, reservados para situações de suspeita de DP ou para confirmação diagnóstica após o surgimento de uma nova indicação clínica.¹⁵¹

10.2.5. Protocolos Quimioterápicos de Reindução ou Resgate

Os animais cujo linfoma não responde ao tratamento quimioterápico (entendendo-se por falha na resposta a presença de linfadenopatia persistente ou outra manifestação clínica da neoplasia, após a administração da totalidade dos fármacos estabelecidos no protocolo) têm um prognóstico bastante reservado.²

Como referido anteriormente, a recidiva tumoral é muito provável seja qual for a taxa de remissão alcançada com o protocolo de indução. Após a conclusão deste protocolo, um dos fatores impulsionadores da recidiva é a MDR, sendo que as células neoplásicas destes pacientes, que sofrem recaída, mostram-se mais suscetíveis à expressão genética que está na origem da MDR.¹⁷⁴ Outras explicações para a ocorrência de uma recaída incluem a escolha da prednisona enquanto primeira opção terapêutica, a incapacidade de conseguir que certos fármacos atinjam concentrações suficientemente altas em determinadas localizações (p.ex., no SNC) e uma inadequada aplicação não só das doses como também das frequências de administração dos quimioterápicos.⁴

Se a recidiva do tumor ocorrer dois ou mais meses após a conclusão do protocolo inicial, recomenda-se a reintrodução do mesmo. Por exemplo, se o CHOP foi o protocolo de indução usado, a taxa de reindução, caso seja aplicado novamente, ronda os 80% a 90%.² De um modo geral, apesar da duração aproximada da resposta ser metade da conseguida com o tratamento inicial, alguns animais conseguem usufruir de reinduções

relativamente longas, principalmente se até ao momento da recaída não fizeram quimioterapia durante vários meses e caso tenham levado até ao fim o plano de indução inicial.⁴

Na presença de casos refratários à fase de indução inicial ou caso a reindução falhe, procede-se à escolha de protocolos de resgate.⁹⁸ Estes recorrem a agentes de resgate que não tenham sido utilizados no protocolo de indução.^{2,4} Alguns dos agentes que se provaram eficazes e que são comumente utilizados em protocolos de resgate incluem a lomustina, mitoxantrona, actinomicina D e doxorubicina (somente se não tiver feito parte do protocolo de indução, dado o seu efeito cumulativo). Podem ser usados como agentes únicos ou em protocolos combinados, mas mais caros, como o MOPP e o DMAC (dexametasona, melfalano, actinomicina D e citosina arabinosídeo), por exemplo.^{4,167}

Os protocolos de resgate exibem maior eficiência se a as recidivas tumorais forem detetadas ainda em estadios precoces¹⁶⁷ e a sua taxa de resposta pode variar entre 40% e 90%, mas com uma duração da remissão de apenas 1,5 a 2,5 meses. É inferior a 20% a percentagem de pacientes que consegue atingir taxas de remissão mais longas, através de protocolos de resgate.⁴

10.2.6. Efeitos adversos da quimioterapia

Apesar da elaboração da maioria dos protocolos quimioterápicos ser feita no sentido dos mesmos causarem, nos pacientes, o mínimo de efeitos colaterais, estes podem surgir, ocasionalmente. Normalmente, menos de um em cada quatro animais apresentam efeitos adversos à quimioterapia e apenas 5% sofrem uma ocorrência grave que exija hospitalização.¹⁸⁹

O alvo dos agentes antineoplásicos são as células em divisão rápida¹⁸⁹, razão pela qual recaem preferivelmente sobre as células neoplásicas. Contudo, como a maioria deles não são seletivos, também ficam expostas à lise (derivada do tratamento quimioterápico) outras células de índice mitótico mais alto, particularmente as da medula óssea e das vilosidades intestinais, sendo esta a razão pela qual as reações gastrointestinais e a mielossupressão constituem os efeitos secundários mais frequentes.³⁰ Em adição a estes, podem ainda advir reações anafiláticas, toxicidade dermatológica, cardíaca, hepática, neurológica, pulmonar, urotoxicidade e pancreatite (tabela 31).⁷⁵

A morte rápida das células cancerígenas consegue ainda gerar variações súbitas a nível metabólico. Nestas incluem-se situações de hiperuricémia, hipercalémia e hiperfosfatémia passíveis de, naturalmente, acarretar sintomatologia aguda baseada em vômitos, diarreia e prostração, mimetizando, por sua vez, a toxicidade inerente ao fármaco (síndrome da lise tumoral aguda).³⁰

Tabela 31 - Toxicidades associadas aos agentes quimioterápicos (Adaptado de Couto *et al.*, 2019)³⁰.

Toxicidade	DOX	ACT	CTX	LEUK	Carbo	AraC	L-asp	VCR	CCNU
Mielossupressão	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	N	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
Urotoxicidade	M/S	N	M/S	N	N/M	N	N	N	M
Hepática	N	N	N	N	N	N	N	N	M/S
Pulmonar	N	N	N	N	N	N	N	N	M/S

ACT, actinomicina; AraC, citosina arabinosídeo; Carbo, carboplatina; CCNU, lomustina; CTX, ciclofosfamida; DOX, doxorubicina; L-asp, L-asparaginase; LEUK, clorambucil; M, moderada; NA, não aplicável; N, nenhuma; S, severa; VCR, vincristina; ?, questionável.

Uma reação grave a um quimioterápico pode refletir-se não só no comprometimento da qualidade de vida do paciente, como também no atraso ou alteração dos tratamentos subsequentes, no aumento dos custos para os tutores e diminuição da complacência dos mesmos em avançar com a terapêutica.¹⁸⁹

12.2.6.1. Toxicidade Hematológica

A toxicidade hematológica corresponde à complicação mais habitual decorrente da ação dos agentes quimioterápicos.³⁰ A gravidade da mielossupressão pode variar entre ser assintomática a causar a morte¹⁸⁹, sendo que citopenias graves (neutropenia e trombocitopenia são as mais frequentes)¹⁹⁰ podem obrigar à suspensão temporária ou até

definitiva das sessões de quimioterapia. ³⁰ É provável que a neutropenia surja entre sete a dez dias após a administração da maioria dos quimioterápicos, no entanto, com alguns em específico, como a lomustina e a carboplatina, pode suceder apenas duas a três semanas após a sua administração. ¹⁸⁹

12.2.6.2. Toxicidade Gastrointestinal

Apesar de menos comuns que a mielossupressão, as reações gastrointestinais (GI) como anorexia ³⁰, náusea, vômitos e diarreia estão entre os efeitos secundários mais comuns da quimioterapia ^{189,190}. Os efeitos GI têm tendência a ser tardios (dois a cinco dias depois da quimioterapia), por resultarem de lesões na mucosa, causadas pela irritação e inflamação, no entanto, a cisplatina é um exemplo de fármaco que pode causar náuseas e/ou vômitos de forma mais imediata. ¹⁸⁹ Embora sejam, na maior parte das vezes, simples e autolimitantes, eventualmente, podem apresentar maior gravidade, sob a forma de vômitos recorrentes e diarreia hemorrágica profusa, por exemplo.

12.2.6.3. Reações Anafiláticas

Quando administrados de forma incorreta (extravasular), os agentes quimioterápicos vesicantes, como a doxorrubicina e os alcaloides vinca, provocam lesões teciduais de extravasamento. Consequentemente, os animais podem sofrer uma reação anafilática. ¹⁸⁹ Como se pode constatar pela tabela 31, a L-asparaginase e a doxorrubicina correspondem aos agentes mais comumente associados a este tipo de reação. ^{30,189,190} No caso da L-asparaginase, a probabilidade de ocorrer uma reação de hipersensibilidade é inferior a 7,1% ¹⁹¹, mas, devido ao desenvolvimento de anticorpos, aumenta com a crescente frequência de administrações ¹⁸⁹.

A sintomatologia clínica decorrente de reações de hipersensibilidade aos fármacos antineoplásicos pode aparecer durante ou logo após a administração dos mesmos e é semelhante à causada por reações de hipersensibilidade de outro tipo (sinais clínicos primeiramente cutâneos e GI). Inclui tremores da cabeça (causados pelo prurido auricular), edema facial, eritema e urticária generalizada, vômito, diarreia, dispneia e, mais raramente, colapso decorrente de hipotensão. ^{30,189}

12.2.6.4. Toxicidade Dermatológica

Em cães, a toxicidade dermatológica associada à quimioterapia é rara. Não obstante, para além de poder ocorrer sob a forma anteriormente mencionada (necrose local dos tecidos por aplicação perivascular), pode ainda revelar-se através da hiperpigmentação cutânea da face, abdómen e flancos e da ausência (alopecia) ou demora no crescimento do pelo.³⁰

Apesar de não causar problemas clínicos significativos, é habitual que os tutores se mostrem um tanto ou quanto apreensivos relativamente à queda de pelo desenvolvida por alguns cães e, se assim for, pode ser aconselhada a interrupção ou até o término da terapêutica, com o intuito de deixar crescer novo pelo, apesar de poder surgir com textura e cor ligeiramente alteradas.¹⁹⁰

12.2.6.5. Cardiotoxicidade

A toxicidade cardíaca, aguda ou crónica, é particularmente comum com o uso da doxorubicina.³⁰ A toxicidade crónica, proveniente da sua administração, pode constituir uma contra-indicação à sua utilização¹² e está associada ao desenvolvimento de cardiomiopatia dilatada³⁰. Nestes casos, a substituição da doxorubicina por actinomicina D ou mitoxantrona, em protocolos idênticos, está associada a uma taxa de resposta inferior e a TSM mais curtos.¹²

A resposta tóxica aguda surge durante ou imediatamente após o contacto com o agente e, normalmente, é caracterizada por arritmias cardíacas (principalmente taquicardia).³⁰

12.2.6.6. Urotoxicidade

Apesar de pouco frequente, na espécie canina, pode surgir nefrotoxicidade, associada ao uso de doxorubicina e metotrexato, e cistite hemorrágica estéril, com sinais de disúria, poliúria e hematúria, decorrente do uso crónico de ciclofosfamida.³⁰ Neste caso a terapêutica deve ser interrompida e substituída (tabela 30).

12.2.6.7. Outras Toxicidades

Em cães, a hepatotoxicidade, a neurotoxicidade e a toxicidade pulmonar provenientes do uso de agentes quimioterápicos, são muito raras.³⁰

10.3.Imunoterapia

A vacinação antitumoral integra uma das abordagens imunoterápicas e tem como objetivo induzir uma resposta imunitária, especificamente contra as células neoplásicas, que seja eficaz, duradoura e segura. ^{98,192} São vários os estudos que já confirmaram o sucesso, na obtenção de TSM mais longos, após a vacinação autógena contra o tumor. ⁹⁸ Atualmente, o uso da APAVAC®, vacina autóloga baseada nas proteínas de choque térmico (HSPs), é aconselhado conjuntamente com a quimioterapia. ^{193,194} Outras formas de imunoterapia (p. ex., transplante de medula óssea e células estaminais) estão a ser investigadas ⁷⁵, assim como o uso de anticorpos monoclonais, sendo a adaptação dos protocolos de medicina humana para o tratamento do linfoma canino, uma perspectiva futura. ^{75,192}

O recurso à imunoterapia, em cães em RC após quimioterapia, pode resultar na depuração das células tumorais residuais, aumentando o TSM, sem acréscimos na toxicidade. ¹⁹³

10.4.Cirurgia

Os cães com linfoma exibem, maioritariamente, a forma multicêntrica, razão pela qual a quimioterapia sistémica, na globalidade dos casos, é preferida em detrimento da cirurgia. Esta pode ser considerada uma opção terapêutica em casos de linfoma solitário (estadio I) ou nas formas extranodais solitárias da doença, depois de ter sido descartado envolvimento multicêntrico. A esplenectomia só deve ser considerada se o linfoma não estiver localizado noutras regiões, se for linfoma indolente ⁷⁰ ou se tiver ocorrido ruptura do baço. ⁴

10.5.Radioterapia

A radioterapia constitui uma terapia localizada, razão pela qual a sua utilização, em pacientes diagnosticados com linfoma multicêntrico, é limitada. ^{4,74} Sendo os linfoblastos células radiosensíveis ¹⁹⁵, o tratamento recorrendo à radiação desempenha um papel importante na presença de certas alterações circunscritas, nomeadamente enquanto terapia paliativa em situações cujos efeitos da doença estejam a perturbar a qualidade de vida do paciente (linfonodos mandibulares não responsivos à quimioterapia,

com consequente dispneia inspiratória ⁷⁴, linfoma retal, síndrome da veia cava resultante de linfoma mediastinal) ⁴.

Algumas limitações associadas ao tratamento do linfoma multicêntrico, com recurso à radiação em todo o corpo, devem-se não só à ausência de suporte a nível hematológico como também de transplantação autóloga da medula óssea (requisitos essenciais para conseguir tratar possíveis complicações terapêuticas). ² Além disso, enquanto a radioterapia de corpo inteiro se mostra eficiente somente se acompanhada de transplante medular ou de células estaminais ⁴, por outro lado, no linfoma canino, a radiação de meio corpo não oferece uma remissão duradoura e ainda acarreta complicações consideráveis. ⁷⁴

11.Fatores de Prognóstico

Existem vários fatores influenciadores da resposta ao tratamento e da sobrevivência do animal, alguns dos quais, mais relevantes, estão descritos na tabela 32, juntamente com o seu grau de associação ao prognóstico. Ainda que raras (<10%) as situações de cura do linfoma multicêntrico, consegue-se frequentemente uma resposta satisfatória ao tratamento implementado, acompanhada de qualidade de vida ao longo da remissão. ⁴ Já foi referido que um paciente que não receba qualquer tipo de tratamento tem pior prognóstico (com TSM de, sensivelmente, quatro a seis semanas) e que, um protocolo quimioterápico de múltiplos agentes está associado a um prognóstico mais favorável que um protocolo de agente único. ^{4,74} Se por um lado, alguns ainda são controversos, por outro existem fatores que se tornaram constantes e foram validados ao longo do tempo ⁸⁷, apresentando, com o prognóstico, uma correlação mais negativa ⁴. Incluem o imunofenótipo, subestadio e subtipo histológico segundo a classificação da OMS ⁴ (linfomas de células T, exceto o linfoma da zona T, e/ou pertencentes ao subestadio *b*, respondem pior à terapia, estando associados a tempos de remissão e sobrevivência mais curtos) ⁸⁷.

No que ao subtipo histológico diz respeito, o linfoma de intermédio a alto grau (linfoblástico) exhibe maior agressividade, com índices de remissão completa mais elevados, mas remissões e sobrevivência menos duradouras. Por sua vez, o linfoma de baixo grau (linfocítico) dispensa tratamento na maior parte dos casos (ou é suficiente o tratamento conservativo) e oferece tempos de sobrevivência mais longos. ^{4,68}

Tabela 32 - Fatores de prognóstico para o linfoma, em cães (Adaptado de Vail *et al.*, 2020) ⁴.

FATORES	SIGNIFICÂNCIA PROGNÓSTICA		DESCRIÇÃO
	Forte	Moderada	
Histopatologia/Subclassificação	X		Grau Intermédio/Alto: desfavorável Indolente/Baixo grau: favorável
Imunofenótipo	X		Fenótipo células T/ Baixo MHC II: desfavorável
Estadio clínico (OMS)		X	Estadio I/II: favorável Estadio V: desfavorável
Subestadio clínico (OMS)	X		Subestadio <i>b</i> : desfavorável
Sexo		X	Fêmeas/Fêmeas esterilizadas: desfavorável
Análise da expressão genética	X		Previsão de resultados
Localização anatômica	X		Leucemia, forma hepatoesplênica, cutânea e alimentar difusa: desfavorável
Hemograma (na apresentação clínica)	X (anemia)	X (neutrofilia, rácios neutrófilos/linfócitos e linfócitos/monócitos baixos e trombocitopenia)	Desfavorável
Avaliação molecular de DRM (p. ex., PCR, citometria de fluxo)		X	Importante quando terapias “curativas” forem desenvolvidas e instituídas
Medidas de proliferação		X	Controverso
Tratamento prévio com esteroides	X		Desfavorável
Linfadenopatia mediastinal cranial	X		Desfavorável
Toxicidade hematológica induzida pela quimioterapia		X	Neutropenias grau III/IV induzidas pela quimioterapia: favorável
Localização geográfica		X	Misto

Relativamente aos estadios, o prognóstico é melhor em pacientes que não apresentem envolvimento da medula óssea (I-IV).⁸⁸

Em circunstâncias normais, para reagir contra o CD4 das células T neoplásicas, ocorre estimulação da resposta antigénica do sistema imunitário do animal, por parte da classe II. Quando esta estimulação diminui, a consequência é, igualmente, uma diminuição da eficiência da resposta imunitária.¹⁹⁶ Também em condições habituais, o antígeno B5 é expresso em 95% dos linfócitos, o que não se verifica no caso do linfoma.⁴ Assim, níveis de expressão da classe II e antígeno B5 diminuídos, constituem fatores imunológicos que têm demonstrado contribuir para o pior prognóstico da afeção.^{4,196} Tem sido também reportada, para o prognóstico tumoral, a relevância de alguns biomarcadores, entre eles a proteína C-reativa, LDH, haptoglobina, enzima timidina quinase e fator de crescimento do endotélio vascular, bem como a presença de hipercalcemia e a diminuição da cobalamina e da albumina séricas.⁴ Os cães com linfoma acompanhado de hipercalcemia apresentam um prognóstico inferior (na resposta à quimioterapia e no TSM) ao de cães com linfoma, mas normocalcémicos.¹⁹⁷

Vale a pena ressaltar que, no momento de estabelecer o prognóstico, a avaliação combinada de vários resultados pode mostrar-se mais útil do que a análise individual dos fatores anteriormente apresentados.¹⁹⁶

III. CASO CLÍNICO

1. Identificação do paciente



Figura 3 - Diamond (Arquivo pessoal).

2. Anamnese e Exame Físico

O paciente deu entrada no HVC (2.11.2021) com queixa de prostração e anorexia. Sem ser conhecido o historial clínico do animal, o seu boletim sanitário apresentava lacunas no plano vacinal, com atraso na vacinação polivalente, bem como nas desparasitações externas, e sem prevenção de leishmaniose e dirofilariose. A tutora referiu que, habitualmente, o Diamond costumava ser um animal ativo, com bastante apetite (alimentação com ração seca) e de acesso livre ao campo e contacto com outros animais, mas que, ultimamente, havia demonstrado um inalterado interesse pela comida, deixando inclusive de comer, para além de se mostrar menos ativo que o normal. O seu peso habitual rondava os 42 kg e, no momento da consulta, apresentou-se com 37,300 kg (-4,700 kg). Foram ainda mencionados pela tutora dois “nódulos” na região cervical.

Ao exame físico, o paciente apresentava estado mental alerta, hipertermia (39.8°C), mucosas húmidas e rosadas, frequências cardíaca e respiratória normais (100 bpm e 35 rpm), tempos de repleção capilar e da prega cutânea dentro dos valores de referência e linfadenomegalia generalizada, sobretudo a nível dos linfonodos pré-escapulares, mandibulares e poplíteos. Os linfonodos mandibulares e poplíteos eram os mais aumentados, tendo sido os definidos como lesões alvo (medições obtidas em centímetros (cm) através de um paquímetro - mandibular esquerdo: 6 cm por 5 cm; poplíteo esquerdo: 5 cm por 4,5 cm).

3. Problemas e Diagnósticos Diferenciais

Consideraram-se como principais problemas a anorexia, perda de peso, prostração e linfadenomegalia generalizada.

São vários os DDX de linfadenomegalia, no entanto, perante o caso clínico apresentado, em específico, foram estabelecidos como DDX mais prováveis o linfoma multicêntrico, linfadenite, hiperplasia reativa dos linfonodos e leishmaniose.

4. Exames Complementares de Diagnóstico

Atendendo à sintomatologia apresentada, para excluir DDX, o painel de exames realizados incluiu um hemograma completo, análises bioquímicas, despiste de leishmaniose através da determinação qualitativa de anticorpos de *Leishmania infantum*, citologia por PAAF dos linfonodos poplíteos e, mais tarde, TC de contraste às regiões torácica e abdominal. Os parâmetros do hemograma encontravam-se dentro dos valores normais (tabela 33).

Tabela 33 - Hemograma inicial do Diamond, os valores de referência são adaptados do HVC (Legenda: V.C.M - Volume corpuscular médio; H.C.M - Hemoglobina corpuscular média; C.H.C.M - Concentração da hemoglobina corpuscular média; R.D.W - *Red Cell Distribution Width*, avaliação do tamanho dos eritrócitos).

Parâmetros	Valores do Diamond	Valores de referência
Glóbulos brancos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	16.8	4.0 – 17.6
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	1.7	0.3 – 3.9
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0.5	0.0 – 1.4
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	1.3	0.0 – 1.3
Granulócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	14.6	2.5 – 14.3
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	5.66	4.48 – 8.53
Hemoglobina (g/dL)	13.3	10.5 – 20.1
Hematócrito (%)	39.0	33.6 – 58.7
V.C.M (fL)	69.0	53.0 – 78.3
H.C.M (pg)	23.4	15.3 – 39.2
C.H.C.M (g/dL)	341	30.8 – 35.9
R.D.W (%)	13.6	13.4 – 18.1
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	207	110 – 460

Nos parâmetros bioquímicos, observou-se um aumento nas concentrações das transaminases hepáticas (ALP e ALT) e da albumina sanguíneas (tabela 34).

Tabela 34 - Bioquímicas iniciais do Diamond, os valores de referência são adaptados do HVC (Legenda: ALP - Fosfatase alcalina; ALT - Alanina aminotransferase; AST - Aspartato aminotransferase).

Parâmetros	Valores do Diamond	Valores de referência
Albumina (mg/dL)	4.5	2.6 – 4.0
Creatinina (mg/dL)	1.57	0.5 – 2.0
Ureia (mg/dL)	19.0	8 – 30
ALP (UI/L)	>1183	13 – 289
ALT (UI/L)	260	14 – 151
AST (UI/L)	70	13 – 81
Cálcio total (mg/dL)	11.2	8.7 – 12.0

O despiste de leishmaniose foi feito recolhendo uma amostra de sangue, na primeira consulta, para realização do teste rápido Uranotest® Quattro (Campifarma). Este teste é baseado numa técnica imunocromatográfica e, neste caso, teve como objetivo a determinação qualitativa de anticorpos de *Leishmania infantum*, tendo sido revelado um resultado negativo.

A PAAF dos linfonodos poplíteos, para citologia, foi também realizada no momento da consulta e o resultado, obtido mais tarde, foi compatível com linfoma (tabela 35). Para confirmação do diagnóstico de linfoma e definição do tipo celular (B ou T), recorreu-se ao estudo imunocitoquímico da amostra citológica, em meio laboratorial. O resultado (tabela 36) foi indicativo de linfoma de células B grandes, com identificação de marcadores antigénios CD3 e PAX-5.

Tabela 35 - Resultados do exame citológico dos linfonodos poplíteos.

Amostra	Linfonodos poplíteos
Número de preparações	2 lâminas
Observação microscópica	Amostra de boa celularidade. Observa-se uma população linfóide homogénea constituída por células linfóides de médias e grandes dimensões, que apresentam núcleos redondos com um nucléolo evidente e escasso citoplasma muito basófilo e elevado índice mitótico; e em menor número linfócitos pequenos com características idênticas às descritas para as células anteriores. Grande quantidade de corpos linfoglandulares.
Diagnóstico	A imagem citológica é compatível com linfoma.

Tabela 36 - Caracterização Imunocitoquímica do linfoma de células grandes diagnosticado ao Diamond.

Tipificação de Linfoma	
Análise Realizada	CD3: Positividade minoritária de marcação intensa em raros linfócitos maduros. PAX-5: Positividade maioritária de marcação moderada a intensa em abundantes células linfóides de médias e grandes dimensões.
Resultado	Linfoma do tipo B.

Uma vez confirmado o diagnóstico de linfoma, o Diamond foi submetido a TC, com injeção de contraste, a fim de analisar, com precisão, a localização anatômica tumoral, e proceder ao estadiamento da neoplasia. Esta modalidade de imagem avançada foi realizada ao tórax e abdômen, revelando, a nível torácico, um aumento generalizado dos linfonodos, sobretudo os cervicais superficiais, axilares, pré-esternais, mediastínicos craniais e traqueobrônquicos (figura 4).



Figura 4 - Secções da TC torácica do Diamond, através das quais se confirmou a maior proeminência dos linfonodos cervicais superficiais (setas vermelhas), axilares (setas roxas), pré-esternais (setas laranja), mediastínicos craniais (setas azuis) e traqueobrônquicos (seta amarela). Imagens gentilmente cedidas pelo HVC.

A nível abdominal foi, igualmente, observada uma linfadenomegalia generalizada, com maior proeminência dos linfonodos hepáticos, ilíacos mediais (figura 5), esplênicos e linfonodos inguinais. Foi ainda possível visualizar hepatoesplenomegalia ligeira a moderada, apresentando, ambos os órgãos, margens arredondadas e parênquima normal, pré e pós-contraste.

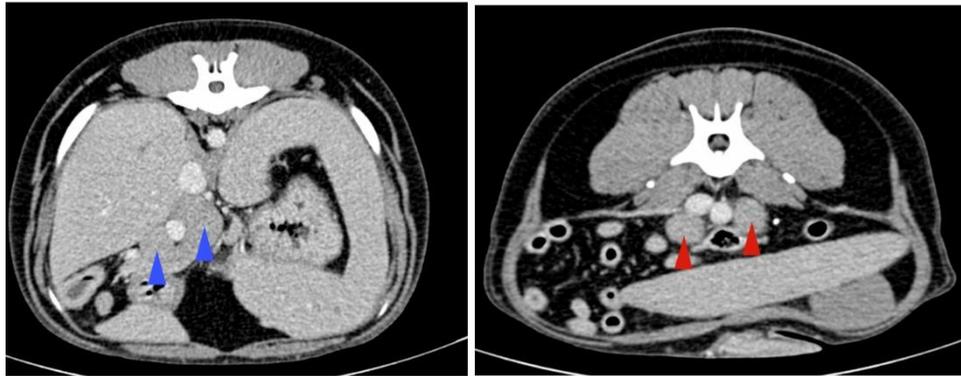


Figura 5 - Secções da TC abdominal do Diamond, através das quais se observaram os linfonodos hepáticos (setas azuis) e ilíacos mediais (setas vermelhas). Imagens gentilmente cedidas pelo HVC.

Dada a confirmação de linfadenomegalia generalizada, juntamente com hepatomegalia e esplenomegalia inespecíficas, considerou-se a infiltração neoplásica provável, razão pela qual foi recomendada PAAF hepática e/ou esplénica ecoguiada para confirmação diagnóstica. No entanto, não foi do interesse da tutora realizar mais exames, dado que não alteravam o tratamento, razão pela qual não se avançou com a PAAF destes órgãos.

5. Diagnóstico

O quadro clínico exibido pelo Diamond, associado aos resultados dos exames realizados, é compatível com linfoma multicêntrico de células B grandes, em estadio IV e subestadio *b*, segundo as *guidelines* estabelecidas pela OMS.

6. Tratamento e Evolução Clínica

Após a primeira consulta e durante a espera pelos resultados da citologia, foi prescrito meloxicam (anti-inflamatório não esteróide), a 0,2 mg/Kg, PO, durante cinco dias consecutivos, com o objetivo de regularizar a temperatura corporal e Florentero® ACT, produto simbiótico otimizado com complexo vitamínico para promover o equilíbrio GI, 4 comprimidos, PO, SID, até indicação médica contrária.

Na posse de todos os resultados, o tratamento decidido para o Diamond foi quimioterapia, mais precisamente o protocolo CHOP de 19 semanas (tabela 30). Para além do protocolo, foi instituída medicação complementar, administrada no local das sessões, meia hora antes das mesmas, com citrato de maropitant (1 mg/kg, SC, devido à sua ação antiemética) e esomeprazol (1 mg/kg, IV, para proteção gástrica). Também foi

prescrita medicação protetora para o tutor realizar em casa, com citrato de maropitant (dois comprimidos de 60 mg, PO, SID, durante cinco dias consecutivos, após cada sessão de quimioterapia), omeprazol (um comprimido de 40 mg, PO, duas vezes ao dia (BID)), Glutamax® forte (alimento composto complementar recomendado para ajudar a função hepática, dada a alteração nos valores das enzimas hepáticas, com três comprimidos e meio, PO, SID) e Florentero® ACT (na dose já referida).

Para além do hemograma realizado em todas as sessões de quimioterapia, previamente à sua execução, foram realizadas análises bioquímicas (com avaliação dos parâmetros da tabela 34) semana sim semana não, tendo sido respeitadas as semanas de pausa estabelecidas no protocolo (5^a, 10^a e 15^a semanas).

Aquando da primeira sessão de quimioterapia, no dia 16 de novembro de 2021, o Diamond já se apresentava mais ativo, com exame físico normal, incluindo temperatura regularizada, tendo voltado a mostrar apetite e a comer normalmente. Contudo, voltou a apresentar perda de peso (-800 g = 36,500 kg) e as análises bioquímicas continuavam a exibir um aumento da ALP >1183 UI/L. Respondeu positivamente à primeira sessão, não só pela ausência de efeitos secundários como também por um aumento de peso de 500 g (37 kg) sendo que, apenas uma sessão de tratamento quimioterápico, foi suficiente para o Diamond já mostrar melhorias relativas ao tamanho dos linfonodos poplíteos (3 cm por 2,5 cm) e mandibulares (3 cm).

Na terceira semana, voltou a perder peso, regressando aos 36 kg, sem mais alterações a apontar. Antes da quarta sessão de quimioterapia, com administração de doxorubicina, foi feita uma ecocardiografia não reveladora de alterações que justificassem o impedimento da administração deste agente quimioterápico. Nesta sessão, o Diamond voltou a exibir um aumento de peso, relativamente à última avaliação (+650 g = 36,650 kg) e já apresentava remissão completa.

Após a sessão com doxorubicina, a tutora relatou episódios de diarreia (sem sangue) desde há três dias pelo que foi prescrito Florentero® ACT (4 comprimidos, PO, SID, durante sete dias).

Na nona semana, o hemograma apresentava uma leucopenia de $2.3 \times 10^3/\mu\text{l}$. Apesar do equipamento de hemograma do HVC não especificar a contagem de neutrófilos, razão pela qual não se sabia se a leucopenia implicava, necessariamente, neutropenia (e se esta seria de <1500 neutrófilos/ μl) e uma vez que a sessão seria com doxorubicina (associada

a mielossupressão), a clínica responsável decidiu adiar a sessão sete dias. A leucopenia acabou por normalizar, tendo sido retomado o protocolo, na semana seguinte. Até então o Diamond foi sempre aumentando de peso, mas, chegada a 13ª semana, exibia 40,200 kg (perda de 700 g em relação à pesagem anterior) e uma eosinofilia de $7.1 \times 10^3/\mu\text{l}$, tendo sido aconselhada a sua desparasitação interna e externa. Na sessão seguinte, a contagem de eosinófilos já estava normalizada e o Diamond tinha ganho 950 g (41,150 kg). O CHOP foi continuado sem efeitos adversos significativos, tendo o Diamond mantido o peso de 41,150 kg até à conclusão do protocolo. Ao longo do tratamento a ALP esteve sempre aumentada tendo o seu valor mais baixo sido registado na 18ª semana, a 789 UI/L.

O protocolo terminou no dia 31 de março de 2022. Passado um mês, foram realizadas análises e uma TC de controlo pós-tratamento. A única alteração bioquímica observada foi o continuado aumento das transaminases hepáticas. A TC de contraste realizada ao tórax e abdómen revelou a ausência de alterações a nível torácico e, a nível abdominal, o fígado apresentava-se generalizadamente aumentado, com margens arredondadas e atenuação pré e pós-contraste normal. O restante abdómen, incluindo os linfonodos, não apresentava alterações. A hepatomegalia inespecífica tinha como principais DDx hepatopatia metabólica/reactiva e infiltração neoplásica (linfoma), tendo sido recomendada novamente PAAF do fígado e baço para descartar infiltração de linfoma. No entanto, a tutora não quis avançar com esta recomendação.

Aquando do último contacto da autora com o caso (7.12.2022), o Diamond continuava em RC, sem sinais indicadores de doença sistémica e com qualidade de vida.

7. Discussão

O caso relatado corresponde a um cão, macho, inteiro, de nove anos e raça indefinida, diagnosticado com linfoma multicêntrico. As fêmeas inteiras parecem associadas a um risco menor de desenvolver linfoma, comparativamente aos machos e às fêmeas esterilizadas.¹⁵ Contudo a predisposição sexual ainda é um fator controverso¹⁵, com autores a defenderem a sua inexistência.^{18,26,27} Apesar de poderem ser afetados cães pertencentes a qualquer faixa etária, a predisposição é maior nos de meia idade, pertencentes ao grupo etário entre os seis e os nove anos^{4,15,23,24}, intervalo no qual o Diamond também se enquadra. O animal chegou à consulta com linfadenomegalia generalizada, o sinal clínico mais comum⁷ (correspondente a uma apresentação

multicêntrica e presente em 80% dos animais)^{4,75}, exibindo, simultaneamente, sinais sistêmicos inespecíficos (verificados, na primeira consulta, em apenas 20% dos animais) como perda de peso, anorexia, prostração e hipertermia.^{4,5}

O diagnóstico de linfoma multicêntrico foi alcançado de forma relativamente rápida, visto que o aumento generalizado dos linfonodos, juntamente com os sinais clínicos, e a exclusão de leishmaniose, a citologia e, posteriormente, a TC possibilitaram a confirmação do diagnóstico presuntivo. Para a citologia, a médica veterinária optou por adquirir a amostra a partir dos linfonodos poplíteos uma vez que, a não ser que sejam os únicos a apresentar lindadenopatia, os mandibulares não são aconselhados para PAAF, por drenarem zonas muito reativas.⁴

A avaliação citológica em detrimento da histopatológica, foi preferida por variadas razões, destacando-se a maior facilidade de execução da citologia, o custo mais reduzido, a segurança do procedimento e a mínima invasão que lhe é característica, bem como a maior rapidez na obtenção dos resultados.^{66,107} Apesar das secções histológicas permitirem uma classificação mais precisa do linfoma⁴, não existiriam alterações no curso do tratamento, quaisquer que fossem os resultados, razão pela qual se evitou o recurso a um diagnóstico mais invasivo (p. ex., biópsia de linfonodo).¹⁷² Adicionalmente, para além da histopatologia não ser obrigatória na prática veterinária, os linfomas, em cães, são maioritariamente difusos e compostos por células de tamanho intermédio a grande, o que torna a avaliação por citologia, geralmente, suficiente. Além disso, a imunocitoquímica, CF e PCR, também podem ser efetuadas a partir da PAAF, não sendo a avaliação histopatológica imprescindível para a realização da imunofenotipagem.¹⁰⁹ Sendo reconhecida como uma técnica bastante específica e sensível, a PAAF pode ser realizada enquanto teste de primeira linha para diagnosticar linfoma⁶⁶ tanto que, perante um diagnóstico citológico de neoplasia, é superior a 90% a probabilidade de se comprovarem características de malignidade (pela especificidade da PAAF).^{105,137} Assim, a citologia é vista como um método de diagnóstico suficiente, segundo alguns autores, caso seja, posteriormente, complementada por imunocitoquímica ou CF^{88,107}, com vista à obtenção da subclassificação e do prognóstico.¹⁷² No caso relatado, por questões monetárias, optou-se pela imunocitoquímica.

As análises laboratoriais realizadas, inicialmente e ao longo do tratamento, foram fundamentais não só para avaliar a presença de síndromes paraneoplásicas, mas também

de doenças concomitantes, uma vez que podiam interferir com o prognóstico do Diamond, bem como possíveis reações adversas à quimioterapia. O aumento das enzimas hepáticas, verificado ao longo de todo o processo, pode derivar de infiltração neoplásica do parênquima hepático ^{4,75} que não foi confirmada por PAAF, por decisão da tutora, não só por motivos financeiros como também por não existirem diferenças significativas no prognóstico e tratamento e pelas desvantagens implícitas à sua realização. Estas incluem o facto de a punção hepática e/ou esplénica envolver sedação e de haver o risco da amostra obtida revelar-se inconclusiva, por contaminação sanguínea, sendo, além disso, um procedimento de realização difícil, decorrente da localização anatómica dos órgãos (região das costelas). Não obstante, existem autores que indicam a realização da PAAF com o intuito de fazer a distinção entre um processo neoplásico ou reativo, sempre que o baço exibir alterações ecográficas, dada a grande sensibilidade da ecografia a este órgão. No que diz respeito ao fígado, para garantir um resultado definitivo à cerca do envolvimento hepático, a PAAF é aconselhada quer o órgão, ao exame ecográfico, se apresente normal ou com alterações. ^{115,198}

Para o estadiamento, o linfoma do Diamond foi classificado segundo as *guidelines* estabelecidas pela OMS, como pertencendo ao estadio IV (envolvimento geral dos linfonodos e possível infiltração do fígado/baço) e subestadio *b* (com sinais sistémicos). Apesar do envolvimento da medula óssea constituir um fator de prognóstico, possibilitando uma classificação tumoral mais fidedigna, não é um exame de carácter obrigatório, principalmente se a intenção do tutor for tratar independentemente do estadio⁴, não tendo sido realizado. Assim, o estadiamento teve apenas por base os exames já referidos previamente e a TC. A escolha da TC, em detrimento de uma primeira radiografia torácica e ecografia abdominal, resultou da preferência da médica veterinária responsável, com o consentimento da tutora.

Existem várias opções para a terapêutica médica, sendo uma delas a vacina autóloga para animais com linfoma B. A combinação entre a imunoterapia APAVAC® e a quimioterapia apresenta vantagens na resposta terapêutica e no TSM, comparativamente ao tratamento quimioterápico por si só. ^{193,194} Contudo, a tutora do Diamond não quis seguir com esta opção, por motivos de índole financeira, para além de que, tratando-se de linfoma multicêntrico, enquanto doença sistémica, a abordagem terapêutica ideal é a quimioterapia. ^{2,4,75}

Assim, e dado o diagnóstico do Diamond de LDCBG (o subtipo mais comum)^{6,8,9,20}, optou-se pelo protocolo CHOP. A escolha de um protocolo quimioterápico de múltiplos agentes teve em consideração a maior eficácia da utilização de protocolos de múltiplos agentes relativamente à utilização de protocolos de agente único⁴, sendo que, dentro da grande diversidade de protocolos, o CHOP, sem fase de manutenção e com duração de 19 semanas, foi escolhido por ser considerado o *gold standard* neste tipo de linfoma.^{2,75,161,169,171}

Antes da sessão com doxorrubicina foi realizada ecocardiografia, visto tratar-se de um quimioterápico cardiotoxíco, devendo sempre ser tido este cuidado sobretudo perante um historial de doença cardíaca conhecida ou quando o paciente é de uma raça predisposta ao desenvolvimento de cardiomiopatia.⁷⁴

Ainda que para uma melhor avaliação prognóstica pudessem ter sido também avaliadas as concentrações da LDH ou de outros marcadores biológicos, neste caso clínico, o diagnóstico e tratamento instituídos foram escolhidos não só em conformidade com a bibliografia recomendada, mas também com as preferências da médica veterinária juntamente com a decisão da tutora.

8. Conclusão

O período de estágio, fulcral para o enriquecimento pessoal e profissional da autora, permitiu que a mesma se moldasse à realidade da futura profissão, além de ter ficado marcado enquanto processo de aprendizagem, através do qual as competências teóricas puderam ser empregues em contexto de prática clínica. Para tal contribuiu, igualmente, a grande diversidade da casuística acompanhada e não só a possibilidade de assistir, mas também de realizar diversos procedimentos médicos.

Em medicina veterinária, a oncologia representa uma área com cada vez mais procura. A razão por detrás deste fenómeno assenta na necessidade, demonstrada pelos tutores, em garantir não só o melhor tratamento como também a realização do mesmo sem verem comprometida a qualidade de vida dos seus animais. Assim, o particular interesse da autora na área de oncologia, aliado à oportunidade de acompanhar todo o caso retratado acima, refletiu a necessidade de uma melhor compreensão do tema *Linfoma Multicêntrico Canino*, conseguida através de um intenso trabalho de pesquisa. Este é um tema que merece um estudo e investigação contínuos, visto que o linfoma multicêntrico

representa o tumor hematopoiético mais frequente em cães e que a prevalência tumoral permanece crescente, sendo uma das principais causas responsáveis pela morte de animais de companhia. Neste sentido, os médicos veterinários assumem especial importância na sensibilização dos tutores, não só para a consciencialização dos efeitos da neoplasia e possíveis recidivas, mesmo após quimioterapia, como também para os potenciais riscos implícitos no próprio tratamento, sendo constante a necessidade de monitorização para controlo da progressão da doença e para garantir que, em caso de recidiva, são tomadas medidas de forma imediata e eficaz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1: WATABE, Ai *et al.* - Alterations of lymphocyte subpopulations in healthy dogs with aging and in dogs with cancer. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. . ISSN 01652427. 142:3–4 (2011) 189–200. doi: 10.1016/j.vetimm.2011.05.008.
- 2: TUREK, Michelle M. *et al.* - Canine Lymphoma and Leukemia. Em ARGYLE, DAVID J.; BREARLEY, MALCOLM J.; TUREK, MICHELLE M. (Eds.) - **Decision Making in Small Animal Oncology**. 1st. ed. [S.l.] : Wiley-Blackwell, 2008. ISBN 978-0-8138-2275-4. p. 171–183.
- 3: STARKEY, M. P.; MURPHY, S. - Using lymph node fine needle aspirates for gene expression profiling of canine lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 8:1 (2010) 56–71. doi: 10.1111/j.1476-5829.2009.00205.x.
- 4: VAIL, David M.; PINKERTON, Marie; YOUNG, Karen M. - Hematopoietic Tumors. Em VAIL, DAVID M.; THAMM, DOUGLAS H.; LIPTAK, JULIUS M. (Eds.) - **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 6th. ed. [S.l.] : Elsevier, 2020. ISBN 978-0-323-59496-7. p. 688–712.
- 5: KLOPFLEISCH, Robert - **Veterinary Oncology, A Short Textbook**. Cham : Springer International Publishing, 2016. ISBN 978-3-319-41122-4.
- 6: ALVES, Margarida *et al.* - Gammaherpesviruses and canine lymphoma: no evidence for direct involvement in commonly occurring lymphomas. **Journal of General Virology**. . ISSN 0022-1317. 96:7 (2015) 1863–1872. doi: 10.1099/vir.0.000106.
- 7: VAIL, David M. - Tumors of the Haemopoietic System. Em DOBSON, JANE; LASCELLES, DUNCAN (Eds.) - **BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology**. 3rd. ed. [S.l.] : Wiley, 2010. ISBN 9781905319213. p. 285–291.
- 8: TONOMURA, Noriko *et al.* - Genome-wide Association Study Identifies Shared Risk Loci Common to Two Malignancies in Golden Retrievers. **PLOS Genetics**. . ISSN 1553-7404. 11:2 (2015) e1004922. doi: 10.1371/journal.pgen.1004922.
- 9: GAVAZZA, A. *et al.* - Faecal microbiota in dogs with multicentric lymphoma. **Veterinary and comparative oncology**. . ISSN 1476-5829. 16:1 (2018) E169–E175. doi: 10.1111/vco.12367.
- 10: SATO, M. *et al.* - 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**. . ISSN 08916640. 25:2 (2011) 292–296. doi: 10.1111/j.1939-1676.2010.0675.x.
- 11: VALLI, V. E. *et al.* - Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 48:1 (2011) 198–211. doi: 10.1177/0300985810379428.
- 12: BRYAN, Jeffrey N. - Tumors of the Hematopoietic System. Em HENRY, CAROLYN J.; HIGGINBOTHAM, MARY LYNN (Eds.) - **Cancer Management in Small Animal Practice**. [S.l.] : Saunders/Elsevier, 2010. ISBN 978-1-4160-3183-3. p. 343–348.

- 13: ELVERS, Ingegerd *et al.* - Exome sequencing of lymphomas from three dog breeds reveals somatic mutation patterns reflecting genetic background. **Genome Research**. . ISSN 1088-9051. 25:11 (2015) 1634–1645. doi: 10.1101/gr.194449.115.
- 14: REIF, J. S.; LOWER, K. S.; OGILVIE, G. K. - Residential Exposure to Magnetic Fields and Risk of Canine Lymphoma. **American Journal of Epidemiology**. . ISSN 0002-9262. 141:4 (1995) 352–359. doi: 10.1093/aje/141.4.352.
- 15: VILLAMIL, J. Armando *et al.* - Hormonal and Sex Impact on the Epidemiology of Canine Lymphoma. **Journal of Cancer Epidemiology**. . ISSN 1687-8558. 2009:2009) 1–7. doi: 10.1155/2009/591753.
- 16: ITO, Daisuke; FRANTZ, Aric M.; MODIANO, Jaime F. - Canine lymphoma as a comparative model for human non-Hodgkin lymphoma: recent progress and applications. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. . ISSN 01652427. 159:3–4 (2014) 192–201. doi: 10.1016/j.vetimm.2014.02.016.
- 17: ULVÉ, Ronan *et al.* - Discovery of Human-Similar Gene Fusions in Canine Cancers. **Cancer Research**. . ISSN 0008-5472. 77:21 (2017) 5721–5727. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2691.
- 18: ZANDVLIET, M. - Canine lymphoma: a review. **The veterinary quarterly**. . ISSN 1875-5941. 36:2 (2016) 76–104. doi: 10.1080/01652176.2016.1152633.
- 19: TAKASHIMA-UEBELHOER, Biki B. *et al.* - Household chemical exposures and the risk of canine malignant lymphoma, a model for human non-Hodgkin’s lymphoma. **Environmental Research**. . ISSN 00139351. 112:2012) 171–176. doi: 10.1016/j.envres.2011.12.003.
- 20: HUGHES, Kelly L. *et al.* - Diffuse Small B-Cell Lymphoma: A High-Grade Malignancy. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 58:5 (2021) 912–922. doi: 10.1177/0300985820985221.
- 21: ARESU, L. *et al.* - Canine indolent and aggressive lymphoma: clinical spectrum with histologic correlation. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 13:4 (2015) 348–362. doi: 10.1111/vco.12048.
- 22: GAVAZZA, Alessandra *et al.* - Association Between Canine Malignant Lymphoma, Living in Industrial Areas, and Use of Chemicals by Dog Owners. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 15:3 (2001) 190–195. doi: 10.1111/j.1939-1676.2001.tb02310.x.
- 23: EDWARDS, D. S. *et al.* - Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs. **Veterinary and comparative oncology**. . ISSN 1476-5829. 1:4 (2003) 200–6. doi: 10.1111/j.1476-5810.2003.00025.x.
- 24: MERLO, D. F. *et al.* - Cancer Incidence in Pet Dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 22:4 (2008) 976–984. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x.
- 25: MODIANO, Jaime F. *et al.* - Distinct B-Cell and T-Cell Lymphoproliferative Disease Prevalence among Dog Breeds Indicates Heritable Risk. **Cancer Research**. . ISSN 0008-5472. 65:13 (2005) 5654–5661. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-4613.

- 26: TESKE, E. - Canine malignant lymphoma: A review and comparison with human non-hodgkin's lymphoma. **Veterinary Quarterly**. . ISSN 0165-2176. 16:4 (1994) 209–219. doi: 10.1080/01652176.1994.9694451.
- 27: GREENLEE, Paul G. *et al.* - Lymphomas in dogs a morphologic, immunologic, and clinical study. **Cancer**. . ISSN 0008-543X. 66:3 (1990) 480–490. doi: 10.1002/1097-0142(19900801)66:3<480::AID-CNCR2820660314>3.0.CO;2-X.
- 28: JAGIELSKI, D. *et al.* - **A Retrospective Study of the Incidence and Prognostic Factors of Multicentric Lymphoma in Dogs (1998-2000)** [Em linha] Disponível em WWW:<URL:www.blackwell.de/synergy>.
- 29: LUETHCKE, Kristofer R. *et al.* - Environmental exposures and lymphoma risk: a nested case-control study using the Golden Retriever Lifetime Study cohort. **Canine medicine and genetics**. . ISSN 2662-9380. 9:1 (2022) 10. doi: 10.1186/s40575-022-00122-9.
- 30: COUTO, Guillermo C. - Oncology. Em COUTO, GUILLERMO C. (Ed.) - **Small Animal Internal Medicine**. 6th. ed. [S.l.] : Elsevier, 2019. p. 1257–1310.
- 31: RUPLE, A.; AVERY, A. C.; MORLEY, P. S. - Differences in the geographic distribution of lymphoma subtypes in Golden retrievers in the USA. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765829. 15:4 (2017) 1590–1597. doi: 10.1111/vco.12258.
- 32: HAYES, Howard M. *et al.* - Case-Control Study of Canine Malignant Lymphoma: Positive Association With Dog Owner's Use of 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid Herbicides. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**. . ISSN 0027-8874. 83:17 (1991) 1226–1231. doi: 10.1093/jnci/83.17.1226.
- 33: KANEENE, J. B.; MILLER, R. - Re-analysis of 2,4-D use and the occurrence of canine malignant lymphoma. **Veterinary and human toxicology**. . ISSN 0145-6296. 41:3 (1999) 164–70.
- 34: GARABRANT, David H.; PHILBERT, Martin A. - Review of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) Epidemiology and Toxicology. **Critical Reviews in Toxicology**. . ISSN 1040-8444. 32:4 (2002) 233–257. doi: 10.1080/20024091064237.
- 35: PINELLO, K. C. *et al.* - Immunocytochemical study of canine lymphomas and its correlation with exposure to tobacco smoke. **Veterinary World**. . ISSN 09728988. 10:11 (2017) 1307–1313. doi: 10.14202/vetworld.2017.1307-1313.
- 36: PASTOR, M. *et al.* - 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**. . ISSN 0891-6640. 23:2 (2009) 301–10. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0255.x.
- 37: MARCONATO, L. *et al.* - Association between waste management and cancer in companion animals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 23:3 (2009) 564–569. doi: 10.1111/j.1939-1676.2009.0278.x.
- 38: MUDALIAR, Manikhandan A. V. *et al.* - Comparative Gene Expression Profiling Identifies Common Molecular Signatures of NF- κ B Activation in Canine and Human Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL). **PLoS ONE**. . ISSN 1932-6203. 8:9 (2013) e72591. doi: 10.1371/journal.pone.0072591.

- 39: THAMM, Douglas H. *et al.* - DNA Repair Deficiency as a Susceptibility Marker for Spontaneous Lymphoma in Golden Retriever Dogs: A Case-Control Study. **PLoS ONE**. . ISSN 1932-6203. 8:7 (2013) e69192. doi: 10.1371/journal.pone.0069192.
- 40: HAHN, K. A. *et al.* - Diagnostic and Prognostic Importance of Chromosomal Aberrations Identified in 61 Dogs with Lymphosarcoma. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 31:5 (1994) 528–540. doi: 10.1177/030098589403100504.
- 41: THOMAS, R. *et al.* - Chromosome aberrations in canine multicentric lymphomas detected with comparative genomic hybridisation and a panel of single locus probes. **British Journal of Cancer**. . ISSN 0007-0920. 89:8 (2003) 1530–1537. doi: 10.1038/sj.bjc.6601275.
- 42: AVERY, Anne C. - The Genetic and Molecular Basis for Canine Models of Human Leukemia and Lymphoma. **Frontiers in Oncology**. . ISSN 2234-943X. 10:2020). doi: 10.3389/fonc.2020.00023.
- 43: GRONDONA, Paula *et al.* - NF-κB Activation in Lymphoid Malignancies: Genetics, Signaling, and Targeted Therapy. **Biomedicines**. . ISSN 2227-9059. 6:2 (2018) 38. doi: 10.3390/biomedicines6020038.
- 44: THOMAS, Rachael *et al.* - Refining tumor-associated aneuploidy through ‘genomic recoding’ of recurrent DNA copy number aberrations in 150 canine non-Hodgkin lymphomas. **Leukemia & Lymphoma**. . ISSN 1042-8194. 52:7 (2011) 1321–1335. doi: 10.3109/10428194.2011.559802.
- 45: BREEN, Matthew; MODIANO, Jaime F. - Evolutionarily conserved cytogenetic changes in hematological malignancies of dogs and humans – man and his best friend share more than companionship. **Chromosome Research**. . ISSN 0967-3849. 16:1 (2008) 145–154. doi: 10.1007/s10577-007-1212-4.
- 46: OSTRAND-ROSENBERG, Suzanne - Immune surveillance: a balance between protumor and antitumor immunity. **Current Opinion in Genetics & Development**. . ISSN 0959437X. 18:1 (2008) 11–18. doi: 10.1016/j.gde.2007.12.007.
- 47: FOSTER, A. P. *et al.* - Pemphigus foliaceus in association with systemic lupus erythematosus, and subsequent lymphoma in a cocker spaniel. **Journal of Small Animal Practice**. . ISSN 0022-4510. 41:6 (2000) 266–270. doi: 10.1111/j.1748-5827.2000.tb03938.x.
- 48: SANTORO, D.; MARSELLA, R.; HERNANDEZ, J. - Investigation on the association between atopic dermatitis and the development of mycosis fungoides in dogs: a retrospective case-control study. **Veterinary Dermatology**. . ISSN 0959-4493. 18:2 (2007) 101–106. doi: 10.1111/j.1365-3164.2007.00582.x.
- 49: KELLER, Evan T. - Immune-mediated disease as a risk factor for canine lymphoma. **Cancer**. . ISSN 0008-543X. 70:9 (1992) 2334–2337. doi: 10.1002/1097-0142(19921101)70:9<2334::AID-CNCR2820700920>3.0.CO;2-7.
- 50: BLACKWOOD, L. *et al.* - Multicentric lymphoma in a dog after cyclosporine therapy. **Journal of Small Animal Practice**. . ISSN 0022-4510. 45:5 (2004) 259–262. doi: 10.1111/j.1748-5827.2004.tb00233.x.
- 51: SCHMIEDT, C. W. *et al.* - Incidence and risk factors for development of malignant neoplasia after feline renal transplantation and cyclosporine-based immunosuppression.

- Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 7:1 (2009) 45–53. doi: 10.1111/j.1476-5829.2008.00172.x.
- 52: MANCUSO, Salvatrice *et al.* - Immunosenescence and lymphomagenesis. **Immunity & Ageing**. . ISSN 1742-4933. 15:1 (2018) 22. doi: 10.1186/s12979-018-0130-y.
- 53: FALCO, Giulia DE; ROGENA, Emily A.; LEONCINI, Lorenzo - Infectious agents and lymphoma. **Seminars in Diagnostic Pathology**. . ISSN 07402570. 28:2 (2011) 178–187. doi: 10.1053/j.semmp.2011.01.003.
- 54: HENRIQUES, Joaquim *et al.* - Canine lymphoma and vector-borne diseases: Molecular and serological evaluation of a possible complicity. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 1476-5810. 19:1 (2021) 183–190. doi: 10.1111/vco.12658.
- 55: BRUNKER, Jill D.; HOOVER, John P. - B-cell lymphoma in a dog with ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*) and systemic histoplasmosis (*Histoplasma capsulatum*). **The Canadian Veterinary Journal**. 2007) 292–295.
- 56: LANE, E. P.; LOBETTI, R. G. - Renal T-cell lymphoma with cerebral metastasis in a dog with chronic canine ehrlichiosis. **Journal of the South African Veterinary Association**. . ISSN 2224-9435. 73:2 (2002) 83–85. doi: 10.4102/jsava.v73i2.563.
- 57: DUNCAN, A. W. *et al.* - *Bartonella* DNA in the Blood and Lymph Nodes of Golden Retrievers with Lymphoma and in Healthy Controls. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 22:1 (2008) 89–95. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.0018.x.
- 58: FERRO, S. *et al.* - *Leishmania* Amastigotes in Neoplastic Cells of 3 Nonhistiocytic Canine Tumors. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 50:5 (2013) 749–752. doi: 10.1177/0300985813480192.
- 59: FOGLIA MANZILLO, Valentina *et al.* - Extranodal $\gamma\delta$ -T-cell lymphoma in a dog with leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**. . ISSN 02756382. 37:3 (2008) 298–301. doi: 10.1111/j.1939-165X.2008.00048.x.
- 60: STONE, Richard H. *et al.* - Lymphosarcoma associated with *Heterobilharzia americana* infection in a dog. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. . ISSN 1040-6387. 23:5 (2011) 1065–1070. doi: 10.1177/1040638711416972.
- 61: HUANG, Shih-Hung *et al.* - Evidence of an oncogenic gammaherpesvirus in domestic dogs. **Virology**. . ISSN 00426822. 427:2 (2012) 107–117. doi: 10.1016/j.virol.2012.02.013.
- 62: MILMAN, Gemma; SMITH, Ken C.; ERLES, Kerstin - Serological detection of Epstein-Barr virus infection in dogs and cats. **Veterinary Microbiology**. . ISSN 03781135. 150:1–2 (2011) 15–20. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.12.013.
- 63: FARINHA, Pedro; GASCOYNE, Randy D. - *Helicobacter pylori* and MALT Lymphoma. **Gastroenterology**. . ISSN 00165085. 128:6 (2005) 1579–1605. doi: 10.1053/j.gastro.2005.03.083.
- 64: ROSSI, Giacomo *et al.* - A Conventional Beagle Dog Model for Acute and Chronic Infection with *Helicobacter pylori*. **Infection and Immunity**. . ISSN 0019-9567. 67:6 (1999) 3112–3120. doi: 10.1128/IAI.67.6.3112-3120.1999.

- 65: SAYAG, D.; FOURNEL-FLEURY, C.; PONCE, F. - Prognostic significance of morphotypes in canine lymphomas: A systematic review of literature. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 16:1 (2018) 12–19. doi: 10.1111/vco.12320.
- 66: SEELIG, Davis *et al.* - The Comparative Diagnostic Features of Canine and Human Lymphoma. **Veterinary Sciences**. . ISSN 2306-7381. 3:2 (2016) 11. doi: 10.3390/vetsci3020011.
- 67: PONCE, F. *et al.* - 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**. . ISSN 0300-9858. 47:3 (2010) 414–433. doi: 10.1177/0300985810363902.
- 68: VALLI, V. E. *et al.* - Canine lymphomas: association of classification type, disease stage, tumor subtype, mitotic rate, and treatment with survival. **Veterinary pathology**. . ISSN 1544-2217. 50:5 (2013) 738–48. doi: 10.1177/0300985813478210.
- 69: VALLI, V. E. *et al.* - Canine Indolent Nodular Lymphoma. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 43:3 (2006) 241–256. doi: 10.1354/vp.43-3-241.
- 70: STEFANELLO, D. *et al.* - Splenic Marginal Zone Lymphoma in 5 Dogs (2001-2008). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 25:1 (2011) 90–93. doi: 10.1111/j.1939-1676.2010.0639.x.
- 71: BURKHARD, Mary Jo; BIENZLE, Dorothee - Making Sense of Lymphoma Diagnostics in Small Animal Patients. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. . ISSN 01955616. 43:6 (2013) 1331–1347. doi: 10.1016/j.cvsm.2013.07.004.
- 72: FOURNEL-FLEURY, C. *et al.* - Cytohistological and immunological classification of canine malignant lymphomas: Comparison with human non-Hodgkin's lymphomas. **Journal of Comparative Pathology**. . ISSN 00219975. 117:1 (1997) 35–59. doi: 10.1016/S0021-9975(97)80065-5.
- 73: PILERI, Stefano A. *et al.* - Lymphoma classification: the quiet after the storm. **Seminars in Diagnostic Pathology**. . ISSN 07402570. 28:2 (2011) 113–123. doi: 10.1053/j.semdp.2011.02.001.
- 74: ETTINGER, Susan N. - Principles of treatment for canine lymphoma. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**. . ISSN 10962867. 18:2 (2003) 92–97. doi: 10.1053/svms.2003.36622.
- 75: VAIL, David M. - Hematopoietic Tumors. Em ETTINGER, STEPHEN J.; FELDMAN, EDWARD C.; CÔTÉ, ETIENNE (Eds.) - **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 8th. ed. [S.l.] : Elsevier, 2017. p. 5000–5015.
- 76: COYLE, K. A.; STEINBERG, H. - Characterization of Lymphocytes in Canine Gastrointestinal Lymphoma. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 41:2 (2004) 141–146. doi: 10.1354/vp.41-2-141.
- 77: COUTO, K. M. *et al.* - Clinical characteristics and outcome in dogs with small cell T-cell intestinal lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 16:3 (2018) 337–343. doi: 10.1111/vco.12384.

- 78: MATSUMOTO, I. *et al.* - Pathological features of intestinal T-cell lymphoma in Shiba dogs in Japan. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 16:4 (2018) 417–423. doi: 10.1111/vco.12396.
- 79: DAY, M. J. - Review of thymic pathology in 30 cats and 36 dogs. **Journal of Small Animal Practice**. . ISSN 0022-4510. 38:9 (1997) 393–403. doi: 10.1111/j.1748-5827.1997.tb03492.x.
- 80: FOURNEL-FLEURY, C. *et al.* - Canine T-cell Lymphomas: A Morphological, Immunological, and Clinical Study of 46 New Cases. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 39:1 (2002) 92–109. doi: 10.1354/vp.39-1-92.
- 81: BHANG, Dong Ha *et al.* - Epitheliotropic cutaneous lymphoma (mycosis fungoides) in a dog. **Journal of Veterinary Science**. . ISSN 1229-845X. 7:1 (2006) 97. doi: 10.4142/jvs.2006.7.1.97.
- 82: MOORE, Peter F.; AFFOLTER, Verena K.; KELLER, Stefan M. - Canine inflamed nonepitheliotropic cutaneous T-cell lymphoma: a diagnostic conundrum. **Veterinary Dermatology**. . ISSN 09594493. 24:1 (2013) 204-e45. doi: 10.1111/j.1365-3164.2012.01106.x.
- 83: FONTAINE, Jacques; HEIMANN, Marianne; DAY, Michael J. - Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review of 30 cases. **Veterinary Dermatology**. . ISSN 09594493. 21:3 (2010) 267–275. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00793.x.
- 84: BIENZLE, Dorothee; VERNAU, William - The Diagnostic Assessment of Canine Lymphoma: Implications for Treatment. **Clinics in Laboratory Medicine**. . ISSN 02722712. 31:1 (2011) 21–39. doi: 10.1016/j.cll.2010.10.001.
- 85: FLOOD-KNAPIK, K. E. *et al.* - Clinical, histopathological and immunohistochemical characterization of canine indolent lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 11:4 (2013) 272–286. doi: 10.1111/j.1476-5829.2011.00317.x.
- 86: BARBER, L. G.; WEISHAAR, K. M. - Criteria for designation of clinical substage in canine lymphoma: a survey of veterinary oncologists. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 14:2016) 32–39. doi: 10.1111/vco.12086.
- 87: MOORE, Antony S. - Treatment of T cell lymphoma in dogs. **Veterinary Record**. . ISSN 00424900. 179:11 (2016) 277–277. doi: 10.1136/vr.103456.
- 88: COMAZZI, S.; GELAIN, M. E. - Use of flow cytometric immunophenotyping to refine the cytological diagnosis of canine lymphoma. **The Veterinary Journal**. . ISSN 10900233. 188:2 (2011) 149–155. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.011.
- 89: BAILEY, Dennis B. - Paraneoplastic Syndromes. Em VAIL, DAVID M.; THAMM, DOUGLAS H.; LIPTAK, JULIUS M. (Eds.) - **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 6th. ed. [S.l.] : Elsevier, 2020. ISBN 978-0-323-59496-7. p. 98–112.
- 90: DICKINSON, Ryan M. - Canine Lymphosarcoma: Overcoming diagnostic obstacles and introduction to the latest diagnostic techniques. **The Canadian Veterinary Journal**. 2008) 305–308. doi: 10.4141/cjas69-041.
- 91: MORRIS, Joanna; DOBSON, Jane - Haematopoietic System. Em MORRIS, JOANNA; DOBSON, JANE (Eds.) - **Small Animal Oncology**. 1st. ed. [S.l.] : Blackwell Science, 2001. ISBN 0-632-05282-1. p. 228–239.

- 92: MARCONATO, Laura - Generalized lymphadenomegaly. Em FRACASSI, FEDERICO (Ed.) - **Diagnostic and therapeutic algorithms in internal medicine for dogs and cats**. 1st. ed. [S.l.] : Edra Publishing, 2022. p. 121–124.
- 93: ABBO, Andrew H.; LUCROY, Michael D. - Assessment of anemia as an independent predictor of response to chemotherapy and survival in dogs with lymphoma: 96 cases (1993–2006). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. . ISSN 0003-1488. 231:12 (2007) 1836–1842. doi: 10.2460/javma.231.12.1836.
- 94: MILLER, A. G. *et al.* - Anemia is associated with decreased survival time in dogs with lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 23:1 (2009) 116–122. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0210.x.
- 95: KUBOTA, Akiko *et al.* - Parathyroid Hormone-Related Protein (PTHrP) Produced by Dog Lymphoma Cells. **Journal of Veterinary Medical Science**. . ISSN 0916-7250. 64:9 (2002) 835–837. doi: 10.1292/jvms.64.835.
- 96: GREGORY MACEWEN, E.; HURVITZ, Arthur I. - Diagnosis and Management of Monoclonal Gammopathies. **Veterinary Clinics of North America**. . ISSN 00910279. 7:1 (1977) 119–132. doi: 10.1016/S0091-0279(77)50010-X.
- 97: MARCONATO, L. *et al.* - Conformity and controversies in the diagnosis, staging and follow-up evaluation of canine nodal lymphoma: a systematic review of the last 15 years of published literature. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 15:3 (2017) 1029–1040. doi: 10.1111/vco.12244.
- 98: MARCONATO, Laura - The staging and treatment of multicentric high-grade lymphoma in dogs: A review of recent developments and future prospects. **The Veterinary Journal**. . ISSN 10900233. 188:1 (2011) 34–38. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.04.027.
- 99: WIGGANS, K. Tomo *et al.* - Presumed solitary intraocular or conjunctival lymphoma in dogs and cats: 9 cases (1985–2013). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. . ISSN 0003-1488. 244:4 (2014) 460–470. doi: 10.2460/javma.244.4.460.
- 100: MARTINEAU, Mireille M. C. - Multicentric canine lymphoma in a 12-year-old keeshond: chemotherapy options. **The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire canadienne**. . ISSN 0008-5286. 43:9 (2002) 709–11.
- 101: GRINDEM, Carol B. *et al.* - Thrombocytopenia Associated With Neoplasia in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 8:6 (1994) 400–405. doi: 10.1111/j.1939-1676.1994.tb03258.x.
- 102: TASCA, Silvia *et al.* - Hematologic abnormalities and flow cytometric immunophenotyping results in dogs with hematopoietic neoplasia: 210 cases (2002–2006). **Veterinary Clinical Pathology**. . ISSN 02756382. 38:1 (2009) 2–12. doi: 10.1111/j.1939-165X.2008.00099.x.
- 103: GRAFF, Emily C. *et al.* - Hematologic findings predictive of bone marrow disease in dogs with multicentric large-cell lymphoma. **Veterinary Clinical Pathology**. . ISSN 02756382. 43:4 (2014) 505–512. doi: 10.1111/vcp.12182.
- 104: BRYAN, Jeffrey N. - The Current State of Clinical Application of Serum Biomarkers for Canine Lymphoma. **Frontiers in Veterinary Science**. . ISSN 2297-1769. 3:SEP (2016). doi: 10.3389/fvets.2016.00087.

- 105: KU, C. K.; KASS, P. H.; CHRISTOPHER, M. M. - Cytologic-histologic concordance in the diagnosis of neoplasia in canine and feline lymph nodes: a retrospective study of 367 cases. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 15:4 (2017) 1206–1217. doi: 10.1111/vco.12256.
- 106: MUNASINGHE, Lilani I. *et al.* - Evaluation of lymph node aspirates at diagnosis and relapse in dogs with high-grade multicentric lymphoma and comparison with survival time. **Veterinary Clinical Pathology**. . ISSN 02756382. 44:2 (2015) 310–319. doi: 10.1111/vcp.12243.
- 107: SAPIERZYŃSKI, R. *et al.* - Cytodiagnosics of canine lymphomas – possibilities and limitations. **Polish Journal of Veterinary Sciences**. . ISSN 2300-2557. 19:2 (2016) 433–439. doi: 10.1515/pjvs-2016-0055.
- 108: YOUNG, Karen M.; FRIEDRICHS, Kristen R. - Diagnostic Cytopathology in Clinical Oncology. Em VAIL, DAVID M.; THAMM, DOUGLAS H.; LIPTAK, JULIUS M. (Eds.) - **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 6th. ed. [S.l.] : Elsevier, 2020. p. 126–145.
- 109: REGAN, R. C.; KAPLAN, M. S. W.; BAILEY, D. B. - Diagnostic evaluation and treatment recommendations for dogs with substage-a high-grade multicentric lymphoma: results of a survey of veterinarians. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 11:4 (2013) 287–295. doi: 10.1111/j.1476-5829.2012.00318.x.
- 110: MORRIS, Joanna; DOBSON, Jane - Diagnosis and Staging. Em MORRIS, JOANNA; DOBSON, JANE (Eds.) - **Small Animal Oncology**. 1st. ed. [S.l.] : Blackwell Science, 2001. p. 15–30.
- 111: EHRHART, Nicole P. - Biopsy and Sentinel Lymph Node Mapping Principles. Em VAIL, DAVID M.; THAMM, DOUGLAS H.; LIPTAK, JULIUS M. (Eds.) - **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 6th. ed. [S.l.] : Elsevier, 2020. p. 158–163.
- 112: WITHROW, S. J. - Biopsy Principles. **Veterinary Quarterly**. . ISSN 0165-2176. 20:sup1 (1998) S14–S15. doi: 10.1080/01652176.1998.10807385.
- 113: RIONDATO, Fulvio *et al.* - Analytical and diagnostic validation of a flow cytometric strategy to quantify blood and marrow infiltration in dogs with large B-cell lymphoma. **Cytometry Part B: Clinical Cytometry**. . ISSN 15524949. 90:6 (2016) 525–530. doi: 10.1002/cyto.b.21353.
- 114: COMAZZI, S. *et al.* - Effects of pre-analytical variables on flow cytometric diagnosis of canine lymphoma: A retrospective study (2009–2015). **The Veterinary Journal**. . ISSN 10900233. 232:2018) 65–69. doi: 10.1016/j.tvjl.2017.12.018.
- 115: JONES, I. D. *et al.* - Computed tomographic findings in 12 cases of canine multicentric lymphoma with splenic and hepatic involvement. **Journal of Small Animal Practice**. . ISSN 00224510. 58:11 (2017) 622–628. doi: 10.1111/jsap.12714.
- 116: BLACKWOOD, L.; SULLIVAN, M.; LAWSON, H. - Radiographic abnormalities in canine multicentric lymphoma: A review of 84 cases. **Journal of Small Animal Practice**. . ISSN 0022-4510. 38:2 (1997) 62–69. doi: 10.1111/j.1748-5827.1997.tb02989.x.

- 117: EPPERLY, Erin *et al.* - Dogs with acute myeloid leukemia or lymphoid neoplasms (large cell lymphoma or acute lymphoblastic leukemia) may have indistinguishable mediastinal masses on radiographs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. . ISSN 10588183. 59:5 (2018) 507–515. doi: 10.1111/vru.12622.
- 118: SWARTE, MARIE DE *et al.* - COMPARISON OF SONOGRAPHIC FEATURES OF BENIGN AND NEOPLASTIC DEEP LYMPH NODES IN DOGS. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. . ISSN 10588183. 52:4 (2011) 451–456. doi: 10.1111/j.1740-8261.2011.01808.x.
- 119: BELOTTA, Alexandra F. *et al.* - Sonography and sonoelastography in the detection of malignancy in superficial lymph nodes of dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 0891-6640. 33:3 (2019) 1403–1413. doi: 10.1111/jvim.15469.
- 120: LAWRENCE, JESSICA *et al.* - USE OF 3'-DEOXY-3'-[¹⁸F]FLUOROTHYMININE PET/CT FOR EVALUATING RESPONSE TO CYTOTOXIC CHEMOTHERAPY IN DOGS WITH NON-HODGKIN'S LYMPHOMA. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. . ISSN 10588183. 50:6 (2009) 660–668. doi: 10.1111/j.1740-8261.2009.01612.x.
- 121: LEBLANC, AMY K. *et al.* - ¹⁸F-DG-PET IMAGING IN CANINE LYMPHOMA AND CUTANEOUS MAST CELL TUMOR. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. . ISSN 10588183. 50:2 (2009) 215–223. doi: 10.1111/j.1740-8261.2009.01520.x.
- 122: FRANTZ, A. M. *et al.* - Molecular Profiling Reveals Prognostically Significant Subtypes of Canine Lymphoma. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 50:4 (2013) 693–703. doi: 10.1177/0300985812465325.
- 123: FISHER, D. J. *et al.* - Immunophenotyping Lymphomas in Dogs: A Comparison of Results From Fine Needle Aspirate and Needle Biopsy Samples. **Veterinary Clinical Pathology**. . ISSN 02756382. 24:4 (1995) 118–123. doi: 10.1111/j.1939-165X.1995.tb00951.x.
- 124: WILKERSON, M. J. *et al.* - Lineage differentiation of canine lymphoma/leukemias and aberrant expression of CD molecules. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. . ISSN 01652427. 106:3–4 (2005) 179–196. doi: 10.1016/j.vetimm.2005.02.020.
- 125: GIBSON, D. *et al.* - Flow Cytometric Immunophenotype of Canine Lymph Node Aspirates. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 18:5 (2004) 710–717. doi: 10.1111/j.1939-1676.2004.tb02610.x.
- 126: GELAIN, M. E. *et al.* - Aberrant phenotypes and quantitative antigen expression in different subtypes of canine lymphoma by flow cytometry. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. . ISSN 01652427. 121:3–4 (2008) 179–188. doi: 10.1016/j.vetimm.2007.09.018.
- 127: HENRIQUES, J. *et al.* - Evaluation of a panel of different antibodies to assess B-cell lineage by immunohistochemistry using a tissue microarray in canine lymphoma. . **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 2013). doi: 10.1111/vco.12005.

- 128: SIRIVISOOT, Sirintra *et al.* - Application of Immunophenotyping and Heteroduplex Polymerase Chain Reaction (hPARR) for Diagnosis of Canine Lymphomas. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**. 2016).
- 129: EHRHART, E. J. *et al.* - Polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangement: Benchmarking performance of a lymphoid clonality assay in diverse canine sample types. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 0891-6640. 33:3 (2019) 1392–1402. doi: 10.1111/jvim.15485.
- 130: JOETZKE, Alexa E. *et al.* - Flow cytometric evaluation of peripheral blood and bone marrow and fine-needle aspirate samples from multiple sites in dogs with multicentric lymphoma. **American Journal of Veterinary Research**. . ISSN 0002-9645. 73:6 (2012) 884–893. doi: 10.2460/ajvr.73.6.884.
- 131: CULMSEE, Katja; NOLTE, Ingo - Flow cytometry and its application in small animal oncology. **Methods in Cell Science**. 2002) 49–54. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1024133628927>.
- 132: ILCHYSHYN, Nic - Immunophenotyping of canine lymphoma via flow cytometry Identification. **Vet Times**. 2016) 1–3.
- 133: THALHEIM, L. *et al.* - Lymphoma Immunophenotype of Dogs Determined by Immunohistochemistry, Flow Cytometry, and Polymerase Chain Reaction for Antigen Receptor Rearrangements. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 27:6 (2013) 1509–1516. doi: 10.1111/jvim.12185.
- 134: ANIOŁEK, Olga; GAJEWSKI, Zdzisław; GIZIŃSKI, Sławomir - Experimental immunology Application of flow cytometry in diagnosing lymphomas in dogs and cats. **Central European Journal of Immunology**. . ISSN 1426-3912. 3:3 (2014) 327–330. doi: 10.5114/ceji.2014.45943.
- 135: WILKERSON, Melinda J. - Principles and Applications of Flow Cytometry and Cell Sorting in Companion Animal Medicine. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. . ISSN 01955616. 42:1 (2012) 53–71. doi: 10.1016/j.cvsm.2011.09.012.
- 136: AVERY, Anne - Molecular Diagnostics of Hematologic Malignancies. **Topics in Companion Animal Medicine**. . ISSN 19389736. 24:3 (2009) 144–150. doi: 10.1053/j.tcam.2009.03.005.
- 137: WAUGH, Elspeth M. *et al.* - Optimisation and validation of a PCR for antigen receptor rearrangement (PARR) assay to detect clonality in canine lymphoid malignancies. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. . ISSN 18732534. 182:2016) 115–124. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.10.008.
- 138: KELLER, S. M.; VERNAU, W.; MOORE, P. F. - Clonality Testing in Veterinary Medicine. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 53:4 (2016) 711–725. doi: 10.1177/0300985815626576.
- 139: LANGNER, Kathrin FA *et al.* - Detection of clonal antigen receptor gene rearrangement in dogs with lymphoma by real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis. **BMC Veterinary Research**. . ISSN 1746-6148. 10:1 (2014) 1. doi: 10.1186/1746-6148-10-1.

- 140: TAKANOSU, Masamine; KAGAWA, Yumiko - Comparison of primer sets for T-cell clonality testing in canine intestinal lymphoma. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. . ISSN 1040-6387. 27:5 (2015) 645–650. doi: 10.1177/1040638715600197.
- 141: THILAKARATNE, Dilini N. *et al.* - Clonality and phenotyping of canine lymphomas before chemotherapy and during remission using polymerase chain reaction (PCR) on lymph node cytologic smears and peripheral blood. **The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne**. . ISSN 0008-5286. 51:1 (2010) 79–84.
- 142: BURNETT, R. C. *et al.* - Diagnosis of Canine Lymphoid Neoplasia Using Clonal Rearrangements of Antigen Receptor Genes. **Veterinary Pathology**. . ISSN 0300-9858. 40:1 (2003) 32–41. doi: 10.1354/vp.40-1-32.
- 143: MELENDEZ-LAZO, Antonio *et al.* - Clonality testing in the lymph nodes from dogs with lymphadenomegaly due to *Leishmania infantum* infection. **PLOS ONE**. . ISSN 1932-6203. 14:12 (2019) e0226336. doi: 10.1371/journal.pone.0226336.
- 144: FLORY, Andrea B. *et al.* - Stage Migration in Dogs with Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 21:5 (2007) 1041–1047. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.tb03062.x.
- 145: RASKIN, R. E.; KREHBIEL, J. D. - Prevalence of leukemic blood and bone marrow in dogs with multicentric lymphoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. . ISSN 0003-1488. 194:10 (1989) 1427–9.
- 146: NERSCHBACH, V. *et al.* - Splenic and hepatic ultrasound and cytology in canine lymphoma: effects of findings on stage migration and assessment of prognosis. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 14:2016) 82–94. doi: 10.1111/vco.12127.
- 147: AUBRY, O. A. *et al.* - Evaluation of bone marrow aspirates from multiple sites for staging of canine lymphoma and mast cell tumours. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 12:1 (2014) 58–66. doi: 10.1111/j.1476-5829.2012.00331.x.
- 148: MARTINI, V. *et al.* - Peripheral blood abnormalities and bone marrow infiltration in canine large B-cell lymphoma: is there a link? **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 13:2 (2015) 117–123. doi: 10.1111/vco.12024.
- 149: ARESU, Luca *et al.* - 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. **The Veterinary Journal**. . ISSN 10900233. 200:2 (2014) 318–324. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.03.006.
- 150: ŠKOR, O. - Clinical staging in canine non-Hodgkin lymphoma. **Fourth Meeting of the European Canine Lymphoma Group, CH-Lugano, June 22nd 2019 How to Stage Canine Lymphoma in 2019**. 2019) 8–11.
- 151: VAIL, D. M. *et al.* - Response evaluation criteria for peripheral nodal lymphoma in dogs (v1.0)-a veterinary cooperative oncology group (VCOG) consensus document. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 8:1 (2010) 28–37. doi: 10.1111/j.1476-5829.2009.00200.x.

- 152: MARCONATO, Laura *et al.* - Assessment of bone marrow infiltration diagnosed by flow cytometry in canine large B cell lymphoma: Prognostic significance and proposal of a cut-off value. **The Veterinary Journal**. . ISSN 10900233. 197:3 (2013) 776–781. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.05.003.
- 153: SABA, C. F. *et al.* - Combination Chemotherapy with Continuous l-Asparaginase, Lomustine, and Prednisone for Relapsed Canine Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 23:5 (2009) 1058–1063. doi: 10.1111/j.1939-1676.2009.0357.x.
- 154: KRÓL, M. *et al.* - Why chemotherapy can fail? **Polish journal of veterinary sciences**. . ISSN 1505-1773. 13:2 (2010) 399–406.
- 155: MEALEY, K. L. - Therapeutic implications of the MDR-1 gene. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. . ISSN 0140-7783. 27:5 (2004) 257–264. doi: 10.1111/j.1365-2885.2004.00607.x.
- 156: GRAMER, I.; KESSLER, M.; GEYER, J. - Determination of MDR1 gene expression for prediction of chemotherapy tolerance and treatment outcome in dogs with lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 13:4 (2015) 363–372. doi: 10.1111/vco.12051.
- 157: HUBER, Paula C.; MARUIAMA, Cintia H.; ALMEIDA, Wanda P. - Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química Nova**. . ISSN 0100-4042. 33:10 (2010) 2148–2154. doi: 10.1590/S0100-40422010001000027.
- 158: VAJDOVICH, Péter *et al.* - Evaluation of Pgp (MDR1) immunohistochemistry in canine lymphoma – prognostic and clinical aspects. **Acta Veterinaria Hungarica**. . ISSN 0236-6290. 66:2 (2018) 309–328. doi: 10.1556/004.2018.028.
- 159: MEALEY, Katrina - **MDR1 Gene Mutations & Drug Therapy**
- 160: MOORE, Antony S.; FRIMBERGER, Angela E. - Usefulness of chemotherapy for the treatment of very elderly dogs with multicentric lymphoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. . ISSN 0003-1488. 252:7 (2018) 852–859. doi: 10.2460/javma.252.7.852.
- 161: ELLIOTT, J. W. *et al.* - Epirubicin as part of a multi-agent chemotherapy protocol for canine lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 11:3 (2013) 185–198. doi: 10.1111/j.1476-5829.2011.00311.x.
- 162: CURRAN, K.; THAMM, D. H. - Retrospective analysis for treatment of naïve canine multicentric lymphoma with a 15-week, maintenance-free CHOP protocol. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 14:2016) 147–155. doi: 10.1111/vco.12163.
- 163: LAUTSCHAM, E. M. *et al.* - Comparison of a CHOP-LAsp-based protocol with and without maintenance for canine multicentric lymphoma. **Veterinary Record**. . ISSN 00424900. 180:12 (2017) 303–303. doi: 10.1136/vr.104077.
- 164: BURTON, J. H.; GARRETT-MAYER, E.; THAMM, D. H. - Evaluation of a 15-week CHOP protocol for the treatment of canine multicentric lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 11:4 (2013) 306–315. doi: 10.1111/j.1476-5829.2012.00324.x.

- 165: GUSTAFSON, Daniel L.; BAILEY, Dennis B. - Cancer Chemotherapy. Em VAIL, DAVID M.; THAMM, DOUGLAS H.; LIPTAK, JULIUS M. (Eds.) - **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 6th. ed. [S.l.] : Elsevier, 2020. p. 182–208.
- 166: GAUTHIER, M. J. *et al.* - The Immunophenotype of Peripheral Blood Lymphocytes in Clinically Healthy Dogs and Dogs with Lymphoma in Remission. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 19:2 (2005) 193–199. doi: 10.1111/j.1939-1676.2005.tb02681.x.
- 167: ALEXANDRAKIS, I. *et al.* - 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**. . ISSN 14765810. 15:1 (2017) 6–17. doi: 10.1111/vco.12123.
- 168: ZENKER, I. *et al.* - Thirteen-week dose-intensifying simultaneous combination chemotherapy protocol for malignant lymphoma in dogs. **Veterinary Record**. . ISSN 00424900. 167:19 (2010) 744–748. doi: 10.1136/vr.c5081.
- 169: HOSOYA, Kenji *et al.* - Comparison of COAP and UW-19 Protocols for Dogs with Multicentric Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 21:6 (2007) 1355–1363. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.tb01959.x.
- 170: MORRISON-COLLISTER, K. E. *et al.* - A combination chemotherapy protocol with MOPP and CCNU consolidation (Tufts VELCAP-SC) for the treatment of canine lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 1476-5810. 1:4 (2003) 180–190. doi: 10.1111/j.1476-5810.2003.00027.x.
- 171: THAMM, D. H. *et al.* - Alternating Rabacfosadine/Doxorubicin: Efficacy and Tolerability in Naïve Canine Multicentric Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 31:3 (2017) 872–878. doi: 10.1111/jvim.14700.
- 172: WOLF-RINGWALL, Amber *et al.* - 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**. . ISSN 1476-5810. 18:3 (2020) 342–352. doi: 10.1111/vco.12553.
- 173: MARCONATO, L. *et al.* - Cytosine arabinoside in addition to VCAA-based protocols for the treatment of canine lymphoma with bone marrow involvement: does it make the difference? **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 1476-5810. 6:2 (2008) 80–89. doi: 10.1111/j.1476-5829.2007.00141.x.
- 174: ZANDVLIET, M. *et al.* - A longitudinal study of ABC transporter expression in canine multicentric lymphoma. **The Veterinary Journal**. . ISSN 10900233. 205:2 (2015) 263–271. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.11.002.
- 175: GOODMAN, Ingrid H.; MOORE, Antony S.; FRIMBERGER, Angela E. - Treatment of canine non-indolent T cell lymphoma using the VELCAP-TSC protocol: A retrospective evaluation of 70 dogs (2003–2013). **The Veterinary Journal**. . ISSN 10900233. 211:2016) 39–44. doi: 10.1016/j.tvjl.2016.03.003.
- 176: MACDONALD, Valerie S. *et al.* - Does l-Asparaginase Influence Efficacy or Toxicity When Added to a Standard CHOP Protocol for Dogs with Lymphoma? **Journal**

of **Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 19:5 (2005) 732–736. doi: 10.1111/j.1939-1676.2005.tb02753.x.

177: NORTHROP, Nicole C. *et al.* - Neutropenia Associated with Vincristine and L-Asparaginase Induction Chemotherapy for Canine Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 16:5 (2002) 570–575. doi: 10.1111/j.1939-1676.2002.tb02389.x.

178: SIMON, Daniela *et al.* - 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**. . ISSN 0003-1488. 232:6 (2008) 879–885. doi: 10.2460/javma.232.6.879.

179: ARGYLE, David J. - **What Is New in Canine and Feline Lymphoma** [Em linha], atual. 2008. [Consult. 22 fev. 2023]. Disponível em WWW:<URL:<https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11268&id=3866589>>.

180: CHUN, Ruthanne - Lymphoma: Which Chemotherapy Protocol and Why? **Topics in Companion Animal Medicine**. . ISSN 19389736. 24:3 (2009) 157–162. doi: 10.1053/j.tcam.2009.03.003.

181: SABA, C. F. *et al.* - Rabacfosadine for relapsed canine B-cell lymphoma: Efficacy and adverse event profiles of 2 different doses. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 16:1 (2018) E76–E82. doi: 10.1111/vco.12337.

182: CLERCQ, Erik DE - Tanovea® for the treatment of lymphoma in dogs. **Biochemical Pharmacology**. . ISSN 00062952. 154:2018) 265–269. doi: 10.1016/j.bcp.2018.05.010.

183: BROWN, P. M. *et al.* - LOPP chemotherapy as a first-line treatment for dogs with T-cell lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 16:1 (2018) 108–113. doi: 10.1111/vco.12318.

184: BEAVER, Lynda M.; STROTTNER, Gabriele; KLEIN, Mary K. - Response rate after administration of a single dose of doxorubicin in dogs with B-cell or T-cell lymphoma: 41 cases (2006–2008). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. . ISSN 0003-1488. 237:9 (2010) 1052–1055. doi: 10.2460/javma.237.9.1052.

185: BRODSKY, E. M. *et al.* - Asparaginase and MOPP Treatment of Dogs with Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 08916640. 23:3 (2009) 578–584. doi: 10.1111/j.1939-1676.2009.0289.x.

186: REBHUN, R. B. *et al.* - CHOP chemotherapy for the treatment of canine multicentric T-cell lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. . ISSN 14765810. 9:1 (2011) 38–44. doi: 10.1111/j.1476-5829.2010.00230.x.

187: SELTING, K. A. *et al.* - Thymidine Kinase Type 1 and C-Reactive Protein Concentrations in Dogs with Spontaneously Occurring Cancer. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. . ISSN 0891-6640. 30:4 (2016) 1159–1166. doi: 10.1111/jvim.13954.

188: NIELSEN, Lise *et al.* - Serum C-Reactive Protein Concentration as an Indicator of Remission Status in Dogs with Multicentric Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal**

Medicine. . ISSN 08916640. 21:6 (2007) 1231–1236. doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.tb01943.x.

189: THAMM, Douglas H.; VAIL, David M. - Aftershocks of Cancer Chemotherapy: Managing Adverse Effects. **Journal of the American Animal Hospital Association.** . ISSN 0587-2871. 43:1 (2007) 1–7. doi: 10.5326/0430001.

190: MCKNIGHT, Josephine A. - Principles of chemotherapy. **Clinical Techniques in Small Animal Practice.** . ISSN 10962867. 18:2 (2003) 67–72. doi: 10.1053/svms.2003.36617.

191: BLAKE, Mary Kay; CARR, Brittany J.; MAULDIN, Glenna E. - Hypersensitivity reactions associated with L-asparaginase administration in 142 dogs and 68 cats with lymphoid malignancies: 2007-2012. **The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire canadienne.** . ISSN 0008-5286. 57:2 (2016) 176–82.

192: DOW, Steven; GUTH, Amanda - Cancer Immunotherapy. Em VAIL, DAVID M.; THAMM, DOUGLAS H.; LIPTAK, JULIUS M. (Eds.) - **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology.** 6th. ed. [S.l.] : Elsevier, 2020. p. 231–250.

193: MARCONATO, L. *et al.* - Enhanced therapeutic effect of APAVAC immunotherapy in combination with dose-intense chemotherapy in dogs with advanced indolent B-cell lymphoma. **Vaccine.** . ISSN 0264410X. 33:39 (2015) 5080–5086. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.08.017.

194: MARCONATO, Laura *et al.* - 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.** . ISSN 2051-1426. 7:1 (2019) 146. doi: 10.1186/s40425-019-0624-y.

195: WILLIAMS, Laurel E. *et al.* - Chemotherapy Followed by Half-Body Radiation Therapy for Canine Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine.** . ISSN 08916640. 18:5 (2004) 703–709. doi: 10.1111/j.1939-1676.2004.tb02609.x.

196: MARCONATO, Laura *et al.* - Predictors of long-term survival in dogs with high-grade multicentric lymphoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** . ISSN 0003-1488. 238:4 (2011) 480–485. doi: 10.2460/javma.238.4.480.

197: ROSENBERG, Mona P.; MATUS, Robert E.; PATNAIK, Amiya K. - Prognostic Factors in Dogs with Lymphoma and Associated Hypercalcemia. **Journal of Veterinary Internal Medicine.** . ISSN 08916640. 5:5 (1991) 268–271. doi: 10.1111/j.1939-1676.1991.tb03133.x.

198: CRABTREE, AMANDA C. *et al.* - DIAGNOSTIC ACCURACY OF GRAY-SCALE ULTRASONOGRAPHY FOR THE DETECTION OF HEPATIC AND SPLENIC LYMPHOMA IN DOGS. **Veterinary Radiology & Ultrasound.** . ISSN 10588183. 51:6 (2010) 661–664. doi: 10.1111/j.1740-8261.2010.01725.x.