

FILIPA LOUISE SIMÕES LYSEIGHT

**EFICÁCIA DO PROTOCOLO DE RADIOTERAPIA
QUAD-SHOT NO TRATAMENTO DE CÃES COM
ADENOCARCINOMAS DAS GLÂNDULAS DOS
SACOS ANAIS**

Orientadora: Professora Doutora Andreia Santos

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E
TECNOLOGIAS**

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**Lisboa
2017**

FILIPA LOUISE SIMÕES LYSEIGHT

**EFICÁCIA DO PROTOCOLO DE RADIOTERAPIA
QUAD-SHOT NO TRATAMENTO DE CÃES COM
ADENOCARCINOMAS DAS GLÂNDULAS DOS
SACOS ANAIS**

Dissertação defendida em Provas
Públicas na Universidade Lusófona de
Humanidades e Tecnologias de Lisboa,
para a obtenção do grau de mestre em
medicina veterinária, no curso de
mestrado integrado em medicina
veterinária, perante o júri, nomeado pelo
despacho reitoral nº 213/2017, de 16 de
Junho de 2017 com a seguinte
composição:

Presidente: Professora Doutora
Laurentina Pedroso

Arguente: Professor Doutor Hugo
Gregório

Orientadora: Professora Doutora Andreia
Santos

Vogal: Professor Doutor Pedro Faísca

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E
TECNOLOGIAS**

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**Lisboa
2017**

Agradecimentos

Desde o início do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, contei com o apoio de inúmeras pessoas direta ou indiretamente. Estas foram essenciais para conseguir concretizar este percurso com sucesso.

À Professora Doutora Andreia Santos, orientadora da dissertação, agradeço o apoio, exigência e valiosas contribuições para o trabalho.

Agradeço a toda a equipa do VRCC, especialmente à Doutora Susan North e à técnica de radioterapia Claire Maloney pela partilha de conhecimento, pelo auxílio ilimitado e tempo despendido, tornando possível a elaboração deste estudo.

Sou profundamente grata aos meus pais por permitirem que realizasse este sonho e pelo seu apoio eterno, que me estimulou intelectual e emocionalmente. Também à minha avó e irmã, que me enchem o coração com carinho e me dão forças para continuar, sempre, independentemente. A todos os meus familiares não mencionados, pelo incentivo que me deram durante estes anos.

Agradeço aos meus amigos, por serem sempre um porto de abrigo com sabor a casa. E ao meu namorado, pela ajuda e apoio numa altura essencial para a conclusão deste trabalho.

Obrigada aos meus colegas e professores, por criarem um bom ambiente para frequentar durante 6 anos, que recorro com saudades.

As pessoas que me rodeiam permitiram-me crescer e tornar-me na pessoa que sou hoje, muito obrigada!

Resumo

Os adenocarcinomas dos sacos anais são neoplasias raras que ocorrem em cães. A abordagem terapêutica ideal é a cirurgia mas devido ao número significativo de recidivas e/ou metastização tumoral há a necessidade de investigar modalidades de tratamento adjuvantes, nomeadamente a quimioterapia e a radioterapia. Pretendeu-se, com o presente trabalho, averiguar a eficácia do protocolo de radioterapia QUAD-shot em cães com ASAC e ainda, verificar qual o estadiamento indicado para aplicação deste protocolo. Para tal, foram recolhidos dados de cães com diagnóstico histopatológico de ASAC, submetidos a protocolos de radioterapia. Nove cães enquadraram-se nos critérios, sendo que 5 receberam QUAD shot e 4 um protocolo definitivo. Sessenta por cento (3 cães) dos cães que receberam o QUAD-shot demonstraram remissão parcial e 40% doença estável (2 cães). Não foi possível determinar qual o estadio clínico mais indicado para aplicar o QUAD shot devido ao reduzido tamanho da amostra. No entanto, este protocolo foi apenas aplicado a ASAC com diâmetros superiores a 3 cm cuja excisão cirúrgica não foi possível, tendo-se verificado que é um protocolo paliativo bem tolerado e eficaz na redução dos sinais clínicos associados a esta doença.

Palavras-chave: radioterapia; QUAD-shot; adenocarcinomas dos sacos anais.

Abstract

Canine apocrine gland adenocarcinomas of the anal sac are relatively rare tumours. The initial choice of treatment is surgery, although it's not always successful and, therefore, it's important to investigate adjuvant therapeutic modalities such as radiotherapy and/or chemotherapy. The aim of this study was to evaluate the efficacy of the QUAD shot RT protocol to treat canine anal sac gland adenocarcinomas and establish at which stage it should be utilised/administered. To determine this, 9 dogs with histopathologic diagnosis of ASAC, were treated with radiotherapy - 5 received a QUAD shot and 4 a definitive protocol. Of the 5 dogs that received QUAD shot, partial remission was achieved in 60% (3 dogs) of them, while the disease stabilised in the remaining 40% (2 dogs). However, it was not possible to determine the most appropriate clinical stage to apply the QUAD shot protocol due to the small number of patients. Nevertheless, this protocol was administered only to animals with tumour size higher than 3cm in diameter and, overall, it was a well-tolerated protocol with good results in terms of clinical signs palliation.

Key-words: radiotherapy; QUAD-shot; apocrine gland adenocarcinoma of the anal sac.

Abreviaturas:

ADN – ácido desoxirribonucleico;	OSA – osteossarcoma;
ASAC – adenocarcinoma dos sacos anais;	PTHrP – polipéptido relacionado com a paratormona;
ATM – ataxia telangiectasia mutada;	PU/PD – poliúria/polidipsia;
ATR – ataxia telangiectasia;	RNA – ácido ribonucleico;
CCE – carcinoma das células escamosas;	ROS – espécies reativas de oxigénio;
CTV – clinical target volume;	RP – remissão parcial;
DE – doença estável;	RSI – radiosensibilidade intrínseca;
DNA-PK – proteína cinase ADN dependente;	RT – radioterapia;
DSB – double strand DNA breaks;	SNC – sistema nervoso central;
EAC – epúlide acantomatosa;	SSP – segurança e saúde pública;
ECVS – European College of Veterinary Surgeons;	TAC – tomografia axial computadorizada;
FSA – fibrossarcoma;	TMS – tempo médio de sobrevivência;
GTV – gross tumour volume;	TTP – tempo até progressão;
GY – gray;	TV – target volume;
HCT – histiosarcoma;	TVT – tumor venéreo transmissível;
IAEA - international atomic energy agency;	VRTOG – Veterinary Radiation Therapy Oncology Group.
ILD – intervalo livre de doença;	
IMP – intervalo médio até progressão;	
ITC – inibidores de tirosina cinase;	
LINAC – acelerador linear de partículas;	
LQ – linear quadrático;	
LSA – linfoma;	
MCT – mastocitoma;	
MM – melanoma maligno;	
RM – ressonância magnética;	
MRT – microbeam radiation therapy;	

Índice Geral

I. Casuística do estágio	12
II. Introdução.....	19
A. Adenocarcinoma dos Sacos Anais em Cães	19
1. Comportamento Biológico e Sinais Clínicos.....	20
2. Métodos de diagnóstico, Estadiamento Clínico e Fatores de Prognóstico	21
3. Tratamento	22
B. Princípios da radioterapia	23
1. INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM OS TECIDOS	24
a) Morte Celular Radio-Induzida	24
b) O Modelo Linear Quadrático	25
c) Radiossensibilidade.....	27
d) Dose tolerável.....	27
e) Fracionamento de doses	28
2. RADIOBIOLOGIA – OS R’S DA RT.....	28
a) Reparação	29
b) Redistribuição.....	29
c) Repopulação	29
d) Reoxigenação	30
e) Radiossensibilidade Intrínseca (RSI)	30
f) Radiossensibilizadores	31
C. Radioterapia na Medicina Veterinária.....	32
1. Equipamento e Requisitos	32
2. Planeamento do Tratamento	33
3. Aplicação Prática da RT– em foco no VRCC	34
D. Objetivo	38
III. Materiais e Métodos	39
IV. Resultados.....	42
V. Discussão.....	49
VI. Conclusão	56

VII. Referências Bibliográficas.....	57
VIII. Anexos.....	I
A. Localização dos sacos anais em cães e anatomia regional.	I
B. Diagrama da localização dos linfonodos.....	II
C. Sistema de estadiamento TNM.....	II
D. Tabela de protocolos de radioterapia administrados à população do estudo de McQuown et al. (2016).	III
E. Valores da relação α/β	III
F. Efeitos Adversos da RT.....	IV
G. Tabela com esquema de classificação de morbidade das reações agudas, segundo VORTOG.....	V

Índice de Tabelas

Tabela 1: Sistema de classificação alternativo de estadio clínico dos ASAC.....	22
Tabela 2: Protocolos RT utilizados no VRCC.....	35
Tabela 3: Resultados do teste Shapiro Wilk para averiguar a normalidade das variáveis da população dos dois grupos.....	42
Tabela 4: Descrição do diagnóstico e tratamentos dos grupos.....	43
Tabela 5: Descrição dos casos clínicos: dimensões da neoplasia e metástases e tratamento.....	43
Tabela 6: Dados obtidos com o teste Shapiro-wilk, sobre o tempo entre diagnóstico e seguimento.....	46
Tabela 7: Dados obtidos com o teste Shapiro-wilk, sobre o tempo entre diagnóstico e seguimento para cada grupo e com o teste-T a comparação do mesmo.....	46
Tabela 8: Datas de avaliação da resposta terapêutica e a respectiva resposta, bem como a duração da mesma.....	47

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Casos novos observados, excluindo linfomas.....	14
Gráfico 2: Casos novos observados, apenas linfomas.....	14
Gráfico 3: Percentagem de casos oncológicos novos observados, por tecido de origem.....	14
Gráfico 4: Percentagem de novos casos observados no departamento da medicina interna, organizados por sistema.....	15
Gráfico 5: Número de cirurgias observadas, organizados por caso.....	16
Gráfico 6: Número de análises laboratoriais realizadas.....	17
Gráfico 7: Número de exames complementares assistidos.....	17
Gráfico 8: Curva de sobrevivência com a equação standard LQ.....	26
Gráfico 9: Curva de cálcio ionizado.....	43

Índice de Figuras

Figura 1: Topograma com LINAC.....	40
Figura 2: Marcação do local a irradiar.....	40
Figura 3: Corte transversal do abdómen caudal obtido por TAC.....	45
Figura 4: Alvo terapêutico após planeamento 3D.....	45
Figura 5: Alvo terapêutico após planeamento 3D.....	45
Figura 6: Aspeto um mês após o término do QUAD-shot.....	47

I. Casuística do estágio

O estágio curricular foi realizado no Veterinary Referrals Cancer Centre (VRCC), no Reino Unido, no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Ocorreu durante um período de vinte e seis semanas, entre 5 de Setembro de 2016 e 4 de Março de 2017, no qual foram visitados os departamentos de oncologia (17 semanas), medicina interna (4 semanas) e cirurgia (5 semanas).

A carga horária era das 9 horas às 18 horas de segunda-feira a sexta-feira. No entanto, variava com a quantidade de trabalho. Havia ainda exceções, nomeadamente terça, quarta e quinta-feira, dias nos quais decorriam clubes de discussão científica e portanto, começavam às 8:15.

Departamento de Oncologia

A equipa de oncologia era composta por um Médico Veterinário especialista, um residente de oncologia, um estagiário de oncologia, um estagiário rotativo, dois técnicos de radioterapia e uma enfermeira. O estagiário diariamente tinha a opção de escolher que casos acompanhar, dentro do departamento, tendo em conta os seus interesses. Mas, uma vez que um caso fosse iniciado era obrigatório dar continuidade até este receber alta médica.

Em oncologia decorriam três tipos de consultas: casos novos, admissões para quimioterapia e para radioterapia e por fim, consultas de seguimento após tratamento. A equipa dividia-se (maioritariamente) em: casos novos eram marcados para o especialista ou residente; e os casos de seguimento para o estagiário de oncologia.

A consulta inicial a um paciente novo era realizada por um Médico Veterinário. Antes da consulta, o estagiário tinha como função informar-se sobre a história clínica do mesmo e elucidar-se sobre a abordagem a mencionar ao proprietário. Dentro da consulta, o exame físico era da responsabilidade do estagiário. A abordagem inicial diagnóstica de cada caso era realizada através de biopsias ou citologia. Dependendo do diagnóstico, o estadiamento clínico do doente oncológico era realizado com radiografias, ecografias ou tomografia computadorizada.

Nas consultas de seguimento dos tratamentos radioterapêutico ou quimioterapêutico, o estagiário tinha a função de averiguar problemas que impedissem o tratamento a ser administrado. Após a admissão dos doentes a fazer quimioterapia, era

necessário realizar um exame físico e uma recolha de sangue para hemograma, e estando dentro dos parâmetros aceitáveis, colocava-se um cateter e a quimioterapia era administrada pelo Médico Veterinário. Se se tratasse de um doente para radioterapia, este era cateterizado e anestesiado (geralmente com butrofanol e propofol). Quando o paciente se encontrava sobre o efeito da anestesia, era entregue à equipa de radioterapia que realizava o tratamento.

As consultas de seguimento após o tratamento baseavam-se mais no exame físico e no estudo imagiológico mais indicado para avaliar a resposta ao tratamento da neoplasia em questão.

As funções de recolha de sangue, análises laboratoriais, colocação de cateter, radiografias e FNA, eram da responsabilidade do estagiário com um auxílio de um enfermeiro. Ainda, este deveria acompanhar o imagiologista no caso de o cão ou gato necessitar de ecografia abdominal ou TAC.

No total, foram seguidos 95 casos novos; e 390 e uma consultas de admissão para tratamento e/ou seguimento (sendo que alguns casos eram vistos semanalmente). O gráfico 1 demonstra a quantidade de casos novos observados, separados por localização e excluindo os linfomas. As neoplasias mais observadas foram nasais (maioritariamente carcinomas), seguido de cutâneas e subcutâneas (maioritariamente mastocitomas e sarcomas).

Os casos novos de linfoma que foram referenciados já diagnosticados ou foram descobertos no VRCC estão apresentados no gráfico 2, por localização. Os mais observados foram os multicêntricos, seguidos dos intestinais e nasais.

De modo geral, cães e gatos com linfoma multicêntrico foram os mais observados, pois o seu tratamento requeria uma visita semanal durante 15 semanas.

Separando os casos observados por tecido de origem, obtém-se o gráfico 3. No gráfico 3 encontram-se descritos os casos oncológicos tendo em conta a sua origem histológica. Com base no gráfico 3 é possível concluir que os casos mais vistos foram adenocarcinomas/carcinomas e linfomas. A maioria foi tratada com quimioterapia, excepto neoplasias nasais. A maioria dos casos de carcinomas/adenocarcinomas eram referenciados para o departamento de oncologia por não terem conseguido obter margens cirúrgicas, e como tal, para serem tratados com radioterapia.

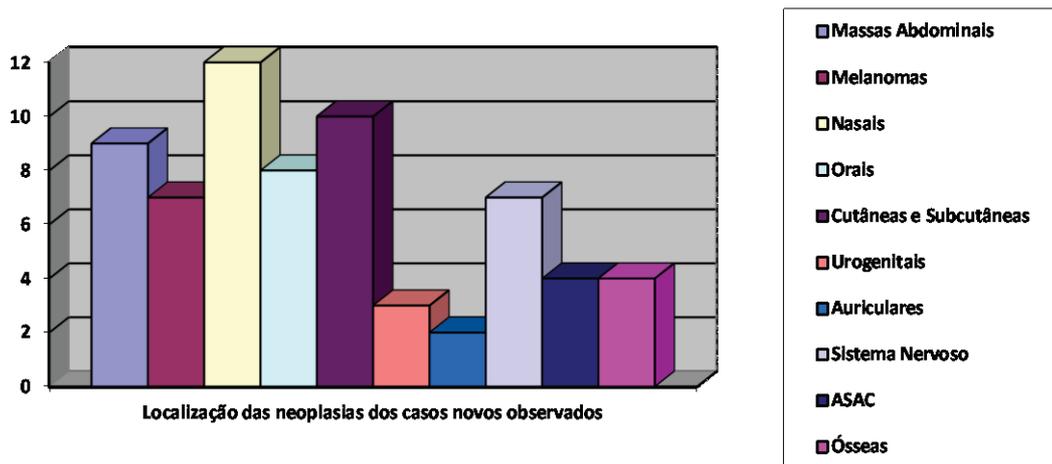


Gráfico 1: Casos novos observados, excluindo linfomas.

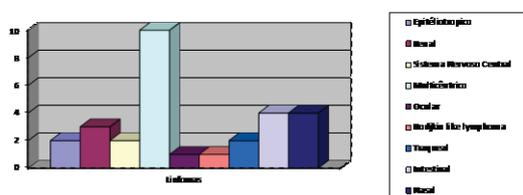


Gráfico 2: Casos novos observados, apenas linfomas

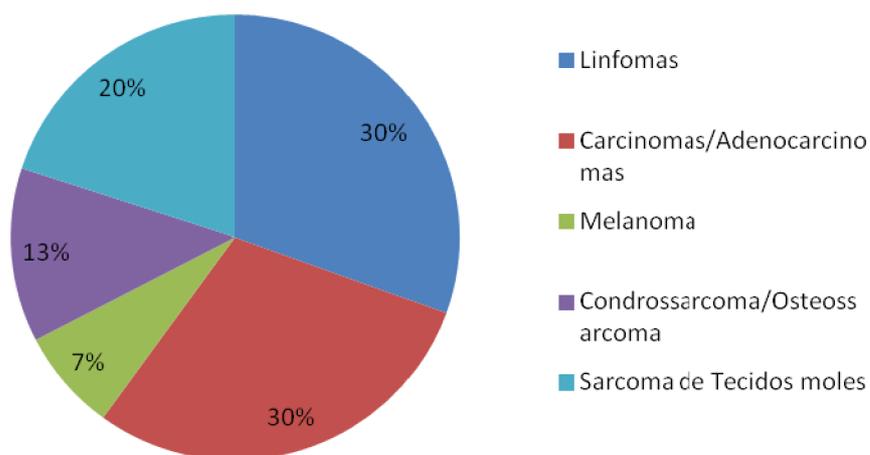


Gráfico 3: Percentagem de casos oncológicos novos observados, organizados por tecido de origem.

Departamento de Medicina Interna

O departamento de Medicina Interna era composto por um Médico Veterinário especialista, um estagiário rotativo e dois enfermeiros. Os dias de consulta eram Segunda, Quarta e Sexta-feira. O dia de consultas de neurologia era à terça-feira e de cardiologia à quinta-feira.

Durante as quatro semanas neste departamento foram seguidos trinta e um casos novos e trinta e quatro de acompanhamento.

O médico de Medicina Interna discutia os casos com o estagiário antes e após a consulta, que o mesmo fazia. De novo, como no departamento de oncologia, era função do estagiário preparar o paciente para os exames complementares a elaborar, realizar as análises laboratoriais e por fim, administrar o tratamento indicado pelo médico. Entre funções, o médico veterinário era informado sobre resultados e estes eram discutidos.

Como se pode observar no gráfico 4, foram seguidos mais casos de endocrinologia, sistema geniturinário e cardiopulmonar. A maioria dos casos referenciados para este departamento eram por: PU/PD; diabetes incontroláveis pelo veterinário local; insuficiência renal em estádios avançados; hiperadrenocorticismo ou hipoadrenocorticismo. Casos raros observados foram de Aspergilose e febre de origem indeterminada.

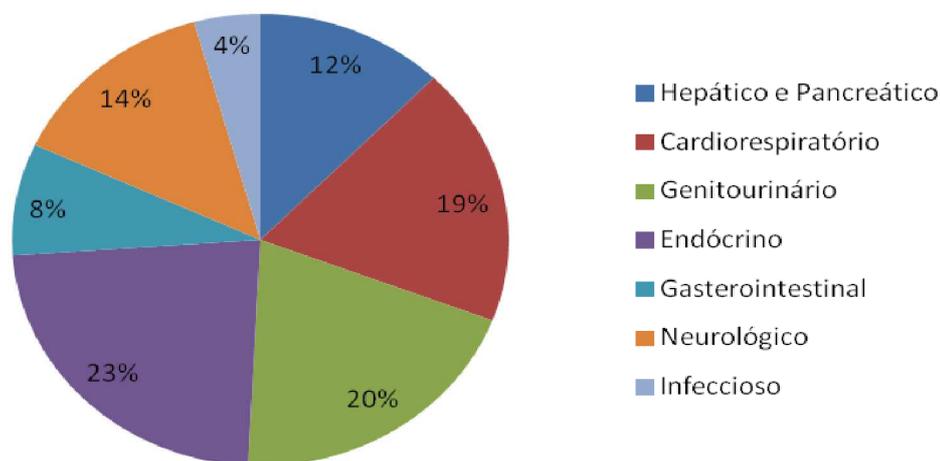


Gráfico 4: Percentagem de novos casos observados no departamento da medicina interna, organizados por sistema.

Nos dias em que não havia consultas, cuidava-se dos pacientes hospitalizados e eram estudados os fundamentos teóricos das doenças dos mesmos. A outra opção seria acompanhar os casos de neurologia ou cardiologia, tinha era a desvantagem de ser perder o seguimento dos casos começados com o médico de medicina interna, e como tal, a preferência era seguir

os animais internados. Não obstante, na ausência de trabalho ou por indicação do médico de medicina interna, os outros especialistas eram seguidos.

Departamento de Cirurgia

A equipa de cirurgia consistia em: dois cirurgiões diplomados, um residente de cirurgia, um anestesista especializado e dois enfermeiros. Nas cinco semanas neste departamento, foram assistidas quarenta e seis cirurgias.

A rotina do estagiário iniciava-se com o ligar das máquinas e verificação dos sistemas de anestesia. No dia antecedente a cirurgias, a história clínica e os riscos anestésicos eram estudados e depois era elaborado o protocolo de anestesia com o anestesista. Ainda, no dia prévio à cirurgia, era preparado o material necessário para a anestesia e para a cirurgia.

Era dada a opção de seguir consultas pré-cirúrgicas, caso não houvesse cirurgia nas horas de consulta. Alternadamente, os estagiários eram assistentes de cirurgião ou anestesistas.

Como demonstrado no Gráfico 5, foram assistidas diversas cirurgias. Foram assistidas 7 cirurgias para resolução de hérnia discal, nas quais 3 foi como assistente de cirurgião. Quanto às toracotomias, duas foram para a remoção de timomas e três para resolução de quilotórax. Destas, a participação foi apenas na excisão de timomas. Foram observadas seis amputações, quatro dígitos e duas amputações altas dos membros posteriores.

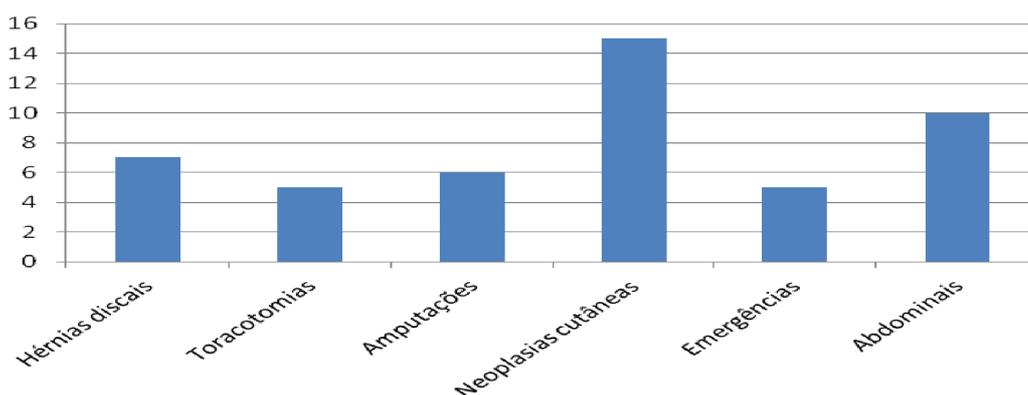


Gráfico 5: Número de cirurgias observadas, organizados por caso.

Foram realizadas 7 cirurgias (como assistente de cirurgião) para extirpação de neoplasias cutâneas.

A nível de laparotomias, foram realizadas 10 procedimentos (5 com a participação do estagiário) que consistiram na excisão de massas, remoção de cálculos urinários, enterectomias e laparotomias exploratórias. Das emergências mencionadas no gráfico 5, 3

contaram com o estagiário como assistente e os procedimentos realizados foram esplenectomia, remoção de corpo estranho e enterectomia de intestino inviável e por fim, hepatectomia parcial.

No final das cirurgias, era da competência do estagiário assistir à recuperação anestésica do animal e elaborar os planos pós-operatórios.

Exames complementares de diagnóstico e análises laboratoriais

Ao longo do tempo de estágio, foram realizadas várias as análises laboratoriais (Gráfico 6) e outros exames complementares de diagnóstico (Gráfico 7).

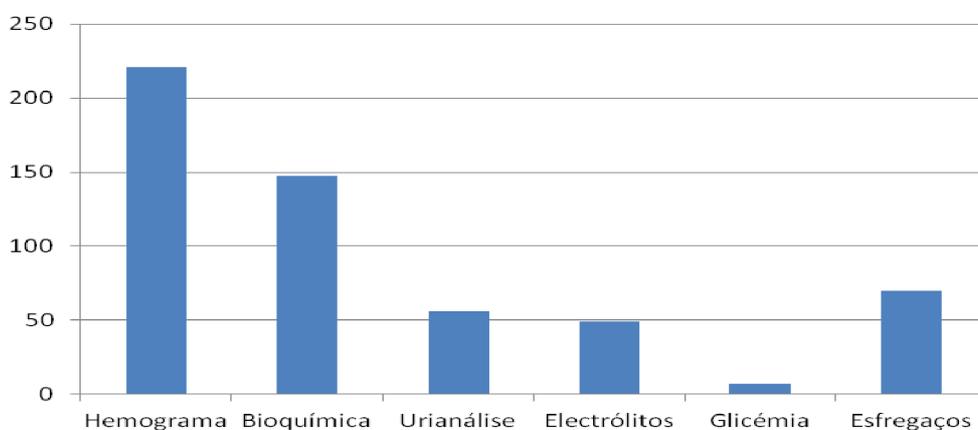


Gráfico 6: Número de análises laboratoriais realizadas.

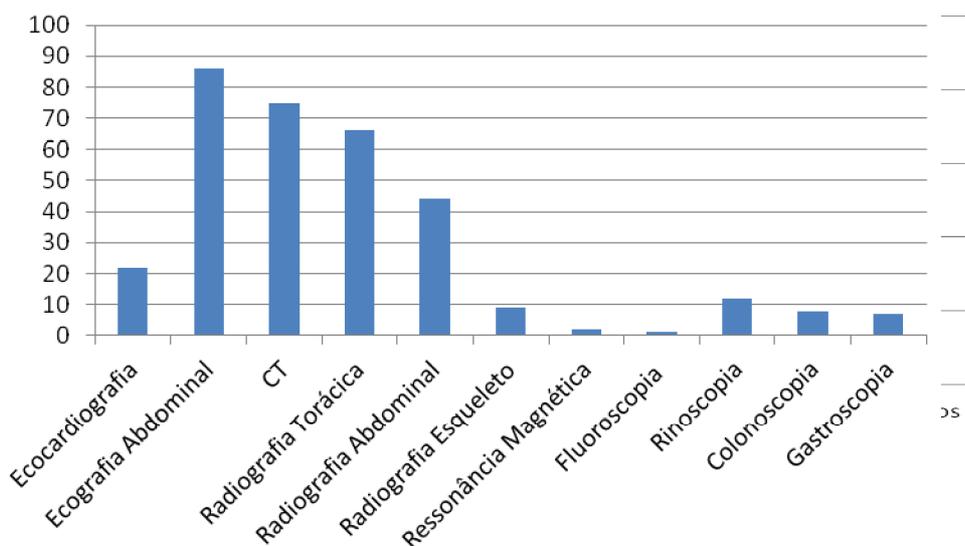


Gráfico 7: Número de exames complementares assistidos

Clubes de desenvolvimento científico

Como mencionado anteriormente, houve participação nos grupos de desenvolvimento científico.

Nas Terças-feiras, realizava-se o clube de cirurgia para todos os estagiários. Consistia na leitura de um capítulo do livro Tobias e Johnston, (2012) e elaboração de perguntas para posterior discussão e esclarecimento de dúvidas com um cirurgião.

As Quartas-feiras eram para discussão de artigos, que eram preparados de forma rotativa por estagiários e médicos.

O “clube do Withrow” realizava-se às Quintas-feiras e a estrutura era igual ao de cirurgia em que, um estagiário era responsável pela elaboração de perguntas. Estas perguntas eram respondidas individualmente e as respostas discutidas em grupo com um diplomado de oncologia.

II. Introdução

A. Adenocarcinoma dos Sacos Anais em Cães

Os adenocarcinomas das glândulas dos sacos anais (ASAC) são conhecidos por serem uma neoplasia maligna com origem no epitélio glandular apócrino, da parede dos mesmos (Goldschmidt & Zoltowski, 1981). Atualmente, também são conhecidos por carcinoma das glândulas apócrinas dos sacos anais e adenocarcinoma perirectal, entre outros (Goldschmidt & Shofer, 2005).

Todos os carnívoros possuem um par de sacos anais (Goldschmidt & Zoltowski, 1981). Localizam-se entre a porção interna e externa do músculo esfíncter anal, às quatro e oito horas (anexo A) (Aronson, 2012). São revestidos por epitélio escamoso estratificado e delimitados por tecido conjuntivo fibroso. Albergam glândulas sebáceas e apócrinas, que secretam, através de um ducto único, para as margens laterais do orifício anal (Goldschmidt & Zoltowski, 1981; Jung *et al.*, 2016). Nos cães, as glândulas apócrinas estão concentradas no fundo dos sacos anais (Jung *et al.*, 2016).

A região dos sacos anais apresenta drenagem linfática pelo linfocentro íliosacral, que é responsável pela drenagem da região pélvica e perianal (Anderson *et al.*, 2013). Inclui três grupos de linfonodos: os ilíacos mediais, hipogástricos e sacrais (anexo B) (Diaz-Liabres, 2004).

Nos cães, doenças nos sacos anais são divididas em duas categorias, não-neoplásicas e neoplásicas (Goldschmidt & Zoltowski, 1981). A primeira classificação engloba impactações, saculites e abscessos, as quais são relativamente comuns, afetando 12% da população (Halnan, 1976; Potanas *et al.*, 2015). O segundo grupo é raro (Jung *et al.*, 2016), representando 2% dos tumores da pele na espécie mencionada (Turek *et al.*, 2003; Wouda *et al.*, 2013; Potanas *et al.*, 2015).

Originalmente, considerava-se uma neoplasia com maior incidência em fêmeas esterilizadas (comparando com machos) (Goldschmidt & Zoltowski, 1981; Meuten *et al.*, 1981). No entanto, durante o século XXI, esta premissa foi reformulada, sendo que nenhum género aparenta estar mais propenso (Bennett *et al.*, 2002; Polton *et al.*, 2006; Potanas *et al.*, 2015). Por outro lado, o estudo de Polton *et al.* (2006) observou maior ocorrência em machos

castrados. Sabe-se que algumas raças têm predisposição genética, nomeadamente o Cocker Spaniel Inglês, o Spinger Spaniel Inglês e o Cavalier King Charles (Polton *et al.*, 2006). Esta neoplasia apresenta maior prevalência em animais com idade média de 10.6 anos (Meuten *et al.*, 1981).

1. Comportamento Biológico e Sinais Clínicos

O ASAC é uma neoplasia maligna com uma taxa de metastização reportada de 36-96% (Turek *et al.*, 2003; Wouda *et al.*, 2013; McQuown *et al.*, 2016), sendo que a maioria dos autores referem, no mínimo, metástases em 53% dos casos (Williams *et al.*, 2003). Metastiza em estadios iniciais da doença para os linfonodos regionais (96%) e posteriormente, em estadios avançados, para o fígado, pulmão e baço (40%), mas raramente para o osso (Meuten *et al.*, 1981; Wouda *et al.*, 2013; McQuown *et al.*, 2016). Além disso, esta neoplasia é caracterizada por ser localmente infiltrativa (Goldschmidt & Zoltowski, 1981) e geralmente é unilateral e indolor (Jung *et al.*, 2016).

A apresentação é variada e muitas vezes é um achado clínico (Bennett *et al.*, 2002; McQuown *et al.*, 2016). Devido à sua elevada capacidade de metastização em fases iniciais, na altura do diagnóstico, a massa secundária pode ser maior do que a primária e a causa da sintomatologia (Emms, 2005). Os sinais clínicos mais documentados são: tenesmo, constipação, anorexia, letargia, alteração na forma das fezes e inchaço perianal (Bennett *et al.*, 2002; McQuown *et al.*, 2016). Também é relativamente frequente ocorrer PU/PD e fraqueza dos membros posteriores secundariamente à hipercalcemia (Potanas *et al.*, 2015). A associação entre ASAC e esta síndrome paraneoplásica, caracterizada por hipercalcemia e hipofosfatemia persistente e severa, está bem documentada e apresenta uma incidência de 16 a 53% (Bennett *et al.*, 2002; Polton & Brearley, 2007; McQuown *et al.*, 2016). Após a remoção cirúrgica dos ASACs, os níveis de cálcio retornam ao normal e, quando há recidiva da doença, pode ser novamente desenvolvida hipercalcemia pelo doente (Meuten *et al.*, 1982). Entre as diversas causas para este fenómeno, atribui-se ao ASAC a capacidade de produção de um polipéptido relacionado com a paratormona (PTHrP) (Rosol *et al.*, 1990). Este péptido estimula o aumento do cálcio em circulação (Bennett *et al.*, 2002; Wouda *et al.*, 2013). Na ausência de glândulas paratiroides ativas e metástases ósseas, esta síndrome é denominada de pseudohiperparatiroidismo (Meuten *et al.*, 1981).

2. Métodos de diagnóstico, Estadiamento Clínico e Fatores de Prognóstico

Os ASACs na palpação retal podem ser sentidos como uma massa geralmente de pequenas dimensões localizada no saco anal ventro-lateral ao ânus (Goldschmidt & Zoltowski, 1981; Argyle & Saba, 2008). O seu diagnóstico definitivo requer a análise citológica e/ou histopatológica da massa primária e/ou de metástases (Argyle & Saba, 2008).

O estadiamento clínico adequado envolve a execução de palpação retal; a realização de um painel de análises sanguíneas (hemograma e bioquímica) e urinálise; radiografias torácicas para averiguar se há doença metastática pulmonar ou envolvimento mediastinal; e por fim, ecografia abdominal para avaliar se há metastização para os linfonodos regionais e para órgãos alvo como fígado e baço (Anderson *et al.*, 2013; Jung *et al.*, 2016).

Na presença de doença metastática nos linfonodos regionais, observa-se ecograficamente linfadenomegália com ecogenicidade heterogênea, por norma hipoecóicos. Têm um aspeto cavitário com linhas hiperecóicas (Diaz-Liabres, 2004, Anderson *et al.*, 2013). Embora a ecografia seja o método mais utilizado, a visualização dos linfonodos pode ser feita também com ressonância magnética (RM) e/ou tomografia axial computadorizada (TAC), havendo autores que descrevem uma maior sensibilidade do exame com RM (Anderson *et al.*, 2013).

O sistema de estadiamento TNM (anexo C), estipulado para neoplasias da pele e anexos, era o aplicado no ASAC. No entanto, Polton & Brearley, (2007) propuseram um esquema alternativo (tabela 1). Este é adaptado e elaborado unicamente para os ASACs, tendo em consideração o seu comportamento biológico e os fatores de prognóstico.

Como fatores de pior prognóstico consideravam-se hipercalcemia e a presença de metástases no linfocentro sacral na altura de diagnóstico, associado a um tempo médio de sobrevivência (TMS) de 6 e 11,5 meses respectivamente (Williams *et al.*, 2003). Atualmente, diversos estudos não têm encontrado diferenças estatisticamente significativas com as duas variáveis previamente mencionadas (Bennett *et al.*, 2002; Turek *et al.*, 2003; Wouda *et al.*, 2013). Não obstante, a influência da hipercalcemia no prognóstico é contestada na literatura (Bennett *et al.*, 2002; Turek *et al.*, 2003; McQuown *et al.*, 2016). Por outro lado, o diâmetro da massa primária parece interferir com o prognóstico; quando este é inferior a 2,5cm, na ausência de doença metastática, o prognóstico é mais favorável (Polton e Brearley, 2007; Argyle & Saba, 2008).

Tabela 1. Sistema de classificação alternativo de estadios clínicos dos ASAC (Polton & Brearley, 2007).

Estadio Clínico	T (diâmetro)	N (diâmetro)	M
1	< 2.5 cm	Ausente	Ausente
2	>2.5 cm	Ausente	Ausente
3a	Qualquer T	<4.5cm	Ausente
3b	Qualquer T	>4.5cm	Ausente
4	Qualquer T	Qualquer N	Presente

Legenda: T – tamanho da massa primária; N – Referente à presença e dimensão de doença nos linfonodos; M – Metástases distantes.

3. Tratamento

A abordagem terapêutica ideal é a excisão cirúrgica da massa primária e secundária, se presente (Potanas *et al.*, 2015). O TMS após cirurgia como tratamento unimodal é divergente na literatura. Hobson *et al.*, (2006), em cinco cães com doença metastática, cuja saculectomia e linfadenectomia foi o único tratamento aplicado, obtiveram um TMS de 20.6 meses. No entanto, um dos casos foi submetido no total a quatro cirurgias e outro foi eutanasiado devido a recorrência (Hobson *et al.*, 2006). Por outro lado, Bennett *et al.* (2002) reporta um TMS de 8.3 meses nestes casos (Bennett *et al.*, 2002). Williams *et al.* (2003) verificaram que a sobrevivência é favorecida por qualquer cirurgia independentemente das modalidades adjuvantes (Williams *et al.*, 2003). Assim, na bibliografia, a cirurgia como procedimento unimodal é desencorajada e está associada a uma taxa de recidiva da doença entre 29% e 45% (Emms, 2005). Para reduzir estas taxas tem sido descrito o uso de tratamentos complementares tais como a electroquimioterapia, a quimioterapia e a radioterapia (RT). A primeira modalidade mencionada está descrita apenas num caso submetido a cirurgia citorrredutora sem doença metastática. Foi infiltrada cisplatina (Platistine®, Accord), e atingida uma remissão de 18 meses (Spugnini *et al.*, 2008).

Para os ASACs conhece-se a aplicabilidade de apenas alguns quimioterápicos. O papel da carboplatina (Paraplatin®, Bristol) foi estudado por Wouda *et al.* (2013). Com uma dose média de 300 mg/m², administrada posteriormente à cirurgia, perfazendo quatro doses intercaladas por três semanas, concluíram que esta abordagem diminui o risco de recidiva. Por outro lado, os intervalos até progressão e sobrevivência, não foram significativamente alterados quando comparados com os obtidos após tratamento com cirurgia apenas (Wouda *et al.*, 2013). A eficácia do Melphalan (Alkeran®, Aspen Pharma) foi avaliada em cães que

anteriormente tinham realizado cirurgia citorrredutora. Numa dose de $7 \text{ mg/m}^2 \text{ ad eternum}$, cumprindo um ciclo de três semanas (5 dias de tratamento e 16 de pausa), foi alcançado um TMS de 20 meses em cães com doença metastática regional e 29.3 meses em cães sem metástases (Emms, 2005). Outros quimioterápicos têm sido administrados nestes casos, nomeadamente: cisplatina (Platistine®, Accord), doxorubicina (Adriamicina®, Glenmark), e actinomicina D (Cosmegen®, Lyovac). Mas a eficácia destes agentes não está ainda bem definida (Wouda *et al.*, 2013).

Com um objetivo paliativo, foi também estudado o efeito do fosfato de toracenib (Palladia®, Pfizer) em cães com doença metastática (e previamente sujeitos a cirurgia e/ou radioterapia/quimioterapia), usando um protocolo de administração na dose média de 2.81mg/kg três vezes por semana, tendo-se verificado uma remissão parcial (RP) em 25% dos doentes e doença estável (DE) em 62.5% (London *et al.*, 2011).

Em relação à aplicação da RT nestas neoplasias, a sua utilização ainda não está totalmente esclarecida. Polton & Brearley, (2007), devido à escassez de casos, não conseguiram enquadrar a RT no algoritmo criado para estipular o tratamento para os diferentes estadios de ASAC. Um estudo retrospectivo sobre RT hipofracionada (com protocolos variáveis) (anexo D), obteve um intervalo médio até progressão (TTP) da doença de 9.6 meses (McQuown *et al.*, 2016). Foi também verificado que a RT tem benefícios no controlo dos sinais clínicos provocados por esta neoplasia. Outro estudo, com a mesma natureza mas com o intuito de avaliar o papel da Mitoxantrona em conjugação com um protocolo com RT definitiva, atingiu um intervalo livre de doença (ILD) médio de 9.6 meses e uma sobrevivência média de 31.8 meses (Turek *et al.*, 2003).

Os resultados das diversas opções terapêuticas têm sido variáveis entre os diferentes estudos, maioritariamente devido a amostras reduzidas e à heterogeneidade dos casos analisados (Williams *et al.*, 2003; Polton & Brearley, 2007). Assim, e tendo em conta a escassez de publicações recentes, sendo que algumas já têm 20 anos, a abordagem terapêutica a estas neoplasias não está padronizada (McQuown *et al.*, 2016).

B. Princípios da radioterapia

Sendo o objeto de estudo desta dissertação a aplicação da RT QUAD-shot no tratamento dos ASACs, irá ser feita uma breve descrição dos princípios gerais desta forma de tratamento oncológico.

1. INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM OS TECIDOS

a) Morte Celular Radio-Induzida

A RT recorre a energia ionizante (raios x ou γ , elétrons, mesões π ou hadrões) para ionizar e excitar partículas, produzir radicais livres e alterar proteínas e ácidos nucleicos, com o intuito de provocar a mutação e/ou morte celular (Argyle *et al.*, 2008; O'Neill & Wardma, 2009; Khan & Gibbons, 2014) através da indução de lesões irreparáveis no ácido desoxirribonucleico (ADN) (Lomax *et al.*, 2013).

A morte celular radio-induzida pode ser por: apoptose, necrose, morte reprodutiva, autofagia ou senescência (Suntharaligam *et al.*, 2005; Hendry, 2014; Schreiber & Meyers, 2016). A necrose ocorre apenas após exposição a doses muito altas de radiação; a autofagia pode ser um mecanismo radioprotector para evitar a morte celular por apoptose, sendo controverso na literatura (Hendry, 2014; Ondrej *et al.*, 2016). O papel da apoptose na resposta terapêutica é incógnito, mas ensaios *in vitro* determinaram que a apoptose radio-induzida melhora a esterilização dos clones tumorais (Lauber *et al.*, 2011).

A morte reprodutiva celular é a morte mais comum induzida pela radiação (Hendry, 2014), pois mesmo que a célula permaneça metabolicamente ativa, células com incapacidade reprodutiva consideram-se mortas (Brown & Graves, 2014). A radiosensibilidade do núcleo comparativamente à do citosol, e a correlação com as aberrações cromossais por perda de integridade, parece ser a justificação para a morte reprodutiva ser a mais frequente (Pajonk *et al.*, 2010; Brown & Graves, 2014; Hendry, 2014; Schaeue & McBride, 2015). A instabilidade do cromossoma tem um papel importante na RT por perpetuar a produção e libertação das espécies reativas de oxigénio (ROS) que causam danos nas células vizinhas (O'Neill & Wardma, 2009; Pajonk *et al.*, 2010; Hendry, 2014; Schaeue & McBride, 2015).

O resultado terapêutico da RT ocorre devido a fenómenos diretos (radiação ionizante) e indiretos (radicais livres) nos tecidos (Ling *et al.*, 2010). Os efeitos diretos são as alterações provocadas em macromoléculas biológicas vitais, nomeadamente as lesões de hélice do ADN que são nomeadas *clusters* e que incluem os *single strand break (SSB)* e *double strand break (DSB)* (O'Neill & Wardma, 2009; Dizdaroglu & Jaruga, 2012; Lomax *et al.*, 2013), que são a alteração biológica mais importante (O'Neill & Wardma, 2009; Ling *et al.*, 2010; Murray *et al.*, 2014; Schaeue & McBride, 2015). A letalidade destas lesões

(incapacidade celular de reparação) é proporcional à proximidade entre DSBs no ADN (Ling *et al.*, 2010).

Os efeitos indiretos são o principal mecanismo de morte celular (O'Neill & Wardma, 2009; Murray *et al.*, 2014; Schreiber & Meyers, 2016) e ocorrem pelo contacto do oxigénio com o produto da radiólise (ionização das moléculas de água) (O'Neill & Wardma, 2009; Seonh *et al.*, 2010; Murray *et al.*, 2014; Schreiber & Meyers, 2016), os ROS (Suntharaligam *et al.*, 2005; Pajonk *et al.*, 2010; Brown & Graves, 2014; Schaeue & McBride, 2015). Estes são extremamente reativos, mas para se difundirem e provocarem danos permanentes no ADN, requerem a presença de oxigénio (Brown & Graves, 2014).

A morte celular radio-induzida é evidente pela redução de volume tumoral (Argyle *et al.*, 2008). No quotidiano, as células estão continuamente expostas a stress oxidativo por ROS como produto do metabolismo aeróbico. Provocam aproximadamente 50000 lesões no ADN, enquanto uma exposição celular de 2Gy/fração causa aproximadamente 3000 (Lomax *et al.*, 2013). O que distingue os danos pela radiação dos danos endógenos causados pelos ROS, e que dificulta os mecanismos de reparação, é a distribuição espacial. A radiação, ao penetrar os tecidos, deposita energia nas biomoléculas causando modificações químicas heterogéneas (O'Neill & Wardma, 2009; Lomax *et al.*, 2013), enquanto as lesões endógenas pelos ROS são distribuídas homogeneamente, o que possibilita a reparação (Bennett *et al.*, 2004; O'Neill & Wardma, 2009; Gerweck & Wakimoto, 2016).

b) O Modelo Linear Quadrático

Diversos modelos foram testados para conceituar a morte celular induzida por radiação e explicar a curva de sobrevivência celular (Suntharaligam *et al.*, 2005; Schreiber & Meyers, 2016). O modelo linear quadrático (LQ) é o atualmente aceite (Dorr, 2015) e é aplicado para descrever a relação entre dose total efetiva e doses por fração, bem como para estimar a toxicidade por dose (Dorr & Schmidt, 2014; Dorr, 2015). O modelo LQ assume que as lesões letais radio-induzidas são criadas por: 1) consequência de um evento único que forme DSB (Dale, 2004); 2) eventos separados sub-letais que se comportam em “pares” para causar danos letais (ou seja, dois SSB paralelos formam um DSB) (Dale, 2004). Este modelo assume também que os DSB são proporcionais à dose e que são reparados a um ritmo constante de $\lambda = (\ln 2/T^{1/2})$ onde $T^{1/2}$ é metade do tempo de reparação (Brenner, 2008).

$$SF = e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$$

Equação 1: LQ standard aplicado para analisar fracção sobrevivente (SF) por dose de fracção

A fase linear da fração α é responsável pela curva inicial na sobrevivência celular e representa os danos reparáveis no tecido (Dorr & Schmidt, 2014; Schreiber & Meyers, 2016; Nieder & Baumann, 2016). A porção quadrática deriva do componente β que simboliza os danos irreparáveis (Dorr & Schmidt, 2014; Schreiber & Meyers, 2016; Nieder & Baumann, 2016).

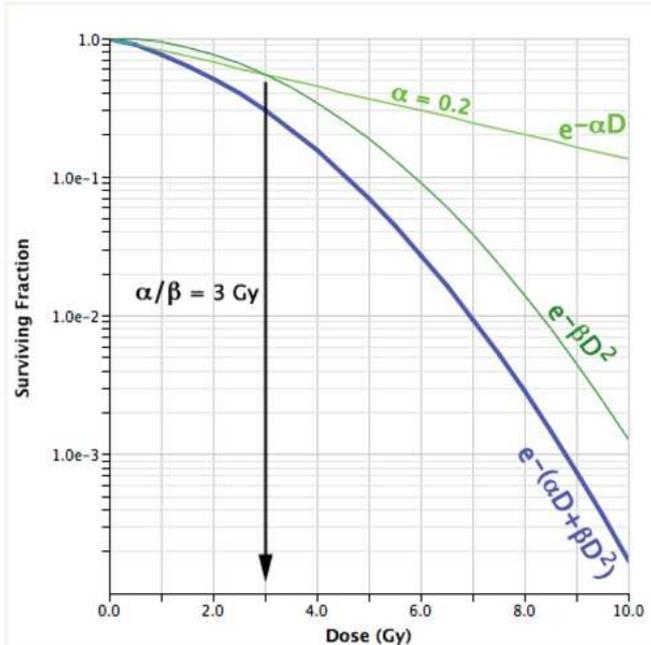


Gráfico 8: Curva de sobrevivência com a equação standard LQ (equação 1). Neste exemplo $\alpha = 0.2$ e $\alpha/\beta = 3$. Onde $e^{-\alpha D}$ e $e^{-\beta D^2}$ se intersectam corresponde à dose necessária para a morte celular que neste caso são 3 Gy ($D = \alpha/\beta$).

Gráfico retirado de: TDF Plan: Biological Models, acessado em: <http://www.eyephysics.com/tdf/models.htm>

A componente linear é proporcional à dose D e a quadrática a D^2 (Schreiber & Meyers, 2016), sendo o efeito biológico E por fração n no tecido normal após irradiação com uma dose (D). Da equação 1 obtemos uma curva sobrevivência-dose (gráfico 8) (Wheldon *et al.*, 1982; Dorr & Schmidt, 2014).

A relação α/β determina a inclinação dose-efeito, sendo que um α/β inferior representa um efeito pronunciado de fracionamento (ou seja, um aumento de tolerância) (Dorr & Schmidt, 2014). Estudos realizados com α/β menores (1.5-5Gy) resultaram em efeitos tardios dos tecidos normais e indicaram que os danos da radiação são evitados com doses menores que 1.8-2Gy, sendo estas as doses usadas atualmente na RT convencional (Nieder & Baumann, 2016). Assim, os tecidos de resposta tardia são sensíveis a alterações na dose por fração (Dorr & Schmidt, 2014) e portanto requerem um α/β inferior (Schreiber & Meyers, 2016). Por outro lado, α/β superiores (6-14Gy) não necessitam de tantas frações para perfazer a dose total (Dorr & Schmidt, 2014), no entanto provocam mais efeitos agudos nos tecidos normais, sendo portanto consideradas doses acima do interesse clínico (anexo E) (Nieder & Baumann, 2016).

Com base na informação previamente exposta, os tecidos de resposta tardia podem ser salvaguardados com hiperfracionamento (diminuição de dose por fração) (Ling *et al.*, 2010; Dorr & Schmidt, 2014). O modelo LQ pode subestimar o efeito biológico de doses por frações <1.00Gy (devido à hipersensibilidade – fenómeno biológico da dose total) e sobrestimar os efeitos de doses elevadas fracionadas >10Gy. (Dorr & Schmidt, 2014; Dorr, 2015).

c) Radiossensibilidade

Alguns fatores são conhecidos por afetarem a sensibilidade celular, tais como: a radiossensibilidade do estroma tumoral (microambiente) (Brown & Graves, 2014); a linhagem celular (uma vez que durante a fase G0 a radiossensibilidade varia pelas diferentes conformações do ADN, enquanto que durante a mitose o cromossoma está condensado e a radiossensibilidade é menos variável entre células) (Hendry, 2014); o ADN transcriptamente ativo apresenta maior sensibilidade e os danos provocados são mais complexos (Lomax *et al.*, 2013); a susceptibilidade da vasculatura à apoptose reduz o crescimento de vasos, sendo que esta teoria é controversa (Brown & Graves, 2014).

d) Dose tolerável

A dose total de radiação (que é medida na unidade internacional Gray) (Gordon & Kent, 2008; Khan & Gibbons, 2014), é influenciada pela dose tolerável, que é a dose máxima depositada nos tecidos normais na área irradiada sem provocar efeitos tardios (North & Banks, 2009; Dorr & Schmidt, 2014; Dorr, 2015). É essencial respeitar a tolerância pois a formação de DSB nestes tecidos são pode levar a mutações e/ou a aberrações cromossómicas e, por fim, causar neoplasias secundárias (Lomax *et al.*, 2013).

Tecidos de proliferação rápida (como o neoplásico) são mais susceptíveis à radiação (Murray *et al.*, 2014). É nestes tecidos que ocorrem os efeitos agudos ou iniciais (North & Banks, 2009), que são auto-limitantes ou resolvidos com terapia de suporte (anexo F) (LaRue & Gillette, 2013).

Nos tecidos com divisões celulares mais lentas, ocorrem danos que são notados tardiamente designando-se de respostas tardias (North & Banks, 2009). Este efeito tardio é afetado pela dose por tratamento (ou seja, por fração) e pelo tempo entre doses (anexo F) (LaRue & Gillette, 2013).

Os parâmetros atualmente usados para definir a tolerância tecidual são: dose tolerante (TD) 5/5: dose mínima de tolerância cuja percentagem de complicações após 5 anos é inferior a 5%; e TD50/5: dose máxima tolerada cuja percentagem de complicações após 5 anos é acima de 50%. Estas doses são calculadas com frações de 2Gy em 5dias/semana consoante o *endpoint* do órgão (Beyzadeoglu *et al.*, 2010).

e) Fracionamento de doses

O fracionamento de doses consiste na administração de várias frações com Gy menores para obter uma dose final eficaz com o mínimo de efeito sobre as células normais (Gordon & Kent, 2008; Emani, 2013; Khan & Gibbons, 2014). O regime standard – hiperfracionamento - em oncologia veterinária é chamado de terapia definitiva e consiste em 12-21 tratamentos de 2.5-3Gy com uma dose total de 36-63Gy (Farrelly & McEntee, 2003). Os efeitos adversos nos tecidos de resposta tardia são reduzidos com este protocolo (Suntharaligam *et al.*, 2005; Nieder & Baumann, 2016) e permitem uma dose total maior (Marcu, 2015; Nieder & Baumann, 2016).

Os protocolos de RT paliativos designam-se de hipofracionados (Dorr & Hendry, 2001). Consistem em protocolos com uma dose total entre 20-30Gy, dividida em administrações semanais de 5 a 8 Gy e nos hipofracionados acelerados com 48Gy (4Gy BID em dias consecutivos intercalados por 3 semanas). Têm o objetivo de “aproveitar” as diferenças de reparação do tecido normal e tumoral (Marcu, 2015). A RT hipofracionada acelerada é importante em tumores muito proliferativos e tem o objetivo de sobrepor a repopulação tumoral durante a irradiação (Suntharaligam *et al.*, 2005; Marcu, 2015).

2. RADIOBIOLOGIA – OS R’S DA RT

Em 1975, Withers introduziu o conceito dos quatro “R’s” da RT - reparação, repopulação, redistribuição e reoxigenação – como fatores que influenciam significativamente o resultado da RT (Harrington *et al.*, 2007; Argyle *et al.*, 2008; North & Banks, 2009; Loredana, 2015; Marcu, 2015; Schreiber & Meyers, 2016). Em 1993, Steel introduziu um quinto R, a radiosensibilidade intrínseca das células alvo, determinando que a tolerância do tecido é dependente da composição do mesmo (Harrington *et al.*, 2007; Good & Harrington, 2013; Dorr & Schmidt, 2014). Dorr & Van Der Kogel, (2009) sugeriram a introdução de um sexto R, o volume do órgão a irradiar (estando o R em iRradiar) e reconheceram um sétimo

R, a restauração dos danos do primeiro tratamento e a capacidade individual de a longo prazo o órgão se restaurar em indivíduos sujeitos pela segunda vez a RT (Dorr & Schmidt, 2014).

a) Reparação

A reparação dos danos subletais da radiação (Brown & Graves, 2014; Marcu, 2015), refere-se à salvaguarda do ADN (Argyle *et al.*, 2008; Marcu, 2015) dos tecidos normais (Murray *et al.*, 2014) e é conseguida num período de tempo menor em relação aos tecidos neoplásicos (North & Banks, 2009), cuja habilidade de reparação de ADN é limitada. Assim, doses reduzidas intercaladas permitem a reparação do tecido normal (Argyle *et al.*, 2008; Marcu, 2015), diminuindo os efeitos adversos (Dorr, 2015). Os tratamentos fracionados devem ser separados pelo menos por 6 horas para permitir que o ADN das células normais seja reparado (Marcu, 2015).

b) Redistribuição

A radiosensibilidade depende da fase do ciclo celular em que as células se encontram (Brown & Graves, 2014; Marcu, 2015; Schreiber & Meyers, 2016), sendo a fase S a mais radorresistente (North & Banks, 2009; Pajonk *et al.*, 2010) e a G2-M a mais radiosensível (Argyle *et al.*, 2008). Com a radiação, células na fase mais propensa morrerão, no entanto na fração seguinte de tratamento, as células sobreviventes estarão em fases mais susceptíveis (Brown & Graves, 2014; Pajonk *et al.*, 2010), sendo este fenómeno designado de fenómeno de redistribuição das células no ciclo celular.

c) Repopulação

A repopulação é um processo de proliferação dos tecidos que ocorre entre tratamentos (Pajonk *et al.*, 2010; Brown & Graves, 2014; Marcu, 2015). Nos tecidos tardios inicia-se semanas após a terapia (Dorr & Schmidt, 2014) mas nos de proliferação rápida ocorre durante ou poucas semanas após a irradiação (Pajonk *et al.*, 2010; Brown & Graves, 2014). Este processo depende do tempo necessário para recrutar células estaminais e acelerar as divisões mitóticas das células presentes (North & Banks, 2009; Brown & Graves, 2014) e também da dose e do intervalo de tempo entre frações (Brown & Graves, 2014).

Aproximadamente quatro semanas após o início do tratamento de RT, as neoplasias repopulam a uma velocidade superior ao normal. As causas para este acontecimento são desconhecidas mas acredita-se que possa estar relacionado com a redução do tempo no ciclo celular ou um aumento do número de células que estão ativamente em divisão, evento este

que se denomina de repopulação acelerada (LaRue & Gillette, 2013; Dorr & Schmidt, 2014; Marcu, 2015).

d) Reoxigenação

A hipóxia tumoral é uma das maiores causas de radiorresistência (Argyle *et al.*, 2008; Brown & Graves, 2014; Marcu, 2015). A reoxigenação das células tumorais sobreviventes (Brown & Graves, 2014) influencia diretamente a resposta clínica, pois células previamente em hipóxia estarão susceptíveis à radiação (Pajonk *et al.*, 2010; Brown & Graves, 2014; Marcu, 2015; Schreiber & Meyers, 2016), sendo que a proporção de células em hipóxia que sobreviveram diminui rapidamente nas primeiras 3h após irradiação (North & Banks, 2009; Brown e Graves, 2014). Ainda, a diminuição da distância das células em hipóxia dos vasos sanguíneos melhora o fluxo sanguíneo e portanto, também melhora a distribuição de oxigênio (Brown & Graves, 2014). A reoxigenação entre doses de tratamento e conseqüentemente o aumento de radiosensibilidade, é a razão pela qual várias frações induzem morte celular num maior número de células quando comparado com doses elevadas únicas (Pajonk *et al.*, 2010; Brown & Graves, 2014).

As células em hipóxia, ou seja, que estão a uma distância superior a 100 μ m de um capilar (North & Banks, 2009), estão protegidas dos danos da radiação, sendo portanto radiorresistentes (Bentzen *et al.*, 2005). Conseqüentemente o resultado terapêutico é inferior ao de neoplasias bem oxigenadas (Bentzen *et al.*, 2005). Assim, a RT é mais eficaz em neoplasias de menores dimensões ou em doença microscópica (Argyle *et al.*, 2008).

e) Radiossensibilidade Intrínseca (RSI)

Considera-se a RSI a capacidade da radiação provocar a morte celular ou a incapacidade reprodutiva nas células neoplásicas (Brown & Graves, 2014) e varia de acordo com o tecido de origem e o seu microambiente (Lomax *et al.*, 2013).

Sabe-se que está relacionada com a linhagem celular, sendo que esta influencia: o parâmetro α e dose de inativação celular (Fertil & Malaise, 1985); a susceptibilidade na fase G0 (Biade *et al.*, 1997); a resposta apoptótica radio-induzida (Aldridge & Radford, 1998); o mecanismo de reparação dos DSB radio-induzidos no ADN (Maeda *et al.*, 2016); e por fim, a ploidia celular (frequência de aberrações cromossômicas), que é um indicador de sensibilidade independente de outros fatores como a reparação (Schwartz *et al.*, 1998).

Dunne *et al.* (2003), concluíram que a linhagem celular SW48¹ era a mais sensível e HT29² a mais resistente. Seonh *et al.* (2010), determinaram que a radiosensibilidade dos fibroblastos era influenciada pelo órgão funcional. Assim, a resposta à radiação não é só influenciada por frações, pela capacidade de repopulação, pela hipoxia e dose total (Forker *et al.*, 2015), como também pela linhagem celular (Schreiber & Meyers, 2016). No entanto, até à data não há biomarcadores preditivos de RSI que beneficiem a prática clínica (Forker *et al.*, 2015).

f) Radiossensibilizadores

A radiorresistência ocorre devido à distância das células dos vasos sanguíneos e consequente hipóxia; e/ou à exposição inadequada ou insuficiente (Brown & Graves, 2014). A adição de moléculas na zona de irradiação tem o intuito de maximizar a eficácia da RT e são nomeadas de radiossensibilizadores por potenciarem a resposta celular (Fong, 2016). Os radiossensibilizadores são divididos em cinco categorias: 1) supressão intracelular de moléculas endógenas radioprotetoras; 2) potenciadores das substâncias citotóxicas da radiólise; 3) inibidores pós-irradiação dos mecanismos de reparação, pela inibição das três proteínas cinases responsáveis pelo mesmo: DNA-PK³, ATM⁴ e ATR⁵ (Seonh *et al.*, 2010; Brown & Graves, 2014; Durisova *et al.*, 2016); 4) sensibilização pela incorporação estrutural intracelular de análogos da timina; 5) fármacos miméticos de O₂ (Wardman, 2007).

Uma vez que é uma área recente em estudo, experiências têm sido executadas de modo a arranjar radiossensibilizadores com aplicação clínica. Segundo a bibliografia, os inibidores de DNA-PK mais promissores são: NU7441, IC86621, IC87361 e CC-115; e dos inibidores de ATM com capacidade transiente de inibição são KU55933 e KU60019 (Durisova *et al.*, 2016). Saberi *et al.* (2016), verificaram que a adição de nanopartículas de ouro antes de irradiação potencia o efeito da radiação por terem uma grande capacidade de absorção, promovendo o efeito local. Wardman *et al.* (2007), observaram que o óxido nítrico é um radiossensibilizador mais potente que o oxigénio. Oei *et al.* (2015), analisaram que a hipertermia afeta os mecanismos de reparação celular. Não obstante, estes radiossensibilizadores ainda não têm utilidade na prática clínica atual.

¹ Linhagem celular epitelial, do adenocarcinoma coloretal em humanos.

² Linhagem celular do adenocarcinoma coloretal em humanos, com morfologia epitelial, descoberta por Jorgen Fogh em 1977.

³ Proteína com função de reparação do ADN danificado, presente na maioria dos mamíferos, com objetivo de manter a integridade do genoma.

⁴ Proteína com função de repação, activada pela presença de DSB's no ADN.

⁵ Proteína também com função de reparação, activada por stress genotóxico.

C. Radioterapia na Medicina Veterinária

1. Equipamento e Requisitos

A radiação ionizante pode ser emitida por fontes externas (distantes) - teleterapia - ou pela aplicação intrínseca de fontes radioativas - braquiterapia (North & Banks, 2009). A braquiterapia consiste na inserção de fontes radioativas na lesão tumoral a tratar, sendo raramente aplicada em veterinária devido à dificuldade de manter alguns implantes nos pacientes e por requerer o isolamento do animal durante dias a semanas, consoante o objetivo terapêutico (Farrelly & McEntee, 2003).

As fontes de radiação externas podem ser máquinas de ortovoltagem, cobalto 60, Césio 137 ou aceleradores de partículas lineares (LINACs). As de ortovoltagem, com uma energia de 150-500 kVp (Lattimer & Bommarito, 2010), distribuem a maior parte da dose na pele (North & Banks, 2009; Lattimer & Bommarito, 2010; LaRue & Custis, 2014).

O Cobalto 60 e Césio 137 foram das primeiras máquinas a permitir o tratamento de massas profundas (Gordon & Kent, 2008; North & Banks, 2009) com 1.25 e 0.662 MeV, respectivamente (Lattimer & Bommarito, 2010; LaRue & Custis, 2014). Emitem raios gama de elevada energia (Khan & Gibbons, 2014). A única vantagem sobre os LINACs é o menor custo (Farrelly & McEntee, 2003; North & Banks, 2009; Khan & Gibbons, 2014). Por outro lado, necessitam de uma fonte radioativa que compromete a saúde e segurança pública (SSP) (Lattimer & Bommarito, 2010), e esta deve ser substituída aproximadamente a cada 5 anos (Farrelly & McEntee, 2003). No entanto, as máquinas de Cobalto 60 e Césio 137, em relação às de ortovoltagem são mais simples e estáveis (Farrelly & McEntee, 2003; Lattimer & Bommarito, 2010; LaRue & Custis, 2014).

Os LINACs têm um potencial que varia de 4 a 15 MV de raio-x consoante a máquina (Farrelly & McEntee, 2003; North & Banks, 2009). Devido à elevada energia, podem alcançar tecidos em maior profundidade, até 70mm (Lattimer & Bommarito, 2010). Têm a capacidade de irradiar o paciente de diferentes posições e permitem que o feixe de radiação seja colimado para restringir a área irradiada apenas ao tecido tumoral (Gordon & Kent, 2008; Khan & Gibbons, 2014).

Equipamentos mais recentes como *microbeam radiation therapy* (MRT) distribuem doses elevadas (ex: 100 Gy) num fluxo extremamente rápido (aproximadamente 1 segundo) no alvo (Kim & Kim, 2013). Outra inovação é radiocirurgia estereotáxica e RT corporal

esteriotóxica que distribuem uma grande dose por fração com baixa toxicidade para tecidos adjacentes devido à grande velocidade de entrega e, conseqüentemente diminui o tempo de exposição (Balagamwala *et al.*, 2012; Bloomfield, 2015). Agrupam-se na teleterapia com função curativa (Bloomfield, 2015).

Atualmente, a maioria dos pacientes humanos e animais que recebem RT são tratados com LINACs. Após a determinação tridimensional da localização e dimensões precisas da neoplasia a tratar, através de TAC ou RM, as imagens são processadas por programas informáticos associados à máquina de RT (International Atomic Energy Agency (IAEA), 2008). Existem diversos programas desenhados para esta função que podem ser consultados em: Imaging Technology News, *An Introduction to Current Radiation Therapy Treatment Planning Systems* (Fornell, 2013).

Relativamente aos requisitos de instalação, a RT requer condições muito específicas para garantir a SSP dos manipuladores e utentes. É necessária a realização de uma análise do local a instalar o equipamento para verificar se este cumpre com os pré-requisitos, bem como diversos testes laboratoriais e de engenharia (IAEA, 2014). Requer também a obtenção de licenças para o equipamento, exposição e proteção dos pacientes. Todos os requisitos para a construção podem ser acedidos em: *Radiotherapy Facilities: Master Planning and Concept Design Considerations*, (IAEA, 2014).

2. Planeamento do Tratamento

Os efeitos adversos da RT dependem do volume de tecido irradiado (Steel, 2007; Marcu, 2015). No planeamento, o delineamento do *gross tumour volume* (GTV) engloba a doença palpável ou visualizada em estudos imagiológicos - doença clinicamente detectável (Gordon & Kent, 2008; Dorr & Schmidt, 2014). O *clinical target volume* (CTV) inclui células normais do parênquima do órgão e as células tumorais das margens (Gordon & Kent, 2008; North e Banks, 2009) com base no comportamento biológico da neoplasia (Gordon & Kent, 2008). O *target volume* (TV) engloba os dois grupos prévios e supostamente será composto apenas por tecido normal (Dorr & Schmidt, 2014). A união destas componentes determinará o alvo clínico (North & Banks, 2009).

A severidade dos efeitos da RT nos tecidos normais varia com a migração celular (intrínseca do órgão) para reparar os danos (Steel, 2007; Marcu, 2015). Estudos realizados em animais indicam que a influencia do volume é complexa e que se deve ter em conta a

anatomia e fisiologia das zonas irradiadas (Hopewella & Trott, 2000; Marcu, 2015). Alguns tecidos, embora formados por células radiosensíveis poderão nunca manifestar efeito volume, sendo portanto resistentes à radiação refratada (Steel, 2007). Assim, antes de se iniciar um tratamento de RT deve-se ter em conta a radiosensibilidade do tumor, a dose por fração, o número total de frações, o objetivo da terapia (paliativo ou curativo) e mais importante, o efeito nos tecidos circundantes (Gordon & Kent, 2008).

3. Aplicação Prática da RT– em foco no VRCC

A RT pode ser usada como terapia neoadjuvante ou adjuvante (Biller *et al.*, 2016). As vantagens quando aplicada como tratamento neoadjuvante são: como o tecido cicatricial é menos oxigenado e a hipóxia é uma causa de radiorresistência, irradiar uma zona não cicatricial, favorece a eficácia radioterapêutica (North & Banks, 2009; Findji, 2013; Biller *et al.*, 2016); diminui a possibilidade de disseminação de células neoplásicas durante a cirurgia o que pode evitar uma cirurgia agressiva (Findji, 2013; Biller *et al.*, 2016). As desvantagens são: causar danos nos tecidos, o que pode complicar o procedimento cirúrgico e elevar o risco de complicações na zona de cicatrização pós cirúrgica (o que é evitado com um protocolo bem planeado) (Findji, 2013). Em contrapartida, como adjuvante após a cirurgia, é aplicada na doença residual (microscópica ou não) e, se for o caso, a cirurgia citoredutora (devido à diminuição do volume neoplásico) favorece a resposta terapêutica à RT (Bentzen *et al.*, 2005).

No VRCC, a RT é utilizada como monoterapia em neoplasias inexcisáveis para controlo de dor ou resolução de constrangimentos que a massa tumoral possa provocar; como adjuvante quando as margens cirúrgicas não são completas e/ou em conjunto com quimioterapia nas neoplasias associadas a elevadas taxas de recidiva local. O dogma é que é necessário haver doença para irradiar. Assim, as neoplasias mais comumente sujeitas a RT são: nasais (ex. linfomas (LSA) e carcinomas), orais (ex. fibrossarcomas (FSA) e melanomas malignos (MM)), do sistema nervoso central (SNC) (ex. meningiomas e adenocarcinomas pituitários), ósseas (ex. osteossarcomas (OSA)) e sarcomas dos tecidos moles apendiculares. Os protocolos frequentemente usados no VRCC encontram-se descritos na tabela 2. O esquema de QUAD-shot apresentado na tabela 2, foi adaptado no VRCC. Originalmente, o intervalo entre tratamentos era de 4 semanas, mas por experiência da equipa médica, foi reduzida para 3 de modo a aumentar a taxa de sucesso (Corry *et al.*, 2005).

Tabela 2: Protocolos RT utilizados no VRCC (cedido por VRCC).

Protocolo	Dose por fração	Número de Frações	Dose Total
Definitivo (Seg-Sex)	2.5-3 Gy	16-18	48 Gy
QUAD shot (Seg+Ter EO3w)	4 Gy	12	48 Gy
Hipofracionado (Semanalmente)	8 Gy	4	32 Gy
	6 Gy	6	36 Gy

Legenda: EO3W: a cada 3 semanas.

A escolha do protocolo a prosseguir depende de vários fatores: 1) das características da neoplasia a tratar, nomeadamente o tipo de neoplasia e a sua radiosensibilidade, a localização a irradiar e a quantidade de doença presente (visível ou microscópica); 2) das características intrínsecas ao animal, tais como a gravidade dos sinais clínicos e sua implicação na qualidade de vida, a idade do paciente e o seu temperamento; 3) do proprietário, ou seja da sua disponibilidade financeira e da sua vontade em hospitalizar o paciente. Por exemplo, um animal com ansiedade de separação e geriátrico, com uma neoplasia no SNC cujo protocolo ideal seria o definitivo, pode não ser o protocolo mais apropriado para este doente, dado que uma hospitalização de 3 semanas não é favorável à qualidade de vida do mesmo. Nestes casos, pondera-se a administração de um protocolo hipofracionado, pois embora não seja o ideal, a curto prazo favorece o desaparecimento de sinais clínicos.

A RT é a modalidade de tratamento de eleição em animais com neoplasias nasais, uma vez que a cirurgia com intenção curativa não é muitas vezes possível, estando associada em geral TMS de 3 a 9 meses (Tan-Coleman *et al.*, 2012). Nestes casos não estão descritos efeitos benéficos em realizar cirurgia antes da RT (Fujiwara *et al.*, 2013; Sones *et al.*, 2012). Com efeito, de acordo com a literatura, a RT é o tipo de tratamento mais eficiente em cães e gatos com adenocarcinomas, sarcomas e LSA da cavidade nasal (Haar, 2006; Argyle *et al.*, 2008; North & Banks, 2009; LaRue & Gillette, 2013; Pujol, 2014; Biller *et al.*, 2016). Os regimes adotados no VRCC são definitivos em LSA e QUAD-shot nas restantes neoplasias. Diversos estudos descrevem em tumores nasais em cães, para protocolos definitivos, um TMS de 6.7 a 23 meses (Sones *et al.*, 2012; Pujol, 2014; George *et al.*, 2016) e, para protocolos paliativos, um TMS de 6 a 12 meses (Tan-Coleman *et al.*, 2012; Poirier *et al.*, 2013; Fujiwara-Igarashi *et al.*, 2013; George *et al.*, 2016), dependendo do estadió clínico da doença.

Em gatos o TMS é de 11.5 meses e a combinação com quimioterapia causa um aumento significativo no TMS (Haney, 2009; Fujiwara-Igarashi *et al.*, 2014). No entanto, os LSA nasais em gatos geralmente ainda respondem melhor à RT que os outros tipos histológicos, estando descritos TMS de 14.4 meses (Fujiwara-Igarashi *et al.*, 2014). Os efeitos agudos da RT mais reportados em cães são mucosite oral e conjuntivite e os tardios são queratoconjuntivite seca. Enquanto que em gatos são descarga nasal e alopecia devido a queratoconjuntivite seca, e como efeitos tardios mais comuns são as cataratas (Tan-Coleman *et al.*, 2012; Sones *et al.*, 2012; Poirier *et al.*, 2013; Fujiwara-Igarashi *et al.*, 2013; Pujol, 2014).

A RT tem grande aplicação em neoplasias orais nomeadamente em MM, em carcinomas das células escamosas (CCE), FSA e em epúlides acantomatosas (ECA) (Argyle *et al.*, 2008; Biller *et al.*, 2016). No VRCC, nos melanomas orais o protocolo utilizado é sempre o hipofracionado. O princípio é que tratamentos hipofracionados possibilitam remissões completas e duráveis como adjuvante cirúrgica ou monoterapia (Kawabe *et al.*, 2015), mas independentemente da modalidade de tratamento, poucos são os pacientes que sobrevivem mais de um ano, embora existam casos reportados de dois anos (Kessler, 2006). As restantes neoplasias são submetidas a protocolos definitivos no caso de ter sido realizada cirurgia citoredutora ou hipofracionados quando são neoplasias grandes que condicionam a qualidade de vida do paciente. Fidel *et al.* (2011), e Poirier *et al.* (2013) descreveram um TMS de 5.4-5.8 meses para CCE tratados com protocolos definitivos de RT em conjunto com cirurgia ou quimioterapia. Por outro lado, com uma abordagem semelhante, Frazier *et al.* (2012) reportou, em FSA, um TMS de aproximadamente 2 anos. Assim, nas neoplasias orais o sucesso do tratamento é influenciado pelo tipo de neoplasia e pela abordagem terapêutica, sendo que a multimodal com cirurgia permite o aumento do TMS. Os efeitos agudos mais comuns são mucosite e dermatite (Kawabe *et al.*, 2015).

Nas lesões do SNC, a RT é essencialmente relevante nos casos em que a cirurgia não é possível ou em que a excisão foi incompleta (Yoshikawa & Mayer, 2009). O protocolo de RT utilizado no VRCC para o tratamento deste tipo de neoplasias é o definitivo, dado que o SNC é susceptível a efeitos tardios (Yoshikawa & Mayer, 2009; Kent *et al.*, 2007). São diversas as publicações que corroboram a eficácia de protocolos definitivos na redução do tamanho da neoplasia, dos sinais clínicos e no aumento do TMS, tanto em cães como em gatos diagnosticados com neoplasias extra-axiais (meningioma, schwannoma e tumores do

plexo coroide), intra-axiais (astrocitoma e glioma) e pituitários (adenoma ou adenocarcinoma) (Axlund *et al.* 2002; Bley *et al.* 2005; Mayer *et al.*, 2006; Kent *et al.* 2007; Biller *et al.* 2016).

Nos casos de neoplasias ósseas, recorre-se à RT quando são massas impossíveis de extirpar com margens completas, quando há evidência de metástases ou quando os proprietários recusam a amputação (Green *et al.*, 2002). O objetivo é dar conforto ao animal por reduzir o volume da massa e diminuir a dor. Ramirez *et al.* (1999) foram pioneiros na descrição da RT para reduzir a dor óssea. Posteriormente, Green *et al.* (2002) verificaram que o protocolo hipofracionado de quatro semanas, quando comparado com o de três, permite um melhor controlo dos sinais clínicos, sendo este o protocolo utilizado no VRCC. O protocolo é reajustado quando o alívio da dor não ocorre após a primeira fração e suspenso na presença de fraturas patológicas, como descrito na bibliografia (Mayer *et al.*, 2006). Também é comum administrarem-se infusões de pamidronato (um inibidor da atividade osteoclástica) antes da anestesia para reduzir a fragilidade óssea e melhorar o controlo da dor, sendo este último controverso na literatura (Oblak *et al.*, 2012). No entanto, Oblak *et al.* (2012) concluíram que a RT associada à quimioterapia é mais eficaz no controlo dos sinais clínicos quando comparado com infusões de pamidronato. No caso dos OSA da cabeça, a excisão cirúrgica é a opção terapêutica que permite obter um maior tempo de sobrevivência (Selmic *et al.*, 2014).

A utilização da RT nos sarcomas dos tecidos moles do esqueleto apendicular tem o objetivo de eliminar a doença microscópica residual das margens após extirpação cirúrgica, dado serem neoplasias localmente invasivas (Cancedda *et al.*, 2016). Os protocolos adotados são hipofracionados de 4 ou 6 semanas, sendo a escolha influenciada pelo local, tamanho da cicatriz e grau histológico. O mesmo se aplica a neoplasia cutâneas, nomeadamente LSA, tumor venéreo transmissível (TVT), mastocitoma (MCT), histiocitoma (HCT) e o adenocarcinoma perianal, que são sensíveis aos efeitos da RT (Couto, 2007). Os carcinomas e sarcomas estão associados a uma boa resposta radioterapêutica aumentando significativamente o TMS e a qualidade de vida do paciente (Demetriou *et al.*, 2012; Tollett *et al.*, 2016).

Nos tumores intracavitários (tórax e abdómen), também se pode utilizar RT. No entanto, quando órgãos como fígado, rins, baço e pulmões se encontram no campo a irradiar, esta abordagem é evitada no VRCC. A susceptibilidade destes tecidos à radiação pode comprometer significativamente a qualidade de vida do animal, sendo por isso a quimioterapia paliativa o tratamento mais utilizado nestes casos. O uso da RT em neoplasias intra-abdominais aplica-se essencialmente a neoplasias da próstata, da bexiga ou linfonodos

sublobares com doença metastática no VRCC. Nos timomas impossíveis de extirpar cirurgicamente, pode-se recorrer à RT com protocolos definitivos para reduzir o seu tamanho e, conseqüentemente diminuir os efeitos nos tecidos adjacentes (Smith *et al.*, 2001). Contudo, a taxa de sucesso descrita é dúbia (Smith *et al.*, 2001).

Outros casos em que se utiliza a RT é em carcinomas da tiroide, quando invasivos e não extirpáveis, e linfomas de Hodgkin. Tumores da tiroide são tratados com protocolos definitivos, mais uma vez, para minimizar danos nos tecidos adjacentes (Théon *et al.*, 2000; Pack *et al.*, 2001). Permite obter o controlo local da massa primária (regressão lenta ou doença estável) através da redução de volume que, conseqüentemente, diminui os sinais clínicos, aumentando a qualidade de vida; está associada a um TMS de 24.5 meses (Mayer & MacDonald, 2007). No entanto, em casos de carcinoma da tiroide com doença metastática distante ou em que o paciente não seja candidato a protocolos definitivos, pode-se optar por protocolos paliativos (Mayer & MacDonald, 2007). Brearley *et al.* (1999) no subestadio b (carcinomas da tiroide fixos), atingiu um TMS de 22.4 meses com 4 frações de 9Gy semanalmente. Que seja do conhecimento do autor, não há casos reportados da utilização de RT em linfomas de Hodgkin. Porém, no VRCC é utilizado o protocolo hipofracionado ao qual os linfonodos respondem (diminuem significativamente), no entanto o sucesso a longo prazo é desconhecido.

Em suma, a radioterapia pode ser aplicada a um vasto leque de neoplasias cujas respostas terapêuticas são variáveis. Deve-se ter em conta que apresenta conseqüências para os tecidos normais, pelo que é necessário ponderar caso a caso se a sua aplicação é benéfica. A sua indicação é maioritariamente paliativa e também para controlo de doença local. Os protocolos supramencionados não são fixos para as neoplasias (com exceção dos MM), ou seja, o protocolo radioterapêutico é escolhido tendo em conta as características de cada caso individual, após ponderação da radiosensibilidade da neoplasia, da condição física, doenças concomitantes e personalidade/temperamento do animal, tendo em conta a disponibilidade financeira, temporal e emocional do tutor do animal.

D. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar, através da realização de um estudo retrospectivo, a eficácia do protocolo de RT paliativa *QUAD-shot* em cães diagnosticados com ASAC. Como objetivo secundário, pretendeu-se verificar se o estadio clínico (de acordo com o esquema de estadiamento de Polton & Brearley, (2007)) e o tamanho da neoplasia influenciam a escolha do protocolo de RT a utilizar.

III. Materiais e Métodos

Seleção de casos

Para a elaboração deste estudo retrospectivo, acedeu-se há base de dados do centro de referência Veterinary Referral Cancer Centre (VRCC) para identificar cães com diagnóstico de ASAC que receberam o protocolo de RT QUAD-shot. Foram recolhidos dados relativos a: idade, género, peso, data e métodos de diagnóstico, estadiamento, data de tratamento RT, modalidades terapêuticas adjuvantes (se utilizadas), tempo entre tratamentos, duração do protocolo de RT e seguimento pós-terapêutico. Para responder ao objetivo secundário, foi também reunida informação sobre casos de cães com ASAC submetidos a tratamento com o protocolo de RT definitivo, incluindo a sua resenha, dados do estadiamento, tratamentos realizados e diâmetro tumoral.

Para serem incluídos no estudo, os casos teriam de ter a confirmação de diagnóstico de ASAC por histologia ou citologia, informação sobre a dimensão da neoplasia primária e/ou das metástases antes do início da RT e serem tratados com RT como adjuvante ou monoterapia. Assim, no período de tempo entre Setembro de 2014 e Dezembro de 2016, 5 cães que receberam QUAD-shot e 4 que receberam o protocolo definitivo, enquadraram-se nos critérios. O intervalo temporal para a colheita de casos foi determinado de modo a garantir uniformidade da equipa imagiológica, radioterapêutica e médica, e ainda, dos equipamentos utilizados.

Previamente ao tratamento, o estadiamento clínico foi realizado em toda a população através de exame físico, análises laboratoriais (hemograma e bioquímica), radiografias torácicas (3 projeções – lateral direita e esquerda e ventrodorsal) e ecografia abdominal ou TAC abdominal. Quando os linfonodos do linfocentro iliosacral não eram palpáveis ou estavam com os tamanhos definidos como normais (tendo em conta a sua avaliação imagiológica), foram considerados livres de doença metastática. Por outro lado, os casos com linfadenomegália regional evidente, foram considerados ter doença metastática, mesmo que não tivessem sido avaliados através de análise citológica ou histológica.

Radioterapia

A RT foi administrada com um LINAC 6MV (Primus K®, Siemens). Nomeou-se como grupo 1, os 5 cães que receberam o QUAD-shot (4Gy BID, segunda e terça-feira, espaçadas por 3 semanas até perfazer 12 frações), e o grupo 2, composto por 4 cães que

receberam o protocolo definitivo (3Gy x 16 frações, segunda a sexta-feira, semanal). Não obstante, todos os cães receberam uma dose total de 48Gy.

A radiação foi distribuída por dois campos laterais com Gy iguais. O planeamento de todos os tratamentos foi elaborado com um programa de três dimensões. Caso a coluna vertebral ou órgãos abdominais integrassem o campo a irradiar, estes foram bloqueados com cunhas de silicone com 1 cm de espessura.

Antes do primeiro tratamento, foi realizada uma radiografia com o LINAC, para confirmar que o posicionamento estava correto (Figura 1). Após a confirmação, os cães eram marcados com marcadores cirúrgicos (Figura 2) para que nos tratamentos seguintes não fosse necessário realizar um novo topograma.



Figura 1: Vista lateral direita, caso grupo 1. Topograma feito com o LINAC. Tem como objectivo verificar que o posicionamento do cão está correcto. O rectângulo verde na imagem corresponde ao local que a ser irradiado.



Figura 2: Vista lateral direita, caso grupo 1. O LINAC dispõe de lasers laterais para marcar o campo. Nos locais onde os lasers incidiram no cão, as linhas foram desenhadas com marcadores cirúrgicos para garantir um posicionamento igual nos restantes tratamentos.

Os procedimentos da RT foram sempre realizados com a supervisão de um médico veterinário radiologista reconhecido pelo European College of Veterinary Surgeons (ECVS).

As reações agudas à RT foram definidas como lesões no local de irradiação, ou seja, na pele (eritema e alopecia) ou no trato gastrointestinal (diarreia e colite aguda), durante o

protocolo de tratamento ou 3 semanas após o seu término, de acordo com os critérios do Veterinary Radiation Therapy Oncology Group (VRTOG) (anexo G).

No decorrer do tratamento, os cães foram examinados antes de cada fração de RT, através do exame físico e se necessário, ecografia abdominal, para monitorizar quanto a possíveis efeitos secundários, e para averiguar se havia necessidade de adiar ou suspender o mesmo.

Após a finalização do respectivo protocolo de tratamento, o seguimento consistiu em três consultas intervaladas por um mês. Na primeira consulta, foi realizada, a todos os animais, uma palpação rectal e uma ecografia abdominal para medir a doença metastática existente e comparar com o tamanho inicial. Ao fim dos 3 primeiros meses de seguimento, o intervalo entre avaliações para reavaliação do estadiamento clínico passou a ser trimestral até se detetar a progressão da doença.

O tempo até progressão (TTP) foi definido como o tempo entre a ausência de sinais clínicos e o reaparecimento dos mesmos ou aumento mensurável da neoplasia. No caso de cães que estavam com doença estável mas que desenvolveram PU/PD devido a hipercalcemia não atribuível a outras causas (apenas à neoplasia), foi considerado progressão da doença. A duração da resposta terapêutica foi considerada o tempo entre a 1ª avaliação após o término da RT até à deteção de DP. Caso na altura de DP os proprietários optassem por mais tratamentos, a resposta atingida com este maneio médico, não foi considerada.

Análise estatística

Os dados foram recolhidos e organizados em Excel. Posteriormente, a análise estatística foi elaborada com o programa IBM SPSS versão 22. Foi realizada uma análise descritiva e inferencial dos dados. A parte inferencial foi baseada no Teste T para amostras independentes para comparação da população, sendo considerado significativo quando $p < 0.05$. O teste Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade, sendo que era é confirmada quando $p > 0.05$.

IV. Resultados

População estudada

Dos 9 cães incluídos no estudo, três eram fêmeas e seis machos, estando esterilizados na altura do diagnóstico. As raças que compuseram a população foram o Setter Inglês, o Cocker Spaniel Inglês, o Springer Spaniel Inglês, o Labrador Retriever, o Labradoodle e um cruzado de Collie. A raça predominante foi o Cocker Spaniel Inglês (n=3), sendo que as restantes raças foram representadas apenas por um cão cada. A idade média da amostra foi de 9.5 anos (95% IC, 7.90-11.09) com um peso médio de 23.99 kg (95% IC, 15.66-32.32) (tabela 3).

Tabela 3: Resultados do teste Shapiro Wilk para averiguar a normalidade das variáveis da população dos dois grupos.

	Casos	Média (IC 95%)	Mediana (mín-máx)	<i>p</i> -value
Idade	9	9.5 (7.9-11.09)	9 (6.5-13)	0.612
Peso	9	23.99 (15.66-32.32)	23 (11-41)	0.349
Tamanho médio massa secundária	8	3.475 (1.336-5.614)	2.975 (0.8-7.5)	0.25

Os sinais clínicos que levaram ao diagnóstico de ASAC foram: desconforto na região perianal (n=4); protusão anal (n=4); tenesmos e constipação (n=2); PU/PD (n=2); fraqueza nos membros posteriores (n=2) e letargia (n=1). Foi um achado de exame físico de rotina em 4 cães. A duração dos sinais clínicos variou entre 1 a 6 semanas e todos os cães apresentaram com massas primárias unilaterais.

O diagnóstico inicial foi realizado através de palpação rectal, citologia e ecografia abdominal. Posteriormente, o estadiamento clínico foi feito com TAC e radiografias torácicas, dos quais, um cão estava em estadio clínico 2, 6 cães no 3a e os restantes no 3b (tabela 4). Com a exceção de um cão, toda a amostra foi diagnosticada com doença metastática nos linfonodos regionais (íliosacrais) na altura do diagnóstico. Os linfonodos metastizados apresentaram um tamanho médio de 3.475 cm (95%IC, 1.33-5.16) (tabela 3). Alguns dos casos foram referenciados com o diagnóstico já realizado no veterinário de primeira opinião e no VRCC realizaram apenas o estadiamento, o que impossibilitou obter a informação referente à dimensão da massa primária. Esta dimensão foi conhecida para alguns casos do grupo 1, cujo tamanho variou entre 2-3.2cm (tabela 5). O cálcio ionizado foi medido aquando

do diagnóstico em todos os casos, tendo-se constatado que três do grupo 1 apresentavam hipercalcemia (Gráfico 9).

Tabela 4: Descrição do diagnóstico e tratamentos dos grupos.

	Grupo 1	Grupo 2
Diagnóstico	Análise histopatológica	
Estadio clínico	2 (n=1) 3a (n=2) 3b (n=2)	3a (n=4)
Tamanho médio massa secundária	5.6 cm	1.35 cm

Legenda: os estadios clínicos foram classificados de acordo com (Polton e Brearley, 2007); a medição da massa secundária corresponde ao diâmetro máximo; LNN: linfonodos; dgx: diagnóstico.

Tabela 5: Descrição dos casos clínicos tendo em conta dimensões da neoplasia e metástases bem como tratamentos efetuados.

Caso	Tratamento inicial	Tratamento adjuvante	Ø massa 1ª	Ø LNN	Protocolo RT	Data início RT	Data término RT
1	Saculectomia + Linfadenectomia*	x	3.2 cm	6.6	QUAD	16/02/2015	31/03/2015
2	Saculectomia + Linfadenectomia*	4/4 carboplatina	2 cm	7.5	QUAD	27/05/2015	10/07/2015
3	Saculectomia + Linfadenectomia*	metronómica carboplatina	x***	4.35	QUAD	18/05/2016	04/07/2016
4	x	x	9 cm	s/ mets.	QUAD	31/03/2016	17/05/2016
5	Saculectomia + Linfadenectomia*	x	3 cm	3.95	QUAD	13/10/2015	25/11/2015
6	Saculectomia + Linfadenectomia**	4/4 carboplatina	x***	0.8	Definitivo	12/09/2016	03/10/2016
7	Saculectomia + Linfadenectomia*	x	x***	2	Definitivo	13/07/2015	03/08/2015
8	Saculectomia + Linfadenectomia**	x	x***	1.5	Definitivo	06/05/2016	01/06/2015
9	Saculectomia + Linfadenectomia**	x	x***	1.1	Definitivo	02/02/2015	26/03/2015

Legenda: Ø: diâmetro; LNN: linfonodos; carbo: carboplatina; s/mets: sem doença metastática.

Medição em cm do diâmetro da massa primária antes da cirurgia e o diâmetro dos linfonodos após a cirurgia e antes da RT.

*cães em que a cirurgia aos linfonodos foi apenas cito-redução devido à grande dimensão da doença;

** cães que após a linfadenectomia permaneceram com doença microscópica.

***cães cuja dimensão da massa primária não foi obtida nas informações.

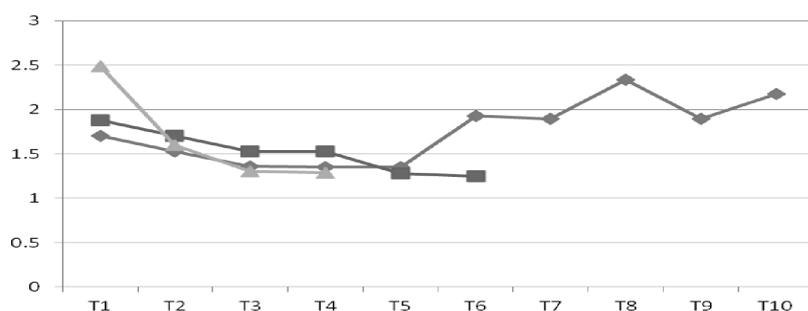


Gráfico 9: Cálcio ionizado em mmol/L. Cada t representa 30 dias. Curva de cálcio ionizado dos cães que iniciaram a RT com hipercalcemia.

O tratamento inicial dos ASAC foi cirúrgico e o procedimento consistiu em saculectomia unilateral completa e citoredução dos linfonodos em 8 dos 9 casos (tabela 5), o caso restante não tinha metástases apenas uma massa primária inexcisável com 9 cm de eixo maior. Dois dos 8 cães, além da cirurgia receberam quimioterapia previamente à RT, com carboplatina. Um completou quatro ciclos com 300mg/m² (caso 2, tabela 5) e o outro 3 fez meses de quimioterapia metronómica (como parte de um ensaio clínico – protocolo não era

conhecido) (caso 3, tabela 5). Durante o protocolo radioterapêutico nenhum quimioterápico foi administrado. Na história clínica, 2 destes cães, já tinham realizado uma saculectomia contralateral, um devido a infecções crônicas e outro por um ASAC.

Radioterapia

A cirurgia foi a modalidade terapêutica inicial em 8 dos 9 casos (tabela 5). O intervalo de tempo entre a cirurgia e a RT foi de 40 dias para o grupo 1 e esta informação não foi possível obter para o grupo 2.

Todos os cães foram submetidos a TAC após a cirurgia para calcular as dimensões da massa primária e secundária (Figura 3) (tabela 5) e para obter imagens para o planejamento da RT. O planejamento para os dois protocolos foi elaborado no mesmo programa e pelo mesmo operador (Figura 4 e 5). O alvo terapêutico da RT foram os linfonodos iliosacrais metastizados em 8 cães e 1 caso foi irradiado na massa primária. No início da RT, o diâmetro médio dos linfonodos metastáticos era de 5.6 cm para o grupo 1 e 1.35 cm no grupo 2 (tabela 4).

Os animais do grupo 1 ficavam uma noite hospitalizados entre os dias consecutivos de tratamento e o grupo 2 de segunda a sexta-feira, indo para casa nos fins de semana até perfazer as 16 frações. Havia três semanas de intervalo entre cada ciclo de tratamento para o grupo 1.

Para o tratamento, toda a amostra foi anestesiada com um protocolo anestésico incluindo butorfanol (Torbutrol®, Zoetis), isoflurano (VetFlurano®, Virbac) e propofol (PropoFlo®, Zoetis). Toda a população completou o protocolo de RT que tinha sido proposto. O grupo 1 foi submetido, no total, a 12 frações de 4 Gy e o grupo 2 a 16 frações de 3Gy. A duração média do tratamento radioterapêutico foi de 45.20 dias (95% IC, 41.87-48.53) para o grupo 1 e 21 dias para o grupo 2.

Os casos do grupo 1 com sinais clínicos de constipação e tenesmos, demoraram 26 e 31 dias (após o início do tratamento) a eliminarem fezes com normalidade, mas começaram a passar fezes 3 dias após o primeiro ciclo de QUAD-shot. Dois casos do grupo 2 foram diagnosticados por apresentarem desconforto na região perianal e evidência da massa, o que se resolveu após a cirurgia.



Figura 3: Corte transversal do abdômen caudal do caso 3, obtido por TAC. O tracejado vermelho delimita a doença metastática e o alvo terapêutico. As setas pretas apontam para o cólon que foi desviado ventralmente pelo linfonodo, além de que está comprimido, o que justifica os sinais clínicos de tenesmus e constipação.

Compatível com o estadió 3a, segundo a classificação alternativa de Polton e Brearley, 2007.

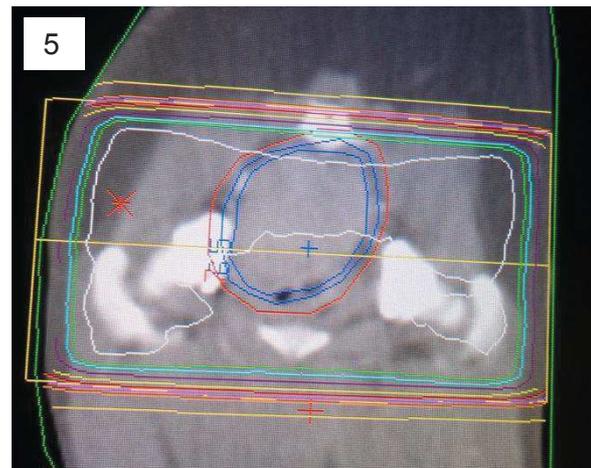
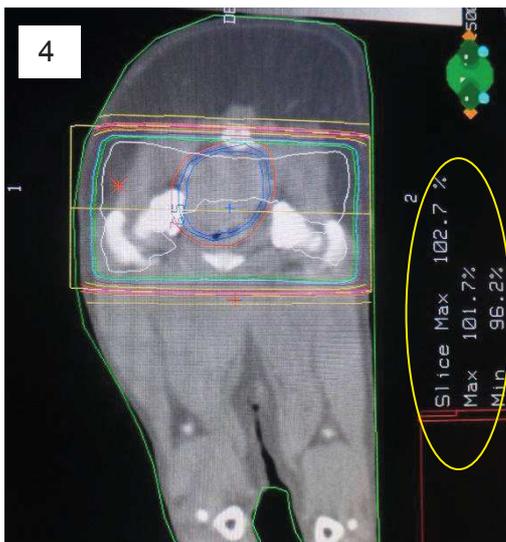


Figura 4 e 5: o rectângulo amarelo marca toda a zona a ser irradiada.

Figura 4: Aspecto do alvo terapêutico da RT após o planeamento, em corte transversal do caso 3. Repare-se que no interior da elipse amarela é possível ler a temperatura máxima a ser distribuída de 102.7% e mínima de 96.2%. O objectivo da distribuição da temperatura é ser <97% nos tecidos sãos e >100% na doença neoplásica.

Figura 5: Aproximação da figura 4. Do centro para o exterior da imagem, observa-se: 1ª circunferência azul o GTV; 2ª circunferência azul o CTV e a 3ª circunferência mas a vermelho o TV. Cada um dos delineamentos seguintes representam a temperatura a ser distribuída na zona circunscrita. A linha branca acomete uma temperatura superior a 100%; a verde >97%; a azul celeste >95%; a roxa >90%; a amarela >80%; e a vermelha >70%.

Seguimento clínico

O tempo médio de seguimento foi de 314.11 dias para os dois grupos (tabela 6), e de 493.7 e 89.75 dias, para o grupo 1 e 2, respectivamente (tabela 7). O tempo de seguimento para o grupo do QUAD-shot foi significativamente maior.

Tabela 6: Dados obtidos com o teste Shapiro-wilk, sobre o tempo entre diagnóstico e seguimento

	Casos	Média (IC 95%)	Mediana (min-máx)	p-value
Tempo entre dgx e seg.	9	314.11 (73.92-554.3)	210 (45-948)	0.73

Dois semanas após o término do protocolo de RT ocorreu a primeira consulta de seguimento para o grupo 2 e um mês para o grupo 1. Nesta e nas consultas seguintes intervaladas por um mês, a resposta terapêutica foi avaliada com base na anamnese, exame físico e ecografia abdominal. Uma vez que o diâmetro inicial foi medido com TAC e nas consultas de seguimento utilizou-se a ecografia abdominal, as medidas iniciais e finais não puderam ser comparadas. No entanto, verificou-se que, no grupo 1, 60% dos casos apresentou RP e 40% DE aproximadamente 38.4 dias após o término da RT (tabela 8). No grupo 2, ocorreram 75% RC e 25% RP, sendo que a resposta terapêutica foi avaliada mais cedo para este grupo, que foi cerca de 28.9 dias após o término da RT (aquando da primeira consulta de acompanhamento) (tabela 8).

Tabela 7: Dados obtidos com o teste Shapiro-wilk, sobre o tempo entre diagnóstico e seguimento para cada grupo e com o teste-T a comparação do mesmo.

	Grupo 1		Grupo 2		Total	
	Casos	Média	Casos	Média	p-value	Diferença média
Tempo entre dgx e seg.	5	493.7	4	89.75	0.043	403.85

Como foi supramencionado, o tempo de seguimento dos animais foi inferior para o grupo 2, sendo que a maioria dos casos realizou o acompanhamento no veterinário de primeira opinião. Já no grupo 1, os casos foram revistos uma vez por mês durante 3 meses e a partir daí o intervalo aumentou para três meses até ser detetada DP.

Após o tratamento, e de acordo com o esquema de avaliação de morbidade aguda induzida por radiação, todos os cães obtiveram o nível 1 de efeitos secundários agudos na pele, ou seja em eritema, descamação e alopecia (Figura 6). Para controlo dos efeitos agudos

foi prescrito para casa Flamazine creme 1% 250G (Smith & Nephew Pharmaceuticals) e meloxicam (Metacam®, Boehringer Ingelheim).

Tabela 8: Datas de avaliação da resposta terapêutica e a respectiva resposta, bem como a duração da mesma.

Caso	Primeira avaliação da resposta à RT		Última avaliação da resposta à RT		Morte/Eutanásia	Duração da resposta (dias) ¹
	Data	Resposta	Data	Resposta	Data	
1	03/05/2015	RP	29/09/2016	DE	29/09/2016*	338
2	07/08/2015	RP	22/04/2016	DP	05/09/2016**	428
3	22/08/2016	DE	29/12/2016	DP	vivo	93
4	18/07/2016	DE	20/10/2016	DP	20/10/2016**	92
5	26/01/2016	RP	21/12/2016	DP	vivo	116
6	25/10/2016	RC	17/11/2016	RC	***	***
7	18/08/2015	RC	18/08/2015	RC	***	***
8	18/06/2015	RP	04/12/2015	RP	***	***
9	12/03/2015	RC	12/03/2015	RC	***	***

Legenda: RP: remissão parcial; DE: doença estável; RC: remissão completa.

¹ A duração da resposta terapêutica foi considerada desde o aparecimento de sinais clínicos de ASAC ou aumento de doença mensurável.

*O caso 1 foi eutanasiado por causas extra-ASAC

** Apresentaram-se na última consulta com sinais clínicos provocados pelo ASAC. O caso 2 foi eutanasiado no VRCC. O caso 4 foi medicado com lactulose durante uma semana, ao fim da qual foi eutanasiado no veterinário de primeira opinião. Foi considerado DP devido aos sinais clínicos (tenesmos, dificuldade de locomoção, PU/PD e fraqueza dos membros posteriores), no entanto não havia evidência de doença progressiva, ou seja, aumento mensurável de doença.

***Estes dados não foram obtidos pois os casos foram acompanhados depois pelo médico veterinário de primeira opinião imediatamente após a avaliação dada a resposta terapêutica.



Figura 6: Vista lateral esquerda, um mês após o término do QUAD-shot. Observa-se alopecia e pouco eritema, correspondendo a nível 1 de morbilidade aguda induzida por radiação.

No grupo 1, 4/5 desenvolveram DP com um TTP de 213.40 dias (95% IC, 16.78-410.01). Aquando do diagnóstico de DP, dois proprietários optaram por fazer maneio médico

e dois decidiram optar por tratamento com inibidores de tirosina cinase (ITC), nomeadamente Palladia®. Na altura da análise dos dados, três tinham sido eutanasiados, dois devido a DP (176 e 477 dias após o fim da RT (caso 2 e 4, tabela 8)); um continuava a fazer tratamento com ITC e apresentava DE (132 dias após RT (caso 3, tabela 8)); e outro estava a fazer lactulose e apresentava DP (320 dias após RT (caso 5, tabela 8)). Devido ao curto período de seguimento, estes dados não foram obtidos para o grupo 2, impossibilitando a comparação dos protocolos de RT em termos de tempo de sobrevivência.

V. Discussão

O tratamento de eleição dos ASAC, ou seja aquele que está associado a um prognóstico mais favorável, é a saculectomia (Williams *et al.*, 2003). Contudo, devido à sua localização, e sobretudo na presença de uma neoplasia de grandes dimensões o procedimento cirúrgico pode ter várias complicações (tais como incontinência fecal, fistulação e estriatura) e a excisão completa não ser alcançada (Aronson, 2012). Na presença de doença metastática nos linfonodos regionais, também deve ser realizado linfadenectomia para aumentar a esperança de vida do doente. Porém, se os linfonodos estiverem aderidos às estruturas adjacentes (por exemplo, artéria aorta ou ilíacas), apenas cirurgias citorreduzidoras são possíveis (Aronson, 2012).

Tal como sucedeu neste estudo, cães com massas primárias de grande dimensões não sofreram extirpação cirúrgica completa, pelo que houve a necessidade de recorrer a modalidades terapêuticas adjuvantes à cirurgia, nomeadamente a RT e quimioterapia. Como o papel da RT paliativa não está ainda esclarecido para estes casos, o objetivo do estudo foi averiguar em que estadio clínico é indicado usar o protocolo QUAD-shot e qual a resposta dos animais a este tratamento.

Tendo em conta o número reduzido de casos, não foi possível detetar uma predisposição de género ou raça para esta doença. No entanto, verificou-se que todos os cães eram esterilizados, o que apoia uma maior incidência da doença em animais castrados tal como descrito anteriormente (Goldschmidt & Shofer, 2005; Polton *et al.*, 2006). Ainda, na população estudada, 3 cães eram Cocker Spaniel Inglês e, embora não se possam retirar conclusões, vai de acordo com as raças consideradas mais propensas (Goldschmidt & Shofer, 2005; Polton *et al.*, 2006).

A média da idade aquando do diagnóstico foi de 9.5 anos, o que está de acordo com os dados mencionados na literatura, que variam entre 9-11 anos (Bennett *et al.*, 2002; Williams *et al.*, 2003; Turek *et al.*, 2003; Goldschmidt & Shofer, 2005; McQuown *et al.*, 2016). Neste estudo, o cão mais novo tinha 6.5 anos o que é semelhante a outras idades mínimas reportadas (Emms, 2005; Wouda *et al.*, 2012; McQuown *et al.*, 2016).

O peso da população foi em média de 23.99kg, sendo este resultado idêntico ao de outros estudos, que obtiveram uma variação de pesos entre 25-26,1 kg (Williams *et al.*, 2003; Turek *et al.*, 2003; McQuown *et al.*, 2016). Williams *et al.* (2003) descreveu que a idade e peso não influenciam significativamente a sobrevivência dos doentes. Contudo, no presente estudo, verificou-se uma tendência (embora não significativa possivelmente devido ao

reduzido tamanho da amostra) para que os animais do grupo 1, ou seja com doença neoplásica de maiores dimensões, tivessem pesos superiores aos do grupo 2, com uma diferença de média de 12.71 kg, o que sugere a possibilidade de os animais de maior porte terem um prognóstico mais reservado.

Na apresentação, o sinal clínico mais comum dos ASAC na amostra estudada foi desconforto na região perianal (44%), sendo letargia menos frequente (11%). A massa primária foi encontrada pelo veterinário ou pelo proprietário, sem estar associado a sintomatologia em 44.44% dos doentes, sendo estes casos designados de ASAC ocultos e apresentam uma incidência reportada de 7-13% (Bennett *et al.*, 2002; Turek *et al.*, 2003). Estes dados em conjunto com a informação supramencionada, sugerem que poderá ser importante incluir a palpação rectal no check-up de todos os cães a partir dos 6 anos de idade com o intuito de descartar ASAC. A manifestação de sinais clínicos pode ser causada pela doença metastática nos linfonodos iliosacrais (tal como tenesmo e constipação por compressão intestinal), tal como verificado em alguns doentes deste estudo, e não pela massa primária, que em alguns casos é ainda de pequenas dimensões mas já está metastizada (Emms, 2005)

O estadiamento clínico dos animais deste estudo foi realizado de forma precisa através de TAC toraco-abdominal, tal com indicado na literatura (Pollard *et al.*, 2015). Anderson *et al.* (2013) e Pollard *et al.* (2015), respectivamente, descrevem que a RM e TAC são mais sensíveis na deteção (e na medição) dos linfonodos do abdómen caudal, especialmente os sacrais, quando comparado com ecografia abdominal. Com a TAC verificou-se que a maioria da população (88.8%) já tinha doença metastática nos linfonodos regionais, estando 6 no estadio 3a e 2 no 3b (segundo os critérios de Polton e Brearley, 2007). Apenas 1 animal apresentava estadio 2.

A população neste estudo foi composta apenas por casos com ASAC unilateral; contudo um animal já tinha história de ter sido intervencionado 2 anos antes para remoção do saco anal contralateral. Com efeito, está documentada a possibilidade de ocorrer apresentação bilateral da doença, sendo que diversos autores descrevem que o ASAC contralateral pode ocorrer entre 1 a 13 meses após o diagnóstico do primeiro (Goldschmidt & Zoltowski, 1981; Emms, 2006; Bowlt *et al.*, 2013).

Foi confirmada hipercalcemia em três cães mas apenas dois manifestaram PU/PD. Esta ocorrência não é rara (Bennett *et al.*, 2002; Williams *et al.*, 2003). O cálcio ionizado foi medido antes de cada tratamento pois, no caso de ocorrer hipercalcemia, eram administradas

infusões de pamidronato tal como descrito na literatura (McQuown *et al.*, 2016). O tratamento para hipercalcemia paraneoplásica passa por tratar a causa subjacente (Henry, 2010) mas, até este controlo ser atingido, a normocalcémia deve ser conseguida com maneio médico. O uso de bifosfonatos na medicina veterinária está documentada para o maneio da hipercalcemia causada por intoxicações com cloranfenicol, OSA e hipercalcemia maligna (Hostutler *et al.*, 2005). O pamidronato diminui os níveis de cálcio por se ligar aos cristais de hidroxiapatita no osso e inibir a reabsorção óssea; também interrompe a atividade osteoclástica e induz a apoptose dos mesmos (Hostutler *et al.*, 2005; DeClementi, 2011), sem inibir a mineralização (Fan *et al.*, 2005). Pondera-se que também possa ter um efeito sobre as células tumorais, nomeadamente indução de apoptose, inibição da angiogénese e estimulação de imunitárias (Milner *et al.*, 2004). Existem outras abordagens à hipercalcemia como a combinação de corticosteroides com calcitonina e diuréticos (Henry, 2010; DeClementi, 2011), mas a sua eficácia é considerada inferior quando comparada com a do pamidronato (DeClementi, 2011). O pamidronato é melhor por só necessitar de uma dose para ter efeito (Hostutler *et al.*, 2005). Em contrapartida, a calcitonina requer várias doses diárias, durante dias, e ao fim de 10 dias alguns pacientes tornam-se refratários (DeClementi, 2011). Os efeitos adversos conhecidos ao pamidronato em cães, são: reações de hipersensibilidade, distúrbios de eletrólitos (hipomagnesémia e hipocalcemia), arritmias e nefrotoxicidade. Contudo, estes efeitos são evitados através da diluição de pamidronato em fluidos e uma administração IV lenta de 4 horas, com doses entre 1.05 to 2.0 mg/kg (Milner *et al.*, 2004; Hostutler *et al.*, 2005), tal como foi realizado nos casos deste estudo, não se tendo observado efeitos secundários em nenhum cão.

A cirurgia foi a modalidade terapêutica inicial em 88.88% dos cães, mas o procedimento não foi realizado no VRCC em todos, pelo que as dimensões de massas primárias não foram obtidas nestes casos. Apenas para 3 dos 5 casos do grupo 1 foi possível recolher esta informação e, com exceção do caso irradiado na massa primária, a dimensão variou entre 2-3.2 cm. De modo geral, não houve complicações pós-cirúrgicas como infeções e seromas, pelo que a RT pôde ser iniciada no grupo QUAD-shot 43.50 dias em média após a cirurgia. Para os casos do grupo 2, este intervalo não foi obtido dado que a maioria do grupo não realizou o procedimento cirúrgico no VRCC.

Para toda a amostra, o planeamento da RT foi realizado com um programa 3D (no computador) para a leitura do LINAC. O planeamento não manual é considerado melhor por permitir uma temperatura máxima inferior e uma distribuição de radiação mais uniforme e

precisa no alvo (Keyerleber *et al.*, 2011). No estudo de Turek *et al.* (2003) o planejamento foi elaborado manualmente e a amostra sofreu mais efeitos adversos quando comparado com o presente estudo e com o de McQuown *et al.* (2016). Além disso, foi utilizada uma fonte de radiação de cobalto, e não um acelerador linear, pelo que este fator também pode ter influenciado esses resultados (Turek *et al.*, 2003).

Não há um protocolo anestésico específico definido na literatura para os tratamentos de RT. Neste estudo, os pacientes foram todos anestesiados com o mesmo protocolo sem complicações. Erfourth *et al.* (2012) verificou que é seguro usar regularmente o propofol para induzir cães em tratamento de RT.

A escolha do protocolo de RT a seguir foi influenciada pela dimensão da doença neoplásica, tendo-se selecionado o protocolo QUAD shot para tratar cães com massas neoplásicas de maiores dimensões. No grupo do QUAD-shot foram incluídos cães do estadió 2, 3a e 3b e, no grupo 2 apenas do 3a. Todos os cães completaram o protocolo de RT que lhes foi atribuído, perfazendo um total de 48Gy. O QUAD-shot demorou em média 45.20 dias e o definitivo 21 dias. A ausência de interrupções nos dois protocolos e a semelhança na duração dentro de cada grupo corrobora que não houve efeitos secundários significativos em nenhum dos grupos, sendo ambos bem tolerados durante todo o tempo de tratamento. Em termos de resposta ao tratamento, verificou-se que os cães do grupo 1, que apresentavam constipação e tenesmo, começaram a defecar cerca de 3 dias após o primeiro ciclo de RT e demoraram 26 e 31 dias (após o início do tratamento) a eliminarem fezes com normalidade. A hipercalcemia demorou 42, 65 e 58 dias a normalizar, após o início de RT com o QUAD-shot, mas os cães deixaram de estar PU/PD antes de a normocalcemia ser atingida. Deste modo, a RT revelou ser eficaz no controlo dos sinais clínicos e melhorou a qualidade de vida dos doentes.

Os dois protocolos de RT foram comparados relativamente à resposta terapêutica e quanto à presença de efeitos adversos agudos. Sessenta por cento dos cães tratados com QUAD-shot entrou em RP e 40% alcançou doença estável. Já no grupo tratado com o protocolo definitivo, a RC foi conseguida em 75% dos doentes e RP em 25%. As respostas terapêuticas com maior sucesso ocorreram no grupo 2. No entanto, importa salientar que a quantidade de doença neoplásica a tratar era significativamente superior no grupo 1 ($p=0.012$, diferença média de 4.25cm), o que não permite fazer uma comparação direta dos protocolos em termos de eficácia entre si. Além de mais, o protocolo definitivo tem intuito curativo e o QUAD-shot paliativo.

No grupo 1, 80% dos cães apresentaram doença progressiva com um TTP médio de 213.40 dias. Na literatura, está descrito TTP da doença em animais tratados com RT de 287 (Turek *et al.*, 2003) e 289 dias (McQuown *et al.*, 2016). A diferença nos TTP do grupo 1 em relação aos estudos supramencionados, pode dever-se há presença de doença avançada em todos os casos deste estudo e há heterogeneidade de estádios clínicos e tratamentos dos reportados na bibliografia (Turek *et al.*, 2003; McQuown *et al.*, 2016) (Anexo D). Embora algumas publicações descartem a linfadenomegália como influente no prognóstico (Williams *et al.*, 2003; Emms, 2005), o estudo de Polton & Brearley (2007) verificou que a influência era significativa.

No grupo 1, na altura de abordar a DP, dois proprietários optaram por manejo médico e outros dois por Palladia. No momento de análise de dados, os 2 casos (caso 2 e 4) que optaram por manejo médico tinham sido eutanasiados. Estes, na última consulta de seguimento, apresentaram tenesmo, dificuldade de locomoção, PU/PD e fraqueza nos membros posteriores mas sem doença progressiva mensurável. Não obstante, a morte destes casos foi considerada estar relacionada com ASAC, e aconteceu 176 e 477 dias após o término da RT. Ponderou-se que a apresentação do caso 4, pudesse ser devido a alterações anatómicas provocadas pela neoplasia. O caso sem DP também foi eutanasiado (547 dias após o término da RT) mas devido a um CCE nos dígitos de um membro torácico. Dos dois casos que se encontravam vivos na altura de análise de dados, um continuava com DE e medicado com Palladia (132 dias após o término de RT). O segundo caso manteve DE durante 225 dias com Palladia, e quando foi detetada novamente DP iniciou lactulose. O Palladia aparenta ser um bom manejo paliativo em caso de DP, estando descritas RP em 25% dos doentes com uma duração média de 22 semanas e DE em 62.5% durável em média por 30.5 semanas (London *et al.*, 2013). O sucesso ou prolongamento de vida apenas com manejo médico não é conhecido. Assim, quando não há mais opções terapêuticas ou os proprietários elegem suspender outras modalidades o Palladia aparenta ser uma abordagem paliativa válida por ser benéfico para o animal, cómodo para o proprietário (por ser tomado em casa) e tem um bom resultado paliativo.

As reações agudas foram analisadas e, segundo a classificação do VRTOG dos efeitos adversos cutâneos da RT, verificou-se que foram apenas de nível 1, o que é espectável tendo em conta a área irradiada (Arthur *et al.*, 2008). Dois casos do grupo 1 e dois do grupo 2 tiveram episódios de diarreia aguda durante o tratamento, mas não foi possível excluir diarreia induzida por outras causas. Com efeito, a escassez de efeitos secundários com o protocolo

QUAD shot pode ser devido ao longo intervalo de tempo entre cada ciclo de tratamento permitindo ao epitélio normal repopular (Corry *et al.*, 2005). No grupo 2, devido à ausência de seguimento, não foi possível avaliar os efeitos adversos em toda a amostra. No entanto, Turek *et al.* (2003) reportou, como efeitos agudos da RT definitiva em ASAC, descamação húmida, ulceração e colite aguda. Nenhum dos grupos foi avaliado relativamente a efeitos tardios. No entanto, embora estes sejam menos frequentes do que os agudos (Anderson *et al.*, 2002), foram descritos em 35% de uma amostra de cães com ASAC tratados com protocolos definitivos (dose total entre 48-57 Gy), e consistiram em fístula perianal, colite crónica ou estreitura de órgãos tubulares na região (Arthur *et al.*, 2008).

Neste estudo, a escolha do protocolo de RT a seguir foi influenciada pela dimensão da doença neoplásica. O grupo do QUAD shot tinha massas neoplásicas significativamente maiores. Não obstante, aplicando à população o esquema de estadiamento alternativo de Polton & Brearley (2007), este não permitiu diferenciar a abordagem radioterapêutica a seguir. Uma vez que, no grupo do QUAD-shot pertenciam cães do estadio 2, 3a e 3b e no grupo 2 apenas de 3a, não se pode concluir que exista um protocolo de RT indicado para cada estadio. No mesmo estudo (Polton & Brearley, 2007), em estadiamentos 3b, a quimioterapia com carboplatina aparentou ser benéfica mas não utilizada em nenhum caso neste estudo após RT. No entanto, o TMS de 294 dias para os 3b (Polton & Brearley, 2007) foi inferior ao tempo de sobrevivência dos 2 casos neste estadio do grupo 1 (338 e 428 dias). As principais limitações deste estudo foram o facto de ser retrospectivo, o que impossibilitou a colheita completa dados sobretudo relativamente ao seguimento dos animais, e o facto de a amostra ser muito reduzida. Com efeito, o tempo de acompanhamento dos animais do grupo 2 foi muito reduzido devido ao facto de os animais terem de ser reencaminhados de volta para o veterinário que os referenciou logo após o término da RT. No entanto, havia o compromisso de, no caso de ocorrer problemas relacionados com o ASAC, o veterinário referenciar de novo o caso para o VRCC, mas na altura da análise dos dados, nenhum caso tinha sido referenciado de volta.

É também importante salientar que o intervalo temporal para seleção de casos foi curto devido à necessidade de garantir a homogeneidade da amostra em termos da equipa médica que avaliou os casos e dos equipamentos utilizados. Outra limitação do estudo foi a ausência da confirmação do diagnóstico definitivo de doença metastática com citologia ou histologia em toda a população, o que teria sido importante dado tratar-se do alvo terapêutico na maioria dos doentes. Destaca-se também a utilização de métodos de diagnóstico

imagiológicos diferentes antes do início da RT e no final, o que impediu a comparação objetiva do tamanho das massas antes e após o tratamento.

VI. Conclusão

O QUAD-shot foi criado para ser um protocolo paliativo de RT (Corry, 2005). A definição de um tratamento paliativo segundo a Organização Mundial de Saúde é “uma abordagem em pacientes com doenças com potencial fatal, que melhora a qualidade de vida dos pacientes e da sua família, através da antecipação e alívio de possível dor”⁶ (World Health Organization, 2017).

O objetivo deste estudo era verificar a eficácia do QUAD-shot em cães com ASAC e analisar se haveria um estadio mais indicado para a aplicação deste protocolo. Sendo um estudo retrospectivo não foi possível uniformizar a amostra quanto aos estadios clínicos pelo que não se pode tirar conclusões relativamente a este objetivo. Não obstante, verificou-se que o QUAD-shot foi aplicado em cães com doença neoplásica significativamente mais avançada do que o protocolo definitivo, tendo-se verificando-se resposta parcial em 3/5 dos doentes, bem como uma boa tolerância ao tratamento. Desta forma, concluiu-se que o QUAD-shot aparenta ser um protocolo paliativo válido para melhorar a qualidade de vida em casos avançados de ASAC.

No futuro, será necessário desenvolver estudos prospetivos randomizados e com uma amostra de maiores dimensões de forma a avaliar o papel de cada protocolo de RT tendo em conta o estadio clínico. Também seria proveitoso realizar uma metanálise dos casos já publicados para averiguar se efetivamente há uma relação direta entre a esterilização e o desenvolvimento de ASAC bem como a influência do porte do animal no prognóstico desta doença.

⁶ Acedido em: <http://www.who.int/cancer/palliative/definition/en/>.

VII. Referências Bibliográficas

- Aldridge, D.R., & Radford, I.R. (1998). Explaining Differences in Sensitivity to Killing by Ionizing Radiation between Human Lymphoid Cell Lines. *Cancer res*, 58(13),2817-2824.
- Anderson, C.L., MacKay, C.S., Roberts, G.D., & Fidel, J. (2013). Comparison of abdominal ultrasound and magnetic resonance imaging for detection of abdominal lymphadenopathy in dogs with metastatic apocrine gland adenocarcinoma of the anal sac. *Vet Comp Oncol.*, 13(2),98–105.
- Anderson, C.R., McNeil, E.A., Gillette, E.L., Powers, B.E. & LaRue, S.M. (2002). Late complication of pelvic radiation in 16 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, 43(2),187-192.
- Argyle, J.D., Brearley, M.J., Turek, M.M., & Roberts, L. (2008). Cancer Treatment Modalities. Em: Argyle, J.D., Brearler, J.M., & Turek M.M., (Eds), Decision Making in Small Animal Oncology (1ªEd.,77-92). Wiley-Blackwell.
- Argyle, J.D., & Saba, C. (2008). Gastrointestinal tumours. Em: Argyle, J.D., Brearler, J.M., & Turek M.M., (Eds), Decision Making in Small Animal Oncology (1ªEd.,232-234). Wiley-Blackwell.
- Aronson, L.R. (2012) Rectum, Anus and Perineum. Em: Tobias, M.K., & Johnston, S.A. (Eds), Veterinary Surgery Small Animal, (1544-1584). Elsevier, Saunders.
- Arthur, J.J., Kleiter, M.M., Thrall, D.E., & Pruitt, A.F. (2007). Characterization of normal tissue complications in 51 dogs undergoing definitive pelvic region irradiation. *Vet Radiol Ultrasound*, 49(1),85-89.
- Axlund, T.W., McGlasson, M.L., & Smith, A.N. (2002). Surgery alone or in combination with radiation therapy for treatment of intracranial meningiomas in dogs: 31 cases (1989-2002). *J Am Vet Med Assoc*, 221(11),1597-600.
- Balagamwala, E. H., Chao, A.B., & Suh, M.D. (2012). Principles of Radiobiology of Stereotactic Radiosurgery and Clinical Applications in the Central Nervous System. *Technol Cancer Res Treat*, 11(1),3-13.
- Barnett, G.C., West, C.M., Dunning, A.M., Elliott, R.M., Coles, C.E., Pharoah, P.D., et al. (2009). Normal tissue reactions to radiotherapy: towards tailoring treatment dose by genotype. *Nat Rev Cancer*, 9(2),134–142.

- Bennett, P.F., DeNicola, D.B., Bonney, P., Glickman, N.W., & Knapp, D.W. (2002). Canine Anal Sac Adenocarcinomas: Clinical Presentation and Response to Therapy. *J Vet Intern Med* (16),100-104.
- Bentzen, S.M., Rudat, V., Brizel, D., Lartigau, E., Stadler, P., Becker, A., Adam, M., et al. (2005). Prognostic value of tumor oxygenation in 397 head and neck tumors after primary radiation therapy. *Radiother Oncol*, 77(1),18-24.
- Bergmann, P.J. (2012). Paraneoplastic Hypercalcemia. *Topics in Companion Animal Medicine*, 27(4),156-158.
- Berrocal, A., Vos, J.H., Ingh, T.S., Molenbeek, R.F., & Sluijs, F.J. (1989). Canine Perianal Tumours. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 36(10),739-749.
- Beyzadeoglu, M., Ozyigit, G., & Ebruli, C. (2010). Radiobiology. Em: Beyzadeoglu, M., Ozyigit, G., & Ebruli, C. (Eds.) Basic Radiation Oncology (1^a Ed, 71-144). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Biade, S., Stobbe, C.C., & Chapman, J.D. (1997). The Intrinsic Radiosensitivity of Some Human Tumor Cells Throughout Their Cell Cycles. *Radiat Res*, 147(4),416-421.
- Biller, B., Berg, J., Garrett, L., Ruslander, D., Wearing, R., Abbott, B., Patel, M., Smith, D & Bryan, C. (2016). AAHA Oncology Guidelines for Dogs and Cats. *J Am Vet Med Assoc*, 52 (4),181–204.
- Bley, C.R., Sumova, A., Roos, M., & Kaser-Hotz, B. (2005). Irradiation of brain tumors in dogs with neurologic disease. *J Vet Intern Med*, 19 (6), 849-54
- Bloomfield, R. (2015). Stereostatic Radiation Therapy in Veterinary Medicine. *Can Vet J*, 56(1), 95-97.
- Brearley, M.J., Hayes,A.M. & Murphy, S., (1999). Hypofractionated radiation therapy for invasive thyroid carcinoma in dogs: a retrospective analysis of survival. *J Small Anim Pract*, 40(5),206-210.
- Brenner, D.J. (2008). Point: The linear-quadratic model is an appropriate methodology for determining iso-effective doses at large doses per fraction. *Semin Radiat Oncol*, 18(4), 234-239.
- Brown, J., Carlson, D.J., & Brenner, D.J. (2014). The Tumor Radiobiology of SRS and SBRT: Are More than the 5 R's Involved. *J Radiat Oncol Biol Phys*, 88(2),254–262.
- Brown, J.M., & Graves, E.E., (2014). Tumor Radiation Biology. In: Brahme, A.(Ed.). Comprehensive Biomedical Physics (1^a Ed., 98-119). Elsevier

- Burman, C., Kijtcher, G.J., Emami,B., Goitien, M. (1991). Fitting of Normal Tissue Tolerance Data to an Analytic Function. *J Radiat Oncol Biol Phys* 21 (1), 123-135.
- Cancedda, S., Marconato, L., Meier, V., Laganga, P., Roos, M., Leone, V., Rossi, F., & Bley, C. (2016). Hypofractionated Radiotherapy for Macroscopic Canine Soft Tissue Sarcoma: A retrospective Study of 50 cases treated with a 5x6 Gy Protocol with or without metronomic Chemotherapy. *Vet Radiol Ultrasound*, 57 (1),75-83.
- Cancedda, S., Sabattini, S., Bettini, G., Leone, V.F., Laganga, P., Rossi, F., Terragni, R., Gnudi, G., & Vignoli, M.(2015). Combination of Radiationtherapy and firocoxib for the treatment of canine nasal carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound*, 56(6),1–9.
- Carmichael, D.T., & Bergman, P.J. (2003). Feline Oral Neoplasia. Apresentado em Recent Advances in Small Animal Dentistry, New York, United States America.
- Corry, J., Peteers, L.J., Costa, I., Milner, A.D., Fawns, H., Rischin, D. E Porceddu, S. (2005). The Quad shot – a phase II study of palliative radiotherapy for incurable head and neck cancer. *Radiother Oncol*, 77(2),137-142.
- Couto, C.G. (2007). Skin Tumors. Apresentado em 56° Congresso Internazionale Multisala SCIVAC, Itália.
- Dale, R. (2004). Use of the Linear-Quadratic Radiobiological Model for Quantifying Kidney Response in Targeted Radiotherapy. *Cancer Biother Radiopharm* 19, 363-370.
- DeClementi, C. (2011). Antidotal therapies: Prevention and treatment of poisoning. In: Gupta, R.C. (Eds.), *Veterinary Toxicology basic and clinical principles* (2ª Ed., 1155-1156). Academic Press, Elsevier.
- Demetriou, J.L., Brearley, M.J., Constantino-Casas, F., Addington, C., & Dobson, J. (2012). Intentional marginal excision of canine limb soft tissue sarcomas followed by radiotherapy. *J Small Anim Pract*, 53, 174-181.
- Dizdaroglu, M., & Jaruga, P.(2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA . *Free Radic Res*, 46(4),382-419.
- Dorr, W. & Schmidt, M. (2014). Normal Tissue Radiobiology. In: Brahme, A.(Ed.). *Comprehensive Biomedical Physics*. (1ªEd. 76-92). Elsevier.
- Dorr, W.(2015). Radiobiology of tissue reactions. Apresentado em: ICRP 2013 Proceedings
- Dorr, W., & Hendry, J.,H. (2001). Review article Consequential late effects in normal tissues. *Radiother Oncol*, 61(3),223-231.

- Dunne, A.L., Price, M.E., Mothersill, C., McKeown, S.R., Robson, T., & Hirst, D.G. (2003). Relationship between clonogenic radiosensitivity, radiation-induced apoptosis and DNA damage/repair in human colon cancer cells. *Br J Cancer*, 89(12),2277–2283.
- Durisova, K., Salovska, B., Pejchal, J., & Tichy, A. (2016). Chemical inhibition of DNA repair kinases as a promising tool in oncology. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký*. (160),11-19.
- Emani, B. (2013). Tolerance of Normal Tissue to Therapeutic Radiation. *Reports of Radiotherapy and Oncology*. (N 1,Vol.1).Spring
- Emms, S.G. (2005). Anal sac tumours of the dog and their response to cytoreductive surgery and chemotherapy. *Aust Vet J*, 83(6),340-343.
- Erfourth, T.M., McNiel, E.A., Scott, M.A., & Wilson, D.V. (2012). Use of propofol for induction of anesthesia in dogs undergoing definitive radiation therapy: 31 cases (2006-2009). *J Am Vet Med Assoc.*, 241(7), 898-903
- Fan, T.M., Lorimier, L., Charney, S.C., & Hintermeister, J.G. (2005). Evaluation of Intravenous Pamidronate Administration in 33 Cancer-Bearing Dogs with Primary or Secondary Bone Involvement. *J Vet Intern Med*, 19(1),74–80.
- Farrelly, J., & M.C. McEntee. (2003). Principles and Applications of Radiation Therapy. *Clin Tech Small Anim Pract*, 18(2),82-87.
- Fertil, B., & Malaise, E.P. (1985). Intrinsic Radiosensitivity of Human Cell Lines is Correlated with Radioresponsiveness of Human Tumours: Analysis of 101 published Survival curves. *J Radiat Oncol Biol Phys*, 11(9),1699-1707.
- Fidel, J., Lyons, J., Tripp, C., Houston, R., Wheeler, B., & Ruiz, A. (2011). Treatment of Oral Squamous Cell Carcinoma with Accelerated Radiation Therapy and Concomitant Carboplatin in Cats. *J Vet Intern Med*, 25(3),504–510.
- Fong, W. (2016). Platinum based radiochemotherapies: Free radical mechanisms and radiotherapy sensitizers Clifford . *Free Radic Biol Med*, (99),99–109.
- Forker, L.J., Choudhury, A., & Kiltie, A.E. (2015). Biomarkers of Tumour Radiosensitivity and Predicting Benefit from Radiotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 27(10),1-9.
- Forman, D., Newell, D.G., Fullerton, F., Yarnell, J.W.G., Stacey, A.R., Wald, N. & Sitas, F. (1991). Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ (Clinical research ed)* 302, 1302-1305.

- Fornell, D. (2013). An Introduction to Current Radiation Therapy Treatment Planning Systems. Comparison Chart on Treatment Planning Systems. *Imaging Tecnology Magazine*, July-August.
- Frazier, S.A., Johns, S.M., Ortega, J., Zwingenberger, A.L., Kent, M.S., Hammond, G.M., Rodriguez C.O., et al. (2012). Outcome in dogs with surgically resected oral fibrosarcoma (1997-2008). *Vet Comp Oncology*, 10(1):33-43.
- Fujiwara-Igarashi, A., Fujimori, T., Oka, M., Nishimura, Y., Hamamoto, Y., Kazato, Y., Sawada, H., Yayoshi, N., Hasegawa, D., & Fujita, M. (2014). Evaluation of outcomes and radiation complications in 65 cats with nasal tumours treated with palliative hypofractionated radiotherapy. *The Veterinary Journal* 202,455–461.
- Fujiwara-Igarashi, A., Kobayashi, T., Yayoshi, N., & Fujita, M. (2013). Efficacy of hypofractionated radiotherapy for nasal tumours in 38 dogs (2005–2008). *J Small Anim Pract*, (54), 80-86.
- Gardner, H., Fidel, J., Haldorson, G., Dernell, W., & Wheeler, B. (2013). Canine oral fibrosarcomas :a retrospective analysis of 65 cases (1998–2010). *Vet Comp Oncol.*, Blackwell Publishing Ltd.
- Gary J Schreiber, G.J. & Meyers, A.D. (2016). General Principles of Radiation Therapy: Overview, Biologic Basis, Basic Physics. Acedido em: Medscape, artigo 846797.
- Geroge, R., Smith, A., Schleis, S., Brawner., Almond, G., Kent, M., Wypij, J., Borrego, J., Moore, a., Keyerleber, M., & Kraiza, S., (2016). Outcome of Dogs With intranasal Lymphoma treated with various Radiation and chemotherapy protocols:24 cases. *Vet Radiol Ultrasound*, 57(3):306-12
- Gerweck, L.E., & Wakimoto, H. (2016). At the Crossroadsof Cancer Stem Cells, Radiation Biology, and Radiation Oncology. *Cancer Res*, 76(5):994-8
- Goldschmidt, M.H., & Shofer, F.S. (2005) Anal Sac Gland Tumours. Disponível em: <http://www.oncolink.org/archive/archived-articles/anal-sac-gland-tumors>. Acedido a: 3/5/2017.
- Goldschmidt, M.H., & Zoltowski, C. (1981) Anal sac gland adenocarcinoma in the dog: 14 cases. *J Small Anim Pract*, (22),19-128.
- Gordon, I.K., & Kent, S.M. (2008). Veterinary radiation oncology: technology, imaging, intervention and future applications. *Cancer Therapy*, (6),167-176.

- Green, E.M., Adams, W.M., & Forrest, L.J. (2002). Four fraction palliative radiotherapy for osteosarcoma in 24 dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 38(5):445-51.
- Grotzer, M.A., Schultke, E., Brauer-Krisch, E., & Laissue, J.A.(2015).Microbeam radiation therapy: Clinical perspectives. *Phys Med*, 31(6),564-567.
- Haar, T.G. (2006) T – Nose-Ear-Throat disease of the nose; nasal plane, nasal cavity and frontalsinus. Apresentado em World congress WSAVA/ FECAVA/CSAVA.
- Halnan, C.R.E. (1976). The frequency of occurrence of anal sacculitis in the dog. *J Small Anim Pract*, 17(8),537-541.
- Haney, S.M., Beaver, L., Turrel, J., Clifford, C.A., Klein, M.K., Crawford, S., Poulson, J.M., & Azuma, C. (2009). Survival Analysis of 97 Cats with Nasal Lymphoma: A Multi-Institutional Retrospective Study (1986–2006). *J Vet Intern Med*, 23(2),287-294.
- Harrington, K., Jankowska, P., & Hingorani, M. (2007). Molecular Biology of Radiation Oncologist: the 5Rs of Radiobiology meet the Hallmarks of Cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 19(8),561-571.
- Hendry, J.H.,(2014). Cellular Radiation Biology. In: Brahme, A.(Ed.). *Comprehensive Biomedical Physics*.(p 63-73). Elsevier.
- Henry, J.C. (2010) Paraneoplastic Syndromes. In: Ettinger, S.J. e Feldman, E.C. (Eds.), *Textbook of veterinary Internal Medicine* (7^a Ed., pp. 2213-2214). Saunders, Elsevier.
- Hobson, H.P., Brown, M., R., & Rogers, K.S., (2006). Surgery of Metastatic Anal Sac Adenocarcinoma in Five Dogs. *Vet Surg*, 35(3),267-270.
- Hopewella, J.W., & Trott, R., (2000) Volume effects in radiobiology as applied to radiotherapy. *Radiother Oncol*, (56), 283-288.
- Hostutler, R.A., Chew, J., Jaeger, J.Q., Klein, S., Henderson, D. & DiBartola, S.P. (2005). Uses and Effectiveness of Pamidronate Disodium for Treatment of Dogs and Cats with Hypercalcemia. *J Vet Intern Med*, 19(1),29–33.
- International Atomic Energy Agency. (2008).The Role of PET/CT in Radiation Treatment Planning for Cancer Patient Treatment. IAEA-TECDOC,1603.
- International Atomic Energy Agency. (2013). Roles and Responsibilities, and Education and Training Requirements for Clinically Qualified Medical Physicists. IAEA Human Health Series, n25.

- International Atomic Energy Agency. (2014). Radiotherapy Facilities: Master Planning and Concept Design Considerations. IAEA Human Health Reports, n10.
- Jung, Y., Jeong, E., Park, S., Jeong, J., Choi, U.S., Kim, M.S., Kim, N. & Lee, K. (2016). Diagnostic imaging features of normal anal sacs in dogs and cats. *J Vet Sci*, 17(3), 331-335.
- Kawabe, M., Mori, T., Ito, Y., Murakami, M., Sakai, H., Yanai, T., & Maruo, K. (2015). Outcomes of dogs undergoing radiotherapy for treatment of oral malignant melanoma: 111 cases (2006-2012). *J Am Vet Med Assoc*, 247(10),1146-1153.
- Kehwar, T.S. (2005). Analytical approach to estimate normal tissue complication probability using best fit of normal tissue tolerance doses into the NTCP equation of the linear quadratic model. *J Can Res Ther*, 1(3),168-179.
- Kent, M.S., Bommarito, D., Feldman, E., e Theon, A.P.(2007). Survival, Neurologic Response, and Prognostic Factors in Dogs with Pituitary Masses Treated with Radiation Therapy and Untreated Dogs. *J Vet Intern Med*, 21(5),1027–1033.
- Kessler, M. (2006) Current Therapy for Canine Oral Tumors. Apresentado em North American Veterinary Conference NAVC Proceeding, Ithaca, New York.
- Keyerleber, M.A., Gieger, T.L., Erb, H.N., Thompson, M.S. & McEntee, M.C.(2011). Three-dimensional conformal versus non-graphic radiation treatment planning for apocrine gland adenocarcinoma of the anal sac in 18dogs (2002–2007). *Vet Comp Oncol.*, 10(4), 237-245.
- Khan, F.M. e Gibbons, J.P. (2014). The Physics of Radiation Therapy (5^aEd). Wolters Kluwer
- Kim, S.R., & Kim, E.H. (2013).Effect of acidic environment on the response of endothelial cells to irradiation: Implications for microbeam radiation therapy. *Int J Radiat Biol*, 90(4),325–333.
- Kry, K.L., & Boston, S.E. (2014). Additional local therapy with primary re-excision or radiation therapy improves survival and local control after incomplete or close surgical excision of mast cell tumors in dogs. *Vet Surg*, 43(2),182-9.
- LaRue, S.,M & Gillette, E.,L. (2013). Radiation Therapy. Em: Withrow, S.J., & MacEwen EC. (Eds), Small Animal Clinical Oncology (3^aEd., pp.193-208). Saunders, Elsevier.
- LaRue, S.,M., & Custis, J.,T. (2014). Advances in Veterinary Radiation Therapy Targeting Tumors and Improving Patient Comfort. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, 44(5), 909–923.

- Lattimer, J.,C. & Bommarito, D.,A. (2010).Radiation Therapy.Henry, C., & Higinbotham, M. (Eds) *Cancer in Small animal Practise* (pp. 146-147). Saunders, Elsevier.
- Lauber, K., Munoz, L.E., Berens, C., Jendrossek, V., Belka, C. & Herrmann, M. (2011). Apoptosis induction and tumor cell repopulation: The yin and yang of radiotherapy. *Radiat Oncol.*, 176(6),176.
- Ling,C.C., Gerweck, L.E., Zaider, M., & Yorke, E.(2010). Dose-rate effects in external beam radiotherapy redux. *Radiother Oncol*, 95(3),261-268.
- Llabrés-Díaz, F.,J.,L. (2004). Ultrasonography of the medial iliac lymph nodes in the dog. *Vet Radiol Ultrasound*, 45,156–165.
- Lomax, M.E., Folkes, L.K., & O’Neill, P. (2013). Biological Consequences of Radiation-induced DNA Damage: Relevance to Radiotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol).*, 25(10),578-585.
- London, C., Mathie, T., Stingle, N., Clifford, C., Haney, S., Klein, M.K., et al., (2011). Preliminary Evidence for biologic activity of toracenib phosphate (Palladia®) in solid tumours. *Vet Comp Oncol.*, 10,194-205.
- Loredana, G.M (2015). The first Rs of radiotherapy: or standing on the shoulders of giants. *Acedido em: Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine*, Springer.
- Maeda, J., Froning, C., Brents, C.A., Rose, B,J., Douglas, Thamm, H., & Kato, T. (2016). Intrinsic Radiosensitivity and Cellular Characterization of 27 Canine Cancer Cell Lines. *PLOS one*.
- Marcu, L.G. (2015). The first Rs of radiotherapy: or standing on the shoulders of giants. *Australian Physical and Engineering Science in Medicine*. Springer 2015.
- Mayer, M.N., & MacDonald, V.S. (2007). External beam radiation therapy for thyroid cancer in the dog. *Can Vet J*, 48(7),761–763.
- Mayer, M.N., Greco, D. S., & LaRue, S.M. (2006). Outcomes of Pituitary Tumor Irradiation in Cats. *J Vet Intern Med*, 20(5),1151–1154.
- Mayer, M.N., Candace K., & Grier, C.K. (2006).Palliative radiation therapy for canine osteosarcoma. *Can Vet J*, 47(7),707–709.
- McQuown, B., Keyerleber, M.A., Rosen, K., McEntee, M.C. & Burgess, K.E. (2016). Treatment of advanced canine anal sac adenocarcinoma with hypofractionated radiation therapy: 77 cases (1999-2013). *Vet Comp Oncol*. Acedido em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26991552>. Doi: 10.1111/vco.12226.

- Messinger, J.S., Windham, W.R. & Ward, C.R. (2009). Ionized Hypercalcemia in Dogs: A retrospective study of 109 cases (1998-2003). *J Vet Intern Med*, 23(3),514-519.
- Meuten, D.J., Capen, C.C., Kociba, G.J. & Cooper, B.J. (1982). Hypercalcemia of Malignancy: Hypercalcemia Associated with an Adenocarcinoma Derived from the Apocrine Glands of the Anal Sac. *Vet Pathol*, 108(2),366-370.
- Meuten, D.J., Cooper, B.J., Capen, C.C., Chew, N.J., & Kocib, G.J. (1981) Hypercalcemia associated with an adenocarcinoma derived from the apocrine glands of the anal sac. *Vet Pathol*, 18(4),454–471.
- Milner, R.J., Farese, J., Henry, C.J., Selting, K., Fan, T.M. & Lorimer, L.(2004). Bisphosphonates and Cancer. *J Vet Intern Med*, 18(5), 597–604.
- Murray, D., McBride W.H., & Schwartz, J.L. (2014). A review: Radiation Biology in the Context of Changing Patterns of Radiotherapy. *Radiat Res*, 182,259-272.
- Nieder, C. & Baumann, M. (2016). Fractionation Concepts. Em: Kauczor, H.U., Hricak, H., Brady, L.M., Combs, S.E. e Lu, J.J. (Eds). *Medical Radiology – Diagnostic Imaging*. Springer.
- Nielsen. S.W., & Aftosmis, J. (1964). Canine perianal gland tumors. *J Am Vet Med Assoc*, 144-127.
- North, S., & Banks, T. (2009). *Introduction to Small Animal Oncology* (1stEd). Saunders, Elsvier.
- O'Neill, P. & Wardma, P. (2009). Radiation chemistry comes before radiation biology. *Int J Radiat Biol*, 85(1),9-25.
- Oblak, M.L., Boston, S.E., Higginson, G., Patten, S.G., Monteith, G.J., & Woods, J.P. (2012). The impact of pamidronate and chemotherapy on survival times in dogs with appendicular primary bone tumors treated with palliative radiation therapy. *Veterinary Surgery*, 41(3),430-5.
- Oei,A.L., Vriend, L.M., Crezee, J., Franken, N.A. & Krawczyk, P.M.(2015). Effects of hyperthermia on DNA repair pathways: one treatment to inhibit them all. *Radiation Oncology*, 165(10).
- Ondrej, M., Cechakova, L., Durisova, K., Pejchal, J., & Tichy, A. (2016). To live or let die: Unclear Task of Autophagy in the radiosensitization battle. *Radiother Oncol*, 119(2),265-275.
- Pack, L., Roberts, R.E., Dawson, S.D., & Dookwah, H.D. (2001). Definitive radiation therapy for infiltrative thyroid carcinoma in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, 42(5),471-4

- Pajonk, F., Vlashi,E., & McBride, W.H.(2010). Radiation Resistance of Cancer Stem Cells: The 4 R's of Radiobiology Revisited. *Stem Cells*, 28(4),639-648.
- Poirier, V., V.J., Kaser-Hotz, B., Vail, D.,M., & Straw, R.C. (2013). Efficacy and toxicity of an accelatered hypofractionated radiotherapy protocol in cats with oral squamous cell carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound*, 54(1),81–88.
- Pollard, R.E., Fuller, M.C. & Staffey, M.A. (2015) Ultrasound and computed tomography of the iliosacral lymphatic centre in dogs with anal sac gland carcinoma. *Vet Comp Oncol.*, 1-8.
- Polton, G.A. & Brearley, M.J. (2007). Clinical Stage, Therapy, and Prognosis in Canine Anal Sac Gland Carcinoma. *J Vet Intern Med*, 21(2),274-280.
- Polton, G.A., Mowat,V., Lee, H.C., Mckee, K.A. & Scase, T.J. (2006) Breed, gender and neutering status of British dogs with anal sac gland carcinoma. *Vet Comp Oncol.*, (4),125–13.
- Potanas, C.P., Padgett, S. & Gamblin,R.M. (2015). Surgical excision of anal sac apocrine gland adenocarcinoma with and without adjunctive chemotherapy in dogs: 42 cases (2005-2011). *J Am Vet Med Assoc*, 246(8),87-883.
- Pujol, E. (2014). Nasal and maxillary tumors. Apresentado em Proceedings of the Southern European Veterinary Conference and Congreso Nacional AVEPA, Barcelona, Spain.
- Ramirez, O., Dodge, R.K., Page, R.L., Price, G.S., Hauck, M.L., LaDue, T.A., Nutter, F., & Thrall, D.E. (1999). Palliative radiotherapy of appendicular osteosarcoma in 95 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, 40(5):517-22.
- Rosol, T.J., Capen, C.C., Danks, J.A., Suva, L.J., Steinmeyer, C.L., Hayman, J., Ebeling, P.R., & Mart, T.J. (1990) Identification of Parathyroid Hormone-related Protein in Canine Apocrine Adenocarcinoma of the Anal Sac. *Vet Pathol*, 27(2),89–95.
- Saberi,A., Shahbazi-Gahrouei, D., Abbasian, M., Fesharaki, M., Baharlouei, A & Arab-Bafrani, Z. (2016). Gold nanoparticles in combination with megavoltage radiation energy increased radiosensitization and apoptosis in colon cancer HT-29 cells. *Int J Radiat Biol.*, 93(3):315-323.
- Sabhlok, A., & Ayl, R. (2014). Palliative radiation therapy outcomes for cats with oral squamous cell carcinoma (1999-2005). *Vet Radiol Ultrasound*,55(5),565-70.

- Schaue, D. & McBride, W. H.(2015). Opportunities and challenges of radiotherapy for treating cancer. *Clinical Oncology Advance*, online publication: doi:10.1038/nrclinonc.2015.120
- Schwartz, J.L., Murnane, J. & Weichselbaum, R.R. (1999). The contribution of DNA ploidy to radiation sensitivity in human tumour cell lines. *Br J Cancer*, 79(5-6),744–747.
- Selmic,L.E., Lafferty, M.H., Kamstock, D.A., Garner,A., Ehrhart, N.P., Worley,D.R., Withrow, S.J., & Lana, S.E.(2014).Outcome and prognostic factors for osteosarcoma of the maxilla, mandible, or calvarium in dogs: 183 cases (1986–2012). *J Am Vet Med Assoc*, 245(8), 930–938.
- Seonh, K.M., Kim, C.S., Jeon, H.Y., Oh, SH., Nam, S.Y., Yang, K.H., Kim, J.Y e Jin, W.H. (2010). Intrinsic radiosensitivity correlated with radiation-induced ROS and cell cycle regulation. *Molecules Cellular Toxicology*, (6),1-7.
- Smith, A., Wright, J., Brawner Jr,W.R., LaRue, S.M., Hogge, G.S., Kitchell, B.E., Fineman, L., Hohenhaus, A.E., Burk, R.L., Dhaliwal, R.S., & Duda, L.E. (2001). Radiation Therapy in the Treatment of Canine and Feline Thymomas: A Retrospective Study (1985-1999). *J Am Vet Med Assoc*, 37(5),489–496.
- Sones, E., Smith, A., Schleis, S., Brawner, W., Almond, G., Taylor, K., Haney, S., Wypij, J., Keyerleber, M., Arthur, J., Hamilton, T., Lawrence, J., Gieger, T., Sellon, R., & Wright, Z.(2012). Survival Times for Canine Intranasal Sarcomas Treated with Radiation Therapy: 86 cases (1996-2011). *Vet Radiol Ultrasound*, 54,194-201.
- Spugnini, E.P., Dotsinsky, I., Mudrov, N., Bufalani, M., Giannini, G., Citro, G., Feroce, F., & Baldi, A., (2008). Adjuvant Electrochemotherapy for incompletely Exised Anal Sac Carcinoma in a Dog. *In Vivo*, 22(1),47-9
- Stannard, A.A., e Pulley, L.T. (1978). Skin and soft tissues. Em: Moulton, J.E (Ed), *Tumors in Domestic Animals* (59-60).
- Steel, G.,(2007). Radiobiology of Normal Tissues. Em: Mayles, P.,Nahum, A., e Rosenwald, J.,C. (Eds), *Handbook of Radiotherapy Physics*. Talyor and Francis.
- Suntharaligam, N., Padgorsak, E.B., & Hendry, J.H., (2005). Basic Radiobiology. Em: Padgorsak, E.B. (Ed.), *Radiation Oncology Physics*. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, pp. 485–504
- Tafti, A.K., Khub, A., & Shirian, S., (2012). Pathological and immunohistochemical characteristics of apocrine sweat gland adenocarcinoma in a dog. *Comparitive Clinical Pathology*, (21),237-239.

- Tan-Coleman, B., Lyons, J., Lewis, C., Rosenberg, M., e Ruiz, A. (2012). Prospective evaluation of a 5x4Gy prescription for palliation of canine nasal tumours. *Vet Radiol Ultrasound*, (51), 561-570.
- Théon, A.P., Marks, S.L., Feldman, E.S., e Griffey, S. (2000). Prognostic factors and patterns of treatment failure in dogs with unresectable differentiated thyroid carcinomas treated with megavoltage irradiation. *J Am Vet Med Assoc*, 216(11),1775-9.
- Tollett, M.A., Duda, L., Brown, D.C., & Krick, E.L., (2016). Palliative radiation therapy for solid tumors in dogs: 103 cases (2007-2011). *J Am Vet Med Assoc*, 248(1),72-82.
- Turek, M.M., Forrest, L.J., Adams, W.M., Helfand, S.C. & Vail, D.M. (2003). Postoperative radiotherapy and mitoxantrone for anal sac adenocarcinoma in the dog: 15 cases (1991-2001). *Vet Comp Oncol.*, 1(2),94-104.
- Verstraete, F.(2008). Denistry Management of Oral Tumors in Cats. Apresentado em Proceeding of the SEVC Southern European Veterinary Conference, Barcelona, Espanha.
- Veterinary Radiation Therapy Oncology Group (VROG) radiation morbidity scoring scheme. Disponível em: https://www.acvr.org/sites/default/files/scoring_scheme.pdf.
Data de acesso: 1/5/2016.
- Wardman, P. (2007). Chemical Radiosensitizers for Use in Radiotherapy. *Clinical Oncology*, 19(6),397-417.
- Wardman, P., Rothkamm, K., Folkes, L., Woodcock,M. & Johnston,J.(2007). Radiosensitization by Nitric Oxide at Low Radiation Doses. *Radiat Res* 167,475-484.
- West, C.L., Davidson, S.E., & Roberts, S.A. (1997). The independence of intrinsic radiosensitivity as a prognostic factor for patient response to radiotherapy of carcinoma of the cervix. *Br J Cancer*, (76),1184-1190.
- West, C.L., Davidson, S.E., Elyan, S.G., Swindell, R., Roberts, S.A., Orton, C.J., Coyle, C.A., Wilks, D.P., Hunter, R.D. & Hendry, J.H. (1998).The intrinsic radiosensitivity of normal and tumour cells. *Int J Radiat Biol*, 73,409-413.
- Wheldon, T.E., Michalowski, A.S., & Kirk, J. (1982). The effect of irradiation on function in self-renewing normal tissues with differing proliferative organisation. *BJR Suppl* 55, pp:759 766.
- Williams, L.E., Gliatto, J.M., Dodge, R.K., Johnson, J.L., Gamblin, R.M., Thamm, D.H., Lana, S.E., Szymkowski, M. & Moore, A.S. (2003) Carcinoma of the apocrine

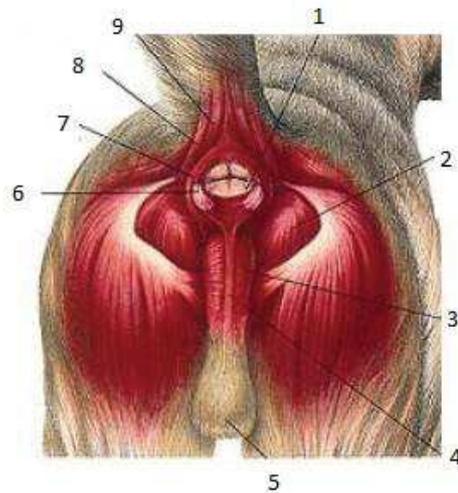
glands of the anal sac in dogs: 113 cases (1985–1995). *J Am Vet Med Assoc*, 223(6),825-831.

World Health Organization (WHO) (2017). WHO Definition of Palliative Care. Acedido em: <http://www.who.int/cancer/palliative/definition/en/> em 5/5/2017.

Wouda, R.M., Borrego, J., Keuler, N.S. & Stein, T. (2013). Evaluation of adjuvant carboplatin chemotherapy in the management of surgically excised anal sac apocrine gland adenocarcinoma in dogs. *Vet Comp Oncol.*, 14(1),67-80

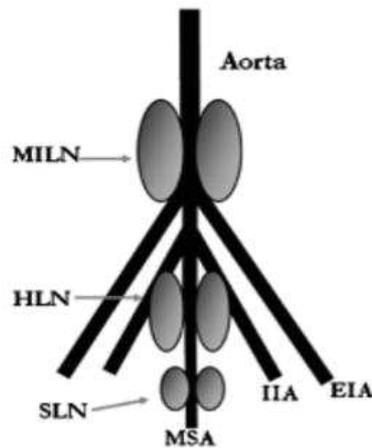
Yoshikawa, H & Mayer, M.N. (2009). External beam radiation therapy for canine intracranial meningioma. *Can Vet J*, 50(1),97–100.

VIII. Anexos



A. Localização dos sacos anais em cães e anatomia regional.

Legenda: 1) Ducto excretor dos sacos anais; 2) Músculo obturador interno; 3) Músculo bulbo-esponjoso; 4) Músculo retrator do pênis; 5) Escroto; 6) Saco anal; 7) Esfíncter anal externo; 8) Músculo coccígeo; 9) Músculo elevador do ânus. (imagem retirada de dog-health-handbook.com/canine-anal-glands.html).



dog-health-handbook.com/canine-anal-glands.html).

B. Diagrama da localização dos linfonodos.

Legenda: Localização dos linfonodos do linfocentro iliosacral em relação à aorta e artérias ilíacas externas (EIA), artérias ilíacas internas (IIA) e artéria sacral mediana (MSA) (Imagem retirada de: Llabrés-Díaz (2004)). MILN: Linfonodos ilíacos mediais; HLN: Linfonodos hipogástricos; SLN: Linfonodos Sacrais.

C. Sistema de estadiamento TNM.

Classificação para tumores com origem epidérmica e dérmica em caninos e felinos, excluindo linfossarcoma e mastocitoma (Organização Mundial de Saúde – Classificação de Tumores em Animais Domésticos).

Tamanho Massa Primária	Tis	Carcinoma pré-invasivo.	
	T0	Sem evidência de tumor.	
	T1	Tumor < 2cm diâmetro máximo, superficial ou exofítico.	
	T2	Tumor 2-5cm diâmetro máximo, ou com invasão mínima, independente do tamanho.	
	T3	Tumor >5cm diâmetro máximo, ou com invasão subcutânea, independente do tamanho.	
	T4	Tumor a invadir outras estruturas como fáscia muscular, osso ou cartilagem.	
Metástases para Linfonodos Locais	N0	Sem evidência de envolvimento dos linfonodos.	
	N1	Nodos móveis ipsilateral.	
		N1a	Nodos histologicamente negativos.
		N1b	Nodos com crescimento histológico positivo.
	N2	Nodos móveis contralateral ou bilateral.	
		N2a	Nodos histologicamente negativos.
		N2b	Nodos com crescimento histológico positivo.
N3	Nodos Fixos.		
Metástases Distantes	M0	Sem evidência de metástases distantes.	
	M1	Metástases distantes detetadas.	

Acedido em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68618/1/VPH_CMO_80.20_eng.pdf

D. Tabela de protocolos de radioterapia administrados à população do estudo de McQuown et al. (2016).

Dose por fração x nº Frações	Esquema de Tratamento	Dose total administrada
3 Gy x 10	Segunda a Sexta-Feira	30 Gy
5 Gy x 6	Duas vezes por semana	30 Gy
6 Gy x 5	Duas vezes por semana	30 Gy
6 Gy x 4	Semanalmente	24 Gy
6 Gy x 3	Semanalmente	18 Gy
8 Gy x 3	Semanalmente	24 Gy
8 Gy x 4	Semanalmente	32 Gy

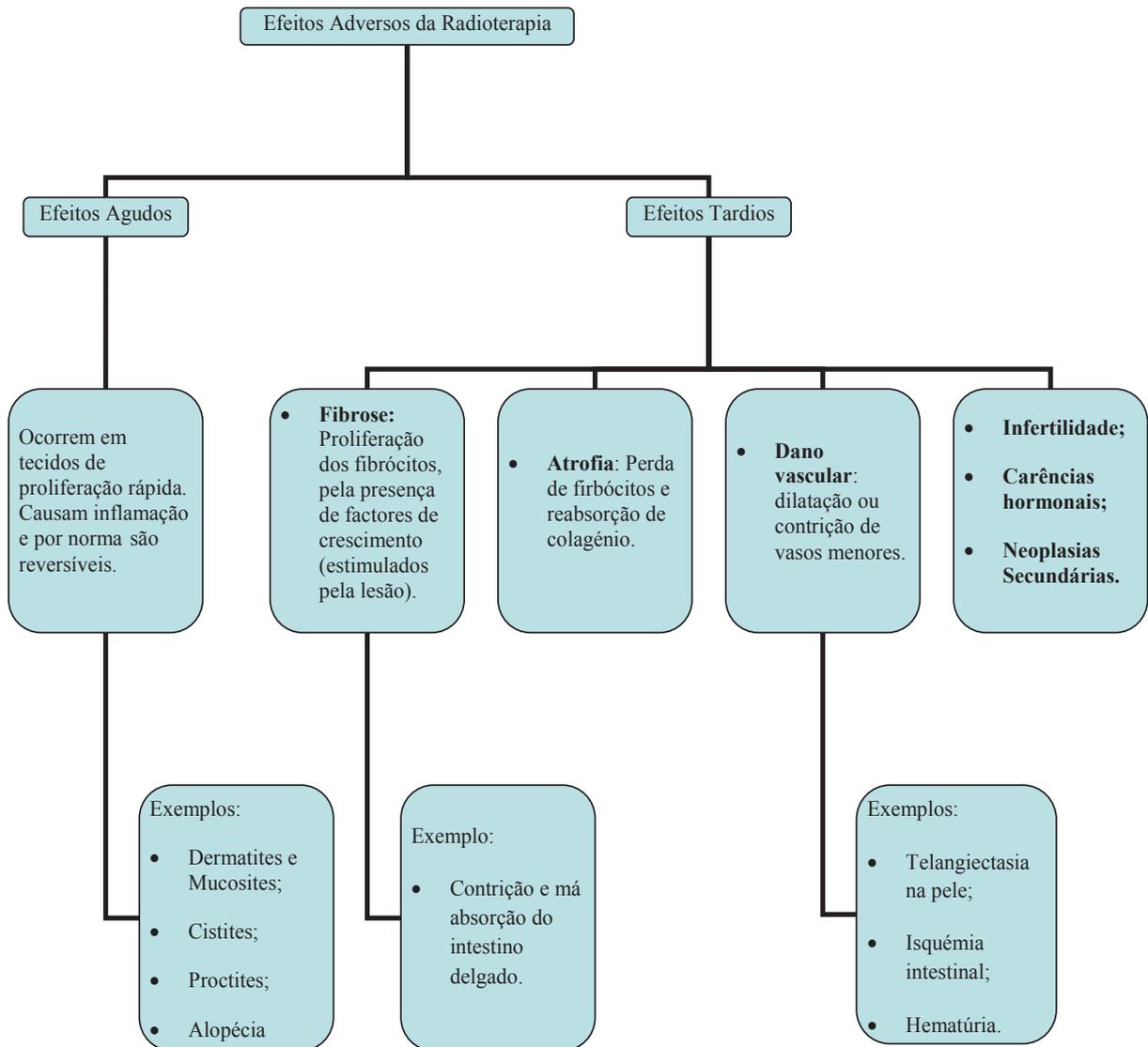
E. Valores da relação α/β .

Dado em Gy da tolerância de alguns tecidos normais e sinais de excedência da dose máxima tolerável (*Endpoint*) (adaptado de Burman *et al.*, (1991); Emani (2013) e Kehwar (2005)).

Órgão	α/β (Gy)	Endpoint
Cérebro*	2.1	Necrose Sintomática; AVC.
Tiroide e Paratiroide*	3	Tiroidite Clínica e Xerostomia.
Lente ocular	1.2	Anopsia; Cataratas que necessitam de intervenção.
Pele	1.9-2.3	Queimadura; Necrose; Ulceração.
Bexiga*	8	Disfunção; Contração da bexiga sintomática; Perda de Volume.
Rim*	3.0-3.5	Disfunção Renal; Nefrite Clínica.
Intestino Delgado	6.0-6.3	Obstrução; Perfuração.
Cólon	3.1-5.0	Obstrução, perfuração, ulceração, fistula, necrose.
Reto	3.9	Proctite severa; necrose; estenose; fistula.

*Tecidos de resposta tardia.

F. Efeitos Adversos da RT.
(adaptado de Barnett et al., 2009).



Esquema dos efeitos adversos da radioterapia.

Os efeitos agudos ocorrem durante ou pouco tempo após o término do tratamento e por norma são auto-limitantes e reversíveis. Ocorrem nos tecidos de proliferação rápida como a pele, gastrointestinal e sistema hematopoiético. Não são influenciadas pela alteração na dose por fracção mas sensíveis ao tempo por fracção.

Os efeitos tardios manifestam-se semanas a anos após o término de tratamento. Podem ser permanentes e limitam a dose de radiação. São mais frequentes em tecidos de proliferação lenta como rim, coração e sistema nervoso central. A toxicidade tardia é mais sensível a alterações na dose por fracção, quando comparado com os efeitos agudos, e menos sensíveis ao tempo de tratamento.

Diagrama adaptado de Barnett et al., (2009).

G. Tabela com esquema de classificação de morbidade das reações agudas, segundo VRTOG.

Organ/tissue	0	1	2	3
Skin	no change over baseline	erythema, dry desquamation, alopecia/epilation	patchy moist desquamation without edema	confluent moist desquamation with edema and/or ulceration, necrosis, hemorrhage
Mucous membranes/oral cavity	no change over baseline	injection without mucositis	patchy mucositis with patient seemingly painfree	confluent fibrinous mucositis necessitating analgesia, ulceration, hemorrhage, necrosis
Eye	no change over baseline	mild conjunctivitis and/or scleral injection	KCS requiring artificial tears, moderate conjunctivitis or iritis necessitating therapy	severe keratitis with corneal ulceration and/or loss of vision, glaucoma
Ear	no change over baseline	mild external otitis with erythema, pruritis 2° to dry desquamation not requiring therapy	moderate external otitis requiring topical medication	severe external otitis with discharge and moist desquamation
Lower GI	no change over baseline	change in quality of bowel habits not requiring medication, rectal discomfort	diarrhea requiring medication, rectal discomfort requiring analgesia	diarrhea requiring parenteral support, bloody discharge necessitating medical attention, fistula, perforation
Genitourinary	no change over baseline	change in frequency of urination not requiring medication	change in frequency of urination necessitating medication	gross hematuria or bladder obstruction
CNS	no change over baseline	minor neurologic findings not necessitating more than prednisone therapy	neurologic findings necessitating more than prednisone therapy	serious neurologic impairment such as paralysis, coma, obtunded
Lung	no change over baseline	alveolar infiltrate; cough – no treatment required	dense alveolar infiltrate; cough – treatment required	dyspnea

Retirada de: https://www.acvr.org/sites/default/files/scoring_scheme.pdf.