

JOANA RITA AGOSTINHO RIPADO

**Relatório de estágio: Descrição de 5 casos clínicos de
Linfoma canino**

Orientadora: Andreia Santos

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

JOANA RITA AGOSTINHO RIPADO

**Relatório de estágio: Descrição de 5 casos clínicos de
Linfoma canino**

**Dissertação defendida em prova pública na
Universidade Lusófona de Humanidades e
Tecnologias no dia 6 de Junho de 2017, perante o
júri, nomeado por despacho nº152/2017, de 5 de
Maio de 2016, com a seguinte composição:**

Presidente: Prof.^a Doutor João Requicha, em
representação da Prof.^a Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Prof. Doutor Hugo Gregório

Orientadora: Professora Doutora Andreia Santos

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

*Seja da Vida a Árvore da perpétua evolução,
caminho das raízes mais profundas ao encontro do
infinito.*

Manuela Agostinho

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Andreia Santos, pela sua disponibilidade e esclarecimentos durante todo este processo de estágio e na realização da presente dissertação.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, em especial a todos os professores por toda a sabedoria que me transmitiram ao longo destes anos, e a todas aquelas pessoas e colegas que me ajudaram e me acompanharam ao longo de todo o curso.

A toda a equipa do Hospital Montenegro, por todas as experiências que me facultaram, por todos os conhecimentos prestados e por todas as dúvidas tiradas. Aos melhores colegas estagiários de sempre no Hospital Montenegro, por todas as experiências partilhadas e pelos bons momentos vividos em conjunto.

A todos os meus amigos, que me acompanharam ao longo de todo este percurso. À Mariana, Isabel, Raquel, Ariana, Yara, Mafalda, Filipas e restante trupe da faculdade, por todos estes anos loucos de noites, pressão, brincadeiras, Xiri, exames e trabalhos sem fim.

Ao Gonçalo, por ter acompanhado ao longo de grande parte do meu percurso, por ter sido a minha almofada nos momentos mais complicados, especialmente por sempre me ter incentivado a não desistir e a nunca duvidar de mim mesma.

Ao Carlos e ao Jorge por estarem lá sempre. Os anos passam, a amizade permanece.

Ao Tiago, companheiro do Porto e das coincidências, por todo o carinho, amizade, companhia e auxílio nos momentos certos.

À minha Cartolina, por toda a paciência, amizade sincera e companheirismo, seja nos bons e maus momentos ou nas nossas loucuras.

Ao Daniel, por todo o teu apoio e amor genuíno, por me fazeres crescer, por seres o meu porto de abrigo e por me proporcionares todos os dias uma felicidade sem fim.

À minha família, em especial, à minha mãe, pai e tia, por todo o seu apoio, amor incondicional, paciência inesgotável e total disponibilidade na concretização dos meus sonhos. Sem vocês nada disto teria sido possível!

Finalmente, à minha Tina, Texuga, Rubi, Pimenta e Ninósca, por fazerem parte da minha vida.

Resumo

O estágio curricular que deu origem a esta dissertação teve lugar no Hospital de Referencia Veterinária Montenegro, sob orientação científica do Dr. Luís Miguel Fonte Montenegro. Durante o período de quatro meses, foi desenvolvido um plano de atividades que visou a aquisição de experiência e conhecimentos nas áreas de clínica e cirurgia de animais de companhia.

Dentro da área da oncologia clínica, o linfoma canino é uma das doenças neoplásicas mais comuns nos animais de companhia. O tratamento adotado é maioritariamente a quimioterapia, existindo vários protocolos quimioterápicos cuja escolha depende não só das características clínico-patológicas de cada caso clínico, mas também da disponibilidade financeira e temporal do tutor do animal.

Com este trabalho pretendeu-se fazer uma revisão atualizada sobre o linfoma canino, bem como expor e discutir cinco casos clínicos acompanhados durante o estágio. Teve também como objetivo descrever e avaliar os métodos de diagnóstico e o tratamento implementado, assim como a evolução clínica dos animais em questão.

Este estudo conclui que, não obstante a indisponibilidade financeira dos proprietários, uma das principais dificuldades na otimização dos protocolos de tratamento destes doentes, foi a falta de utilização de um método padronizado no estadiamento e acompanhamento dos pacientes oncológicos descritos.

Palavras-chave: Linfoma canino, Quimioterapia, Estadiamento

Abstract

The internship that led to this thesis took place at the Hospital de Referência Veterinária Montenegro, under the scientific guidance of Dr. Luis Miguel Fonte Montenegro. During a four-month period, a plan of activities that aimed the acquisition of experience and knowledge was developed in the areas of clinics and surgery of companion animals.

In the oncology area, canine lymphoma is one of the most common neoplastic diseases in pets. The main treatment consists in chemotherapy and there are several chemotherapy protocols described in the literature that are chosen depending on the clinical and pathological characteristics of each case and also on the cost and time consuming for the owner.

This thesis aims to make an updated review of the canine lymphoma and also to present and discuss five clinical cases followed during the internship. It describes and evaluates the methods of diagnosis and treatment, as well as the clinical course of the animals concerned.

This study concludes that despite the financial issues of the owners, one of the main difficulties to optimize treatment protocols is the lack of a standard methodology to stage and monitor these cancer patients.

Key-words: Canine lymphoma, Chemotherapy, Stage

Lista de abreviaturas

® – Símbolo de marca registrada

% - Percentagem

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AgNOR - Argirofilia das regiões organizadoras nucleolares (“Argyrophilic staining of nucleolar organizer regions”)

ALT - Alanina aminotransferase

AST - Aspartato transferase

B.p.m – Batimentos por minuto

BUN – “Blood urea nitrogen”

CAAF – Citologia aspirativa por agulha fina

CHCM - Concentração de hemoglobina corpuscular média

°C - Graus Celsius

COP – Ciclofosfamida, vincristina, prednisolona

CHOP – Ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisolona

DAPP – Dermatite alérgica à picada da pulga

dL - decilitro

etc. – Etecetera

GPT – “Glutamic-pyruvic transaminase”

HCM - Hemoglobina corpuscular média

HRVM - Hospital de Referência Veterinária Montenegro

IM - Intramuscular

IV - Intravenosa

Kg – Quilograma

L – Litro

LNH – Linfoma não Hodgkin

MALT – Tecido linfoide associado às mucosas

mEq/L - Miliequivalente por litro

mg - Miligrama

mL - Mililitro

m² – Metro quadrado

NK – Natural Killers

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

PARR – PCR for antigen receptors rearrangements

PCR – Reação de polimerização em cadeia (“Polymerase chain reaction”)

PET – Tomografia computadorizada por emissão de fótons (“Positron Emission Tomography”)

PO – *per os*

PTH-rP – "Parathyroid Hormone-related Peptide"

q24h – Cada vinte e quatro horas

q48h – Cada quarenta e oito horas

RDW – “Red Cell Distribution Width”

R.m.p – Respirações por minuto

SC – Subcutâneo

SLT – síndrome da lise tumoral

SNC – Sistema nervoso central

TAC – Tomografia axial computadorizada

TRC – Tempo de repleção capilar

UI – Unidade internacional

U/L – Unidade internacional por litro

VCM – Volume corpuscular médio

VCOG – “Veterinary Cooperative Oncology Group”

VPM – Volume plaquetário médio

μl – Microlitro

Índice geral

Capítulo 1 - Descrição da casuística e das atividades desenvolvidas durante o estágio curricular.....	16
Capítulo 2 - Introdução - Revisão Bibliográfica sobre Linfoma Canino	20
2.1 Anatomia e fisiologia do sistema linfático	20
2.2 Epidemiologia	22
2.2.1 Fatores genéticos e moleculares	23
2.2.2 Fatores imunológicos	24
2.2.3 Fatores infecciosos	24
2.2.4 Fatores ambientais.....	25
2.3 Classificação morfológica do linfoma	25
2.4 Classificação topográfica e aspetos clínicos	27
2.5 Diagnóstico e estadiamento clínico	29
2.5.1 Alterações laboratoriais.....	31
2.5.1.1 Hemograma e Perfil bioquímico	31
2.5.1.2 Urinálise	32
2.5.2 Imagiologia.....	32
2.5.3 Imunofenotipagem	33
2.6 Tratamento	35
2.6.1 Quimioterapia.....	35
2.6.2 Imunoterapia.....	39
2.7 Prognóstico	40
Capítulo 3 - Materiais e Métodos	42
Capítulo 4 - Apresentação dos casos clínicos.....	43
4.1 Caso clínico 1 – Ruby	43
4.2 Caso clínico 2 – Kuca	48

4.3 Caso clínico 3 – Putchi	52
4.4 Caso clínico 4 – Lira	58
4.5 Caso clínico 5 – Pintas	60
Capítulo 5 - Discussão dos casos clínicos	64
Capítulo 6 – Conclusão	71
7. Referências Bibliográficas.....	72
8. Apêndices	I
8.1 Apêndice I - Caso clínico 1: Ruby	I
8.1.1 Análises laboratoriais	I
8.1.2 Exames imagiológicos.....	II
8.1.3 Outros exames	IV
8.2 Apêndice II - Caso clínico 2: Kuca.....	VI
8.2.1 Análises laboratoriais	VI
8.2.2 Outros exames	VII
8.3 Apêndice III - Caso clínico 3: Putchi.....	VIII
8.3.1 Análises laboratoriais	VIII
8.3.2 Exames imagiológicos.....	IX
8.3.3 Outros exames	IX
8.4 Apêndice IV - Caso clínico 4: Lira	X
8.4.1 Análises laboratoriais	X
8.4.2 Outros exames	XI
8.5 Apêndice V - Caso clínico 5: Pintas	XII
8.5.1 Análises laboratoriais	XII
8.5.2 Outros exames	XIII
8.6 Apêndice VI - Ficha modelo de acompanhamento do paciente oncológico.....	XV

Índice de tabelas

Tabela 1 - Casuística das cirurgias assistidas na clínica e hospital, durante o período de estágio.	17
Tabela 2 – Classificação do linfoma maligno canino de acordo com a Organização Mundial de Saúde	26
Tabela 3 - Classificação topográfica do linfoma, respectivas características e sintomatologia associada	28
Tabela 4 - Estadiamento clínico do linfoma canino segundo a Organização Mundial de Saúde	31
Tabela 5 – Protocolo CHOP modificado de 19 semanas, da Universidade Wisconsin-Madison	36
Tabela 6 - Protocolo COP de alta e baixa dose para linfoma em cães	37
Tabela 7 - Definições gerais de resposta à terapêutica.	38
Tabela 8 - Mecanismos de resistência aos quimioterápicos.	39
Tabela 9 – Protocolo de quimioterapia instituído ao Ruby desde o diagnóstico.....	45
Tabela 10 – Protocolo de quimioterapia instituído à Kuca desde o diagnóstico.....	49
Tabela 11 – Protocolo quimioterapêutico instituído ao Puchi desde o diagnóstico.....	54
Tabela 12 – Protocolo COP instituído à Lira.	59
Tabela 13 - Protocolo de quimioterapia COP instituído à Pintas desde o diagnóstico.	61
Tabela 14 - Hemograma realizado em laboratório	I
Tabela 15 - Análises bioquímicas realizadas em laboratório.	II
Tabela 16 - Hemograma realizado em laboratório no dia de admissão do paciente	VI
Tabela 17 - Análises sanguíneas da Kuca, realizadas no hospital, ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.....	VI
Tabela 18 - Análises sanguíneas da Kuca, realizadas no hospital, ao longo do protocolo de quimioterapia.....	VII
Tabela 19 - Análises sanguíneas do Puchi ao longo do protocolo de quimioterapia.	VIII
Tabela 20 - Análises sanguíneas do Puchi ao longo do protocolo de quimioterapia	VIII
Tabela 21 - Análises bioquímicas do Puchi ao longo do protocolo de quimioterapia	IX
Tabela 22 - Análises sanguíneas da Lira	X
Tabela 23 - Análises bioquímicas da Lira	X
Tabela 24 - Análises sanguíneas da Pintas ao longo do protocolo de quimioterapia.....	XII

Tabela 25 - Análises sanguíneas da Pintas ao longo do protocolo de quimioterapia.....	XII
Tabela 26 - Análises bioquímicas da Pintas ao longo do protocolo de quimioterapia.....	XIII

Índice de Figuras

Figura 1 - Localização dos linfonodos principais no cão.	21
Figura 2 - Imagens radiográficas da cavidade torácica do Ruby, nos planos latero-lateral direito e ventro-dorsal	44
Figura 3 - Imagens radiográficas da cavidade torácica do Putchi, nos planos latero-lateral direito e esquerdo	53
Figura 4 - Imagem radiográfica da cavidade torácica da Pintas, no plano latero-lateral direito	63
Figura 5 - TAC torácico do Ruby.....	II
Figura 6 - TAC torácico do Ruby.....	III
Figura 7 - TAC abdominal do Ruby.....	III
Figura 8 - TAC abdominal do Ruby.....	IV
Figura 9 - Linfoma B centroblástico com alto grau de malignidade	XIV

Índice de gráficos

Gráfico 1 - Distribuição da casuística dos casos acompanhados na clínica e no hospital, no internamento e/ou em consulta, durante o período de estágio.	16
Gráfico 2 – Exames imagiológicos assistidos durante o período de estágio.	18
Gráfico 3 - Outros procedimentos realizados durante o período de estágio.....	18

Capítulo 1 - Descrição da casuística e das atividades desenvolvidas durante o estágio curricular

O estágio curricular que deu origem a esta dissertação teve lugar no Hospital de Referência Veterinária Montenegro (HRVM) e na Clínica Veterinária Montenegro, sob orientação científica do Professor Doutor Luís Miguel Fonte Montenegro. Durante um período de quatro meses, foi desenvolvido um plano de atividades que visou a aquisição de conhecimentos e experiência, nas áreas de clínica e cirurgia de animais de companhia.

Durante este período de estágio tive oportunidade de seguir diversos casos nas áreas médicas apresentadas no Gráfico 1. Os casos observados com maior frequência foram na área da fisioterapia, seguindo-se as doenças infecto-contagiosas e/ou parasitárias e ortopedia. É de referir que alguns dos animais contabilizados foram vistos em mais que uma especialidade e, como tal, o somatório total apresentado não corresponde à totalidade de animais acompanhados mas sim ao conjunto de casos vistos.

Foi possível participar em cirurgias, procedimentos anestésicos, cuidados básicos de

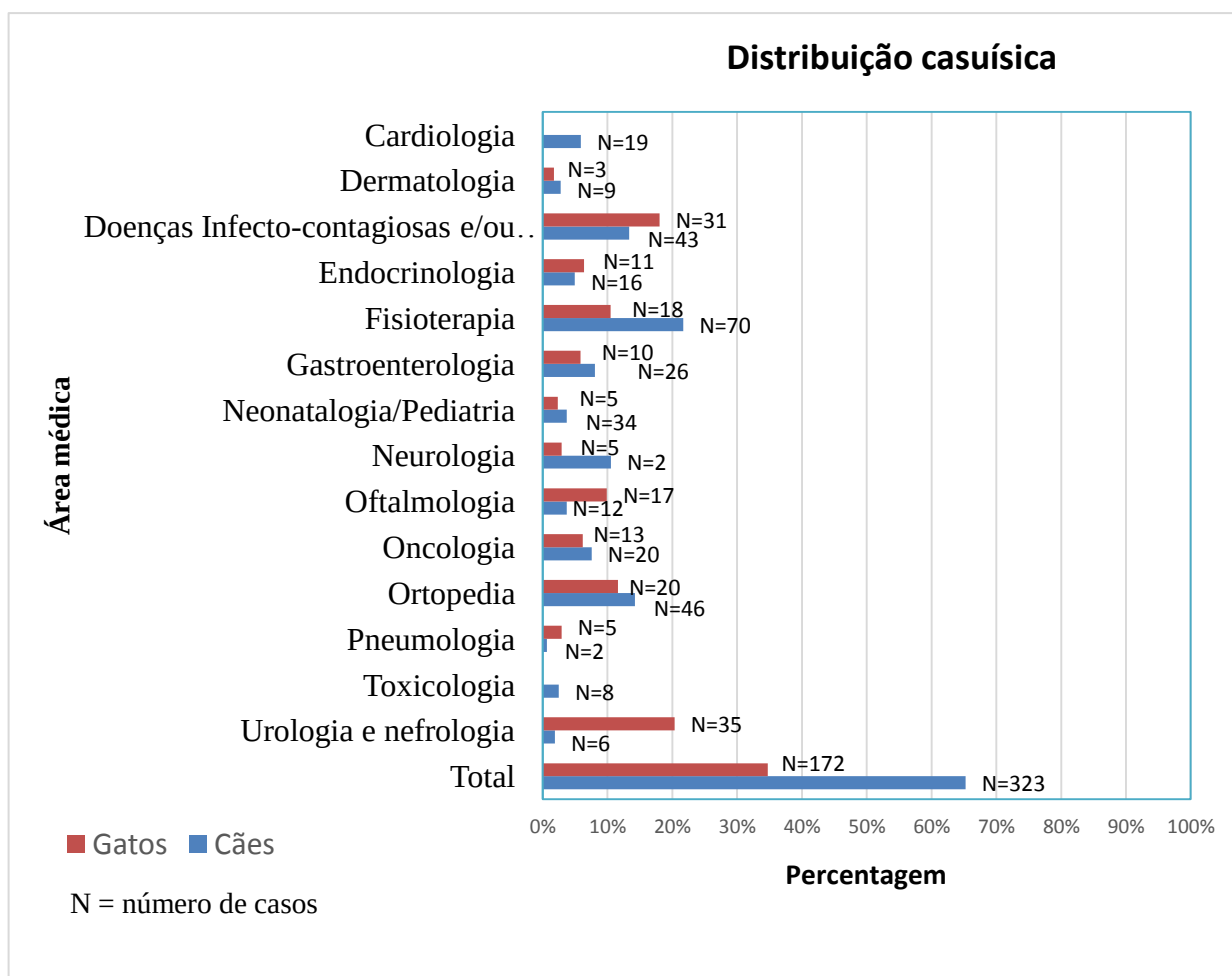


Gráfico 1 - Distribuição da casuística dos casos acompanhados na clínica e no hospital, no internamento e/ou em consulta, durante o período de estágio.

internamento, exames complementares de diagnóstico, bem como perceber o funcionamento e dia a dia de um hospital de referência. Particpei no manejo e monitorização dos pacientes internados através da realização de exames físicos, preparação e administração das respetivas medicações diariamente. Realizei igualmente serviço noturno de urgência, tomando responsabilidade acrescida no caso dos animais que se encontravam em estado mais crítico. Adquiri competências na área de cuidados intensivos, auxiliando no manejo dos doentes em choque e politraumatizados.

Assisti a diversas cirurgias de tecidos moles, ortopédicas e alguns procedimentos de dentisteria, nos quais pude participar como anestesista e ajudante de cirurgião. A Tabela 1 mostra a casuística da clínica cirúrgica durante o processo de estágio. Presenciei também todo o procedimento pré-cirúrgico de alguns pacientes, assim como ajudei na sua recuperação e cuidados pós-cirúrgicos. Embora não tenham sido muitos os casos em que tenha tido oportunidade de acompanhar do início ao fim, esta foi uma experiencia valiosa por me oferecer uma perspetiva de como é realmente acompanhar todo o processo pelo qual o paciente atravessa, desde o diagnóstico até à resolução do caso e alta médica.

Tabela 1 - Casuística das cirurgias assistidas na clínica e hospital, durante o período de estágio.

Cirurgia		Cães	Gatos	Total	
				N	%
Tecidos moles		32	10	42	48
Ortopedia/Neurologia		21	11	32	37
Cirurgias eletivas (orquiectomia, ovariectomia)		9	4	13	15
Total	N	62	25	87	100
	%	71	29	100	

Na área de imagiologia (Gráfico 2), foi possibilitada a observação e assistência em exames radiográficos, ecografias, TAC e ressonância magnética, assim como discussão dos respetivos casos clínicos sempre que possível. Esta componente foi bastante importante a nível da consolidação teórica e aprendizagem prática dos diferentes métodos imagiológicos. Relativamente aos exames complementares de laboratório (Gráfico 3), foi possível fazer o processamento interno de amostras de sangue para hemograma e bioquímicas, urianálise,

assim como realizar colorações de amostras citológicas e posterior observação ao microscópio ótico. O Gráfico 2 mostra os vários procedimentos realizados durante este período.

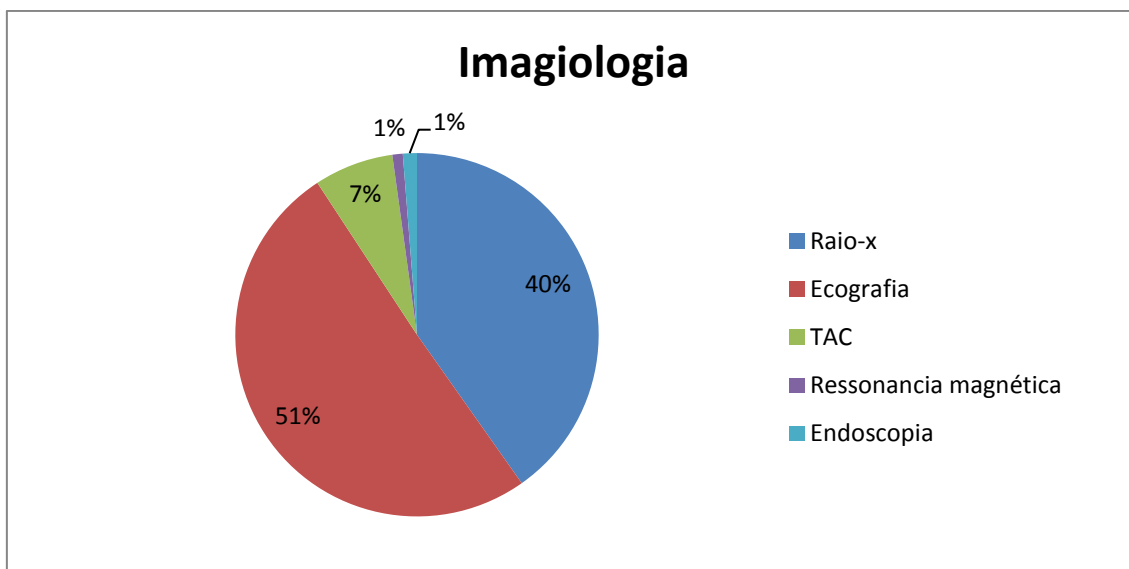


Gráfico 2 – Exames imagiológicos assistidos durante o período de estágio.

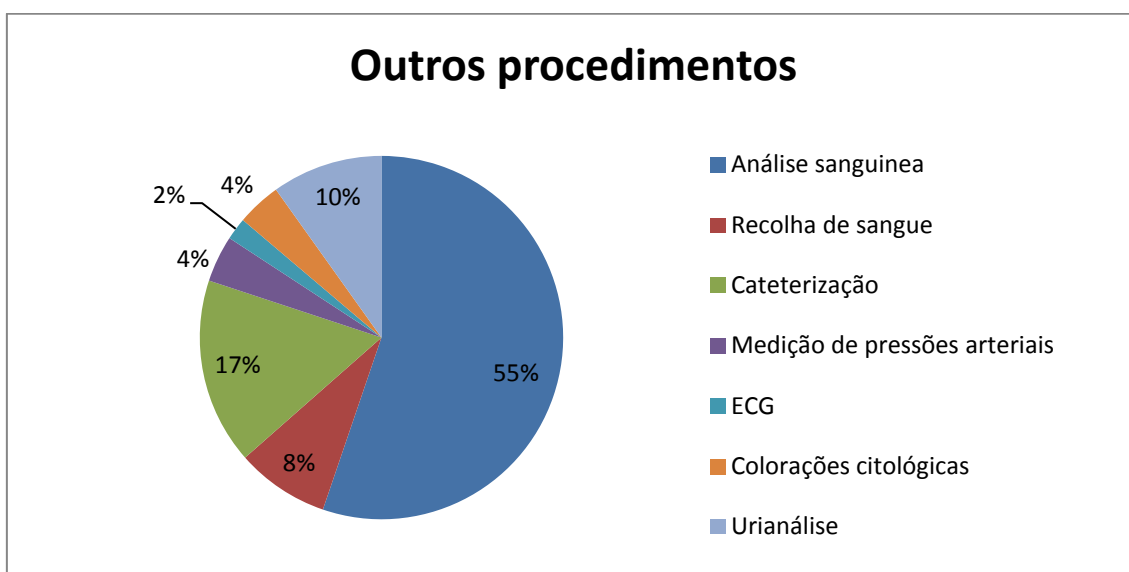


Gráfico 3 - Outros procedimentos realizados durante o período de estágio.

Tive também oportunidade de realizar várias sessões de fisioterapia aos animais internados (sendo que maioritariamente foram casos de ortopedia ou neurologia). Os protocolos implementados variavam consoante o caso, mas todos eles incluíam termoterapia, cinesioterapia e eletroterapia.

Para além de toda esta experiência, obtive também competências na área de atendimento ao público, reposição de produtos e resolução de problemas em diversas áreas.

De uma forma geral, penso que os meus objetivos foram cumpridos ao longo deste estágio curricular. Consegui adquirir uma maior prática clínica e cirúrgica, e ainda uma boa dinâmica individual e de grupo. Neste último aspeto, apercebi-me de quão é importante o trabalho em equipa e, sobretudo, a boa comunicação e interajuda. O estágio ajudou-me também a desenvolver um pouco mais a minha opinião crítica, graças à integração dos conhecimentos adquiridos durante os 5 anos do Mestrado, aplicados na prática clínica. Aprendi também que a pesquisa e estudo complementar regular, são fundamentais para o dia-a-dia em clínica, permitindo mantermo-nos atualizados e tornarmo-nos melhores profissionais. Durante este período, tentei acompanhar a evolução clínica dos animais, contudo nem sempre foi possível devido ao fluxo de movimento, carga de trabalho e tarefas diárias do hospital.

Capítulo 2 - Introdução - Revisão Bibliográfica sobre Linfoma Canino

O termo linfoma, linfossarcoma, linfoma maligno ou ainda linfoma não-Hodgkin (de acordo com a terminologia de medicina humana), engloba um grupo de neoplasias que tem origem nas células linforeticulares (Willmann *et al.*, 2009; Poggi *et al.* 2016). Surge frequentemente no tecido linfoide, no entanto, pode desenvolver-se em qualquer tipo de tecido no corpo (Fry & McGavin, 2013; Vail *et al.*, 2013; Koshino *et al.*, 2016). Histologicamente, é caracterizado pela alteração da arquitetura normal do tecido e pela presença de uma população monomórfica de linfócitos morfológicamente atípicos (Fry & McGavin, 2013).

2.1 Anatomia e fisiologia do sistema linfático

O sistema imunitário é constituído pelos órgãos linfoides primários, secundários e por células do sistema mononuclear fagocitário, presentes no sangue, na linfa e no tecido conjuntivo. Este sistema, para além de defender o organismo contra microrganismos invasores e toxinas, é também responsável pela eliminação das células cancerígenas. Estas são reconhecidas como estranhas, devido a possuírem na sua composição proteínas que não existem nas células normais (Junqueira & Carneiro, 2008; McGavin, 2013).

Os linfócitos T e os linfócitos B são as principais células da imunidade mediada por células e da imunidade humoral, respetivamente (Junqueira & Carneiro, 2008). São células redondas que predominam maioritariamente em órgãos como o timo, baço e linfonodos. Os linfócitos T distinguem-se em vários subgrupos celulares: linfócitos T de memória, T citotóxicos (ou T Killer) e T helper. Têm origem na medula óssea e migram para o timo, onde sofrem uma série de processos de diferenciação. Posteriormente, migram para o tecido linfoide periférico já como células maduras. O desenvolvimento dos linfócitos B divide-se em duas fases. Inicialmente passam por uma fase independente de antígeno, nas placas de Peyer e na medula óssea, e de seguida passam por uma fase dependente de antígeno nos tecidos linfoides periféricos (baço, linfonodos e tecido linfoide associado à mucosa MALT) (Junqueira & Carneiro, 2008; Fry & McGavin, 2013).

A circulação de linfócitos no organismo é controlada por citocinas, as quais garantem que os linfócitos adequados vão para os locais necessários (Tizard, 2004). Após a migração para o tecido linfóide periférico, estas células podem sofrer expansão clonal em resposta a estímulos antigênicos. Ao contrário de outras células hematopoiéticas, que circulam somente em vasos sanguíneos, os linfócitos transitam continuamente entre o sistema sanguíneo e sistema linfático (Fry & McGavin, 2013).

Os linfonodos são órgãos constituídos por tecido linfóide, envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo denso (Saar & Getty, 1986). O parênquima divide-se em região cortical e região medular, entre as quais se encontra a região paracortical ou cortical profunda (Saar & Getty, 1986; Junqueira & Carneiro, 2008). Nesta região, predominam os linfócitos T juntamente com algumas células reticulares, plasmócitos e macrófagos. Já os linfócitos B são predominantes na região cortical (Fournel-Fleury *et al.*, 1994; Tizard, 2004; Junqueira & Carneiro, 2008).

Anatomicamente, os linfonodos encontram-se distribuídos estrategicamente pelo corpo, sempre no trajeto dos vasos linfáticos (Saar & Getty, 1986). Sendo o papel dos linfócitos circular de forma contínua no organismo, de forma a remover todas as partículas estranhas da linfa, antes que esta retorne à circulação sanguínea (Tizard, 2004; Junqueira & Carneiro, 2008). Os linfonodos habitualmente examinados durante o exame físico são os submandibulares, pré-escapulares, cervicais, axilares, inguinais e poplíteos (Vail & Young, 2007) (Figura 1).

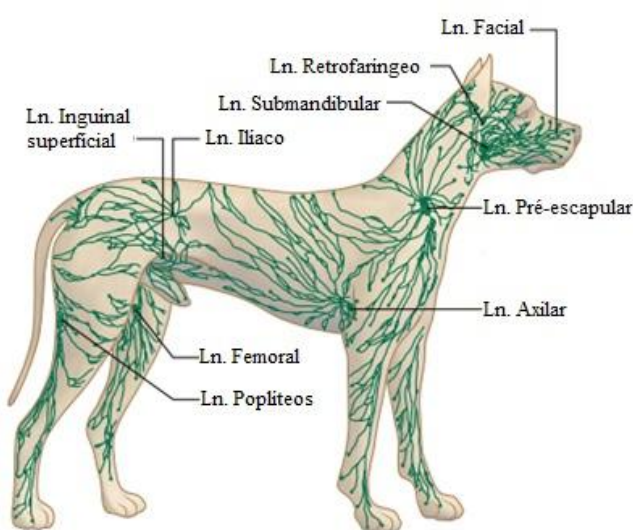


Figura 1 - Localização dos linfonodos principais no cão (adaptado de North & Banks, 2009).

2.2 Epidemiologia

O linfoma é uma das neoplasias caninas mais frequentes como também é o tumor hematopoiético mais comum no cão (Simon *et al.*, 2006; Willman *et al.*, 2009; Valli *et al.*, 2011; Elias *et al.*, 2014; Koshino *et al.*, 2016). Cerca de 83% dos tumores hematopoiéticos são linfomas e representam 7 a 24% de todas as neoplasias caninas (Willman *et al.*, 2009; Marconato *et al.*, 2012; Vail *et al.*, 2013). A etiologia do linfoma canino é essencialmente multifatorial, dado não ter uma causa única subjacente (Morris & Dobson, 2008; Vail *et al.*, 2013; Nelson & Couto, 2014). A incidência desta neoplasia tem vindo a aumentar ao longo dos anos, consequente à crescente exposição a fatores cancerígenos (poluição, radiação, etc), juntamente com o aumento da esperança de vida dos animais, resultante dos avanços na medicina veterinária (Marconato *et al.*, 2011; Elias *et al.*, 2014).

As raças com uma maior predisposição para o desenvolvimento de linfoma, incluem: Boxer, Bull Mastiff, São Bernardo, Scottish Terrier, Basset Hound, Airedales, Bulldog, Cocker Spaniel e Golden Retriever (Morrison, 2004; Modiano *et al.*, 2005; Morris & Dobson, 2008; Vail *et al.*, 2013). Já os cães de raça Dachshund, Pomeranian e Chihuahua, apresentam uma menor incidência (Morrison, 2004; Modiano *et al.*, 2005; Morris & Dobson, 2008; Vail *et al.*, 2013). Um estudo recente realizado na Alemanha, por Ernst *et al.* (2016), confirma a predisposição da maioria das raças acima mencionadas, acrescentando à lista: Briard, West Highland White Terrier e Irish Setter. Conclui também que cães de raças mais pequenas (menos de 15 Kg) têm tendência a desenvolver linfomas em idades mais avançadas. A maioria dos cães diagnosticados com linfoma é de meia-idade ou mais velhos (6 a 12 anos), no entanto pode ocorrer em cães de qualquer idade (Ponce, 2010; Nelson & Couto, 2014).

Um outro estudo, realizado por Modiano *et al.* (2005), conclui que não só existe predisposição racial para o desenvolvimento de linfoma, como também existem raças mais susceptíveis a desenvolver linfomas do tipo B ou do tipo T. Hoje em dia, com o acesso à sequência do genoma canino e à disponibilidade de conjuntos de marcadores otimizados, é possível procurar os genes implicados na susceptibilidade à doença. De acordo com Vail *et al.* (2013), Cocker Spaniel e Doberman Pinscher, são raças que possuem uma maior predisposição para desenvolver linfoma do tipo T, enquanto que, a raça Golden Retriever parece ter igual probabilidade em desenvolver linfoma tipo B ou tipo T.

Parte da literatura consultada não relata predileção por gênero (Morris & Dobson, 2008; North & Banks, 2009; Nelson & Couto, 2014). No entanto, num trabalho realizado por Villamil *et al.* (2009), concluiu-se que, à semelhança dos humanos, existe uma relação entre o gênero e o aparecimento de linfoma no cão. O estudo epidemiológico mostra que fêmeas inteiras são menos susceptíveis ao aparecimento da doença, tendo por base a hipótese de tal suceder devido ao nível de hormonas femininas em circulação. É um tópico que ainda carece de investigação mais aprofundada.

2.2.1 Fatores genéticos e moleculares

Cada vez mais têm surgido avanços na área da citogenética molecular, nomeadamente técnicas de microchip de genes que têm sido aplicadas no âmbito da investigação de alterações cromossômicas em cães com linfoma (Vail *et al.*, 2013; Roode *et al.*, 2016). A título de exemplo, e de acordo com Bryan (2010), a perda genómica da metilação das bases de citosina nos cromossomas caninos, tem sido associada a este tipo de neoplasia. Os avanços nesta área, constituem uma ferramenta valiosa para compreender a base do desenvolvimento do linfoma canino.

Estudos sugerem que a sobre expressão da glicoproteína P (P-gp) devido a alterações genéticas, reduz a concentração intracelular dos fármacos quimioterápicos e que a transdução do gene *ABCB1* está associada à quimioresistência (MDR – “multidrug resistance”) (Gramer *et al.*, 2013; Tomiyasu *et al.*, 2013; Biller *et al.*, 2016). Collie, Shetland Sheepdog, White Shepherd e Australian Shepherd são alguns exemplos de raças geneticamente predispostas a esta mutação (Gramer *et al.*, 2013; Biller *et al.*, 2016). Há também a considerar outros fatores moleculares que não têm ainda muita relevância a nível clínico, e como tal não são habitualmente utilizados. Nomeadamente, o recetor da transferrina I (TfRI), cuja expressão genética esta correlacionada com o índice mitótico e consequentemente com o grau de malignidade e o tipo de linfoma (Priest *et al.*, 2011); a medição da quantidade de AgNOR para averiguar a capacidade de proliferação (Kiupel *et al.*, 1998; Valdovich *et al.*, 2004; Scase *et al.*, 2005); e o papel de determinadas proteínas denominadas survivinas (proteínas de ação anti-apoptótica), como fator prognóstico negativo (Rebhun *et al.*, 2008). O Ki67 é também um dos marcadores de proliferação celular mais usados e é um fator importante na classificação de neoplasias e na previsão do seu comportamento biológico (Scase *et al.*, 2005;

Sokołowska *et al.* 2012). No entanto a sua relevância clínica continua a ser debatida tanto em linfomas humanos, como caninos (Poggi *et al.*, 2013; Poggi *et al.*, 2016).

2.2.2 Fatores imunológicos

Alterações ao nível do sistema imunitário, tais como trombocitopenia imunomediada, têm sido associadas a um aumento do risco de desenvolver linfoma e *vice-versa* (Vail *et al.*, 2013). Esta hipótese tem por base o processo neoplásico poder interferir com os anticorpos do próprio organismo desencadeando uma doença imunomediada através de vários mecanismos. O contrário também pode ocorrer por exemplo, através da expressão de oncogenes nos linfócitos de animais com doenças imunomediadas (Keller, 1992).

Outros autores também sugerem que poderá haver uma associação entre a desregulação do sistema imunitário na dermatite atópica e aumento do risco em desenvolver linfoma epiteliotrófico (Santoro *et al.*, 2007).

2.2.3 Fatores infecciosos

Alguns estudos sugerem que possa existir o envolvimento viral no desenvolvimento de linfoma. Com efeito, Modiano *et al.* (2005) e Vail (2011) descobriram a presença da transcriptase reversa em tecido tumoral (Modiano *et al.*, 2005; Vail, 2011) e Huag *et al.* (2012), propõe que o γ -herpesvírus Epstein-Barr (EBV) pode estar associado ao desenvolvimento de linfoma de células B no cão, uma vez que foram encontradas partículas virais presentes nos linfonodos dos animais em estudo. Outros autores, sugerem também a mesma hipótese (Chiou *et al.*, 2005; Fontaine *et al.*, 2009; Milman *et al.* 2011). Por outro lado, um estudo recente (Waugh *et al.*, 2015) concluiu através de técnicas moleculares, que não existem evidências de envolvimento direto de herpesvírus no desenvolvimento dos tipos de linfoma mais comuns no cão (linfoma das células B, linfoma das células T, linfoma misto) (Waugh *et al.*, 2015).

2.2.4 Fatores ambientais

Um estudo realizado nos Estados Unidos, sugere que a exposição a alguns produtos como inseticidas, rodenticidas, fertilizantes, entre outros, pode aumentar o risco de desenvolvimento de linfoma (Takashima-Uebelhoer *et al.*, 2012). Contudo, são necessárias análises mais extensas que permitam avaliar especificamente quais os químicos presentes nestes produtos que estejam efetivamente associados a esta neoplasia (Takashima-Uebelhoer *et al.*, 2012).

Um outro estudo epidemiológico, realizado em França, demonstrou que havia uma associação entre o LNH canino e a distribuição de lixo radioativo, incineradores de resíduos e locais poluídos (Pastor *et al.*, 2009). Verificou também uma correlação entre a incidência de LNH canino e LNH humano (Pastor *et al.*, 2009). Com efeito, os cães partilham o mesmo espaço que os seres humanos, pelo que são expostos aos mesmo fatores etiológicos, tais como radiações, poluentes e agentes carcinogénicos. No entanto, são necessários estudos estatísticos e epidemiológicos mais detalhados, para averiguar a influência destes agentes ambientais, no aparecimento das diferentes formas de linfoma na espécie canina (Fournel-Fleury *et al.*, 2002; Marconato *et al.*, 2012).

2.3 Classificação morfológica do linfoma

Ao longo dos anos foram desenvolvidas várias classificações para este tipo de neoplasia (Marconato, 2011). Os sistemas de classificação usados para o linfoma não-Hodgkin em humanos têm sido aplicados por patologistas veterinários para classificar linfomas caninos (tais como os sistemas de Kiel, REAL - Revisão do Linfoma, Europeu e Americano; OMS - Organização Mundial de Saúde; e Working Formulation) (Jacobs *et al.*, 2002; Morris & Dobson, 2008; Ponce *et al.*, 2010; Valli *et al.*, 2011). Estes sistemas de classificação agrupam os linfomas segundo a suas características morfológicas (classificação atualizada de Kiel) (Marconato, 2011), ou tendo em consideração a apresentação clínica e os aspetos morfológicos simultaneamente (Working Formulation) (Marconato *et al.*, 2012).

Atualmente, com o aumento do conhecimento dos aspetos imunológicos do linfoma maligno e a melhor compreensão da maturação e da diferenciação das células linfoides, foram

desenvolvidos novos sistemas de classificação (Valli *et al.*, 2011). Estes têm como base a localização anatômica, as características imunofenotípicas e histológicas, bem como o comportamento biológico do tumor (Fry & McGavin, 2013; Vail *et al.*, 2013). A classificação mais recente é feita segundo os critérios da OMS, que usa como base o sistema REAL. Este sistema foi criado com o objetivo de uniformizar o diagnóstico, de forma a ser preciso, consistente e reprodutível, de modo a adequar o tratamento e respetivo prognóstico (Vail *et al.*, 2013). A Tabela 2 mostra algumas das classificações deste sistema.

Tabela 2 – Classificação do linfoma maligno canino de acordo com a Organização Mundial de Saúde. Adaptado de Valli *et al.* (2011).

Neoplasia das células B	Neoplasia das células T
Neoplasia das células B precursoras	Neoplasia das células T precursoras
Leucemia/linfoma linfoblástico das células B	Leucemia/linfoma linfoblástico das células T
Neoplasia das células B maduras (periféricas)	Neoplasia das células T/NK maduras
Leucemia/linfoma linfocítico crónico	(periféricas)
Linfoma prolinfocítico de células B	Leucemia linfocítica crónica
Linfoma linfoplasmocítico	Linfoma prolinfocítico das células T
Linfoma esplénico da zona marginal	Leucemia linfoproliferativa de células T
Linfoma nodal da zona marginal	grandes granulares
Mieloma múltiplo e plasmocitoma	Linfoma hepatoesplénico
Linfoma extranodal da zona marginal do MALT	Linfoma periférico de células T
Linfoma difuso de células B grandes	Linfoma anaplásico de células grandes
Linfoma mediastínico de células B grandes	Linfoma angioimunoblástico
	Linfoma angiocêntrico de células T
	<i>Mycosis fungoides</i> /Síndrome de Sezary

Um estudo realizado em 2011 validou a reprodutibilidade deste esquema de classificação de linfomas em cães, através do consenso de vários patologistas veterinários na classificação duma série de 300 casos de linfoma (Valli *et al.*, 2011).

Os linfomas caninos são também classificados de acordo com o grau histológico e tamanho das células neoplásicas (Marconato *et al.*, 2011). A classificação atualizada de Kiel considera a morfologia (centrocítico, centroblástico ou imunoblástico), a arquitectura do tecido e o fenótipo (células B ou células T) das células tumorais (Vail *et al.*, 2013). De acordo

com estes aspetos, a neoplasia pode ser classificada em baixo grau, grau intermédio ou alto grau, consoante a malignidade (Poggi *et al.*, 2013). A determinação do grau é fundamental para prever o comportamento biológico do tumor e a escolha do protocolo terapêutico (Poggi *et al.*, 2013).

Um estudo com uma amostragem significativa (Ponce, 2010) confirmou algumas informações já anteriormente publicadas, utilizando o sistema de classificação atualizada de Kiel, relativamente à predominância dos tipos de linfomas. Os de alto grau (75,5%) prevalecem sobre os de baixo grau (24,5%), e os linfomas de células B grandes (47,38%) sobre os de células T pleomórficas (9,37%), sendo o linfoma folicular a forma mais rara (0,66%) (Ponce, 2010; Vail *et al.*, 2013; Poggi *et al.*, 2016).

2.4 Classificação topográfica e aspetos clínicos

A apresentação clínica associada ao linfoma canino é variável consoante a localização anatómica e extensão do tumor (Tabela 3). Todavia, é frequente a apresentação de sinais clínicos inespecíficos tais como: anorexia, letargia, poliúria, polidipsia, vômitos, diarreia, perda de peso, entre outros (North & Banks, 2009; Marconato *et al.*, 2012; Vail *et al.*, 2013; Nelson & Couto, 2014).

Esta descrito que cerca de 84% dos cães desenvolvem a forma multicêntrica (Vail *et al.*, 2013), sendo que o sintoma mais frequente é a presença de linfadenomegalia generalizada e indolor, associada ocasionalmente a hepato-esplenomegalia (Kiupel *et al.*, 1998; Vail *et al.*, 2013; Elias *et al.*, 2014; Nelson & Couto, 2014). Em 27% a 34% dos canídeos afetados existe também envolvimento pulmonar, com infiltração difusa visível no exame radiográfico (Vail & Young, 2007; Bryan, 2010).

É frequente o desenvolvimento de síndromes paraneoplásicas, nomeadamente anemia e hipercalcemia (Morris & Dobson, 2008; Vail *et al.*, 2013; Nelson & Couto, 2014). De acordo com Vail (2010), cerca de 15% dos cães com linfoma e quase 50% dos cães com envolvimento mediastínico e/ou com imunofenótipo de células T, apresentam hipercalcemia caracterizada clinicamente por anorexia, perda de peso, letargia, fraqueza muscular, poliúria/polidipsia, e raramente, depressão do SNC e coma. A hipercalcemia está habitualmente relacionada com a produção do péptido PTH-rP ("Parathyroid Hormone-related

Peptide") pelas células cancerígenas e está também normalmente associada ao linfoma das células T. Podem ser encontrados outros sinais de síndromes paraneoplásicas, nomeadamente, gamopatias monoclonais, polineuropatia, hipoglicemia, e caquexia (Vail, 2010; Vail *et al.*, 2013; Nelson & Couto, 2014). Pode também ser encontrada hipergamaglobulinemia, embora seja menos frequente que a hipercalcemia em canídeos (Morris & Dobson, 2008).

Tabela 3 - Classificação topográfica do linfoma, respetivas características e sintomatologia associada. Adaptado de Vail *et al.*, 2013; Nelson e Couto, 2014.

Forma	Localização e características	Sintomatologia associada
Multicêntrica	○ Frequente envolvimento esplénico, hepático e da medula óssea ○ 84% dos cães desenvolve esta forma	○ Linfadenomegalia generalizada ○ Sinais clínicos inespecíficos ○ Podem ocorrer lesões extranodais
Mediastínica	○ Linfadenomegalia mediastínica ○ Com ou sem infiltração medular ○ Apenas ocorre em 5% dos casos ○ Está associada às células T ○ Associada a hipercalcemia	○ Dispneia, tosse, regurgitação ○ Pode ocorrer edema da cabeça e do pescoço ○ Pode ocorrer efusão pleural
Alimentar	○ Focos de infiltração no trato gastrointestinal, solitários, difusos ou multifocais, com ou sem linfadenomegalia gastrointestinal ○ 5 a 7% dos linfomas caninos ○ Mais comum no género masculino ○ Enterite linfoplasmocitária pode ser encontrada adjacente ou distante do tumor primário	○ Sintomas gastrointestinais tais como: anorexia, vômito, diarreia ou perda de peso ○ Pode ser detetado ao exame físico, aumento das ansas intestinais e por vezes massas intra-abdominais
Extranodal	○ Afeta qualquer órgão ou tecido, por exemplo: olhos, sistema nervoso central (SNC), bexiga, coração, medula óssea etc.	○ Muito variável conforme o(s) órgão(s) afetado(s)

Forma	Localização e características	Sintomatologia associada
Cutânea	○ Epiteliotrófico (mycosis fungoides) – origem nas células T ○ Não epiteliotrófico – nódulos ou placas (subcutâneas, solitárias ou múltiplas)	○ Diversas lesões cutâneas como: eritema, prurido, descamação, alopecia e lesões ao nível das transições mucocutâneas ○ Pode não haver linfadenopatia numa fase inicial

2.5 Diagnóstico e estadiamento clínico

Perante a suspeita de linfoma, a abordagem diagnóstica deve contemplar um exame físico detalhado, hemograma, urianálise e perfil bioquímico completo incluindo a medição da LDH (lactato desidrogenase) e o doseamento de fósforo, potássio, ácido úrico e cálcio ionizado (Turek *et al.*, 2008; North & Banks, 2009; Marconato, 2011; Vail *et al.*, 2013; Graff *et al.*, 2014; Biller *et al.*, 2016). Estes últimos quatro parâmetros mencionados poderão ser úteis para a deteção da síndrome da lise tumoral (SLT), que pode ocorrer após o tratamento com quimioterapia (Marconato, 2011). Deve também ser realizado um esfregaço de sangue periférico a fim de procurar células neoplásicas em circulação (Marconato, 2011; Martini *et al.*, 2013).

Segundo as *guidelines* do VCOG (“Veterinary Cooperative Oncology Group”), não é necessário proceder a uma análise de medula óssea (Vail *et al.*, 2009), contudo, está indicado realizar uma citologia aspirativa ou biópsia de medula óssea em animais que apresentem anemia, linfocitose, ou citopenias periféricas, permitindo um estadiamento e prognóstico mais precisos (Vail, 2010; VCOG, 2011; Marconato *et al.*, 2012; Martini *et al.*, 2013; Graff *et al.*, 2014).

Em Medicina Humana a análise citopatológica é usada no diagnóstico de LNH em 80 a 90% dos casos, sendo que permite obter o diagnóstico final em 67 a 86% dos doentes (Sapierzyński *et al.* 2010). À semelhança, o diagnóstico de linfoma em Medicina Veterinária, geralmente é obtido através de citologia ou biópsia (Scase *et al.*, 2005; Sozmen *et al.*, 2005; Bryan, 2010; Seelig *et al.*, 2014). A citologia possibilita uma identificação rápida e pouco dispendiosa de uma população anormal e monomórfica de linfócitos, permitindo o diagnóstico definitivo em cerca de 90% dos casos (Nelson & Couto, 2014). Tem também a

vantagem de ser método simples, seguro e pouco invasivo (Sozmen *et al.*, 2005; Marconato, 2011). Todavia esta técnica isolada não nos fornece uma classificação completa, nem estadiamento tumoral e por diversas vezes é difícil diferenciar uma hiperplasia reativa de linfoma (Scase *et al.*, 2005; Bryan, 2010; Vail *et al.*, 2013). Para tal é importante a análise histopatológica e imunofenotipagem. Ambas permitem uma classificação mais completa e no caso da histopatologia, uma avaliação mais precisa do grau tumoral (baixo, intermédio ou alto), que são importantes para a escolha do tratamento, e para determinar o prognóstico (Sozman *et al.* 2005; North & Banks, 2009; Bryan, 2010; Biller *et al.*, 2016).

A análise da clonalidade através da técnica de PCR (Reação de polimerização em cadeia) ou PARR (“PCR for antigen receptors rearrangements”), é uma técnica de elevada sensibilidade e especificidade para deteção de células malignas, sendo de grande utilidade para a diferenciação de proliferações clonais de proliferações reativas (Burnett *et al.*, 2003; Marconato *et al.*, 2012; Vail *et al.*, 2013). É particularmente útil em situações de linfomas que citologicamente seriam ambíguos para classificar, nomeadamente linfomas em estadio inicial, ou facilmente confundíveis com hiperplasia linfoide, em aspirados celulares contendo pouca quantidade de linfócitos atípicos e também em casos de biópsias não representativas da lesão (Burnett *et al.*, 2003). É uma técnica que pode ser realizada em aspirados celulares, sangue ou biópsias (Marconato *et al.*, 2012; Nelson & Couto, 2014). Adicionalmente, é também utilizada para avaliar a presença de doença residual, durante e após quimioterapia, complementando desta forma o diagnóstico, estadiamento e prognóstico (Marconato, 2011; Langner *et al.*, 2014).

O conhecimento do potencial de proliferação de um tumor pode ser importante no que diz respeito à escolha do melhor protocolo terapêutico, visto que esse mesmo potencial influencia a resposta à terapêutica instituída e vice-versa (Sokolowska *et al.* 2012). Como tal, o diagnóstico tumoral deveria ser feito, sempre que possível, em conjunto com informação acerca da capacidade proliferativa do mesmo, seja através da medição do índice mitótico, da expressão do PCNA (“proliferating cell nuclear antigen”) ou do Ki67 (Sokolowska *et al.* 2012).

Após o diagnóstico e a recolha de informação através de exames complementares, deve ser feito o estadiamento da doença de acordo com a extensão e grau de envolvimento dos órgãos internos, de forma a obtermos um prognóstico mais preciso (Vail *et al.*, 2013; Graff *et al.*, 2014). A Tabela 4 mostra o sistema de estadiamento da OMS que tem sido

habitualmente usado em cães e gatos desde as últimas duas décadas. Cães avaliados com um grau de estadiamento I ou II, possuem um melhor prognóstico comparativamente aos cães com estadios mais avançados (III, IV e V). O mesmo acontece relativamente aos animais que não apresentam sintomatologia clínica (sub-estadio a) comparativamente aos que já manifestam sintomas (sub-estadio b) (Vail *et al.*, 2013).

Tabela 4 - Estadiamento clínico do linfoma canino segundo a Organização Mundial de Saúde (adaptado de Vail *et al.* 2013).

Grau de estadiamento do linfoma canino
I – Envolvimento de um único gânglio ou tecido linfoide num único órgão
II – Envolvimento de vários linfonodos numa determinada região
III – Envolvimento generalizado dos linfonodos
IV – Envolvimento hepático e/ou esplénico
V – Envolvimento da medula óssea e/ou outros órgãos (ex: pulmão, olhos, sistema nervoso central). Manifestação a nível sanguíneo.
Cada estadio é sub-classificado como:
a - ausência de sinais sistémicos
b - presença de sinais sistémicos;

2.5.1 Alterações laboratoriais

2.5.1.1 Hemograma e Perfil bioquímico

Na análise sanguínea de pacientes com linfoma podem ser detetadas uma série de alterações não específicas. As alterações hematológicas que são comumente encontradas incluem: anemia não regenerativa, leucocitose, monocitose, neutrofilia, eosinofilia (mais comum em gatos), trombocitopenia, presença de células linfoides anormais no sangue periférico, citopenias, entre outros (Morris & Dobson, 2008; Vail *et al.*, 2013; Nelson & Couto, 2014). Segundo Vail, são raros os casos em que se encontra linfocitose, cerca de 20% dos cães afetados (Vail, 2010), e quando presente, normalmente é em valores baixos (inferior a 10,000-12,000/ μ L) (Nelson & Couto, 2014).

As alterações a nível das análises bioquímicas são mais comuns nos cães que nos gatos, e as mais frequentemente encontradas são normalmente hipercalcemia e gamopatias (Nelson & Couto, 2014). No entanto a sua alteração depende dos órgãos que estejam afetados (aumento das transaminases hepáticas no caso de alterações ao nível do fígado e aumento da ureia e creatinina séricas no caso de infiltração renal) (Vail *et al.*, 2013). A hiperproteinémia também pode ocorrer embora seja mais raro (Nelson & Couto, 2014).

2.5.1.2 Urianálise

A urianálise é importante para a avaliação da função renal e do trato urinário. Sendo importante referir que nos cães com hipercalcemia, os níveis elevados de cálcio podem interferir com as capacidades de concentração tubular, devido a falhas no controlo da hormona antidiurética. No entanto, a isoestenúria em cães com azotémia e hipercalcemia, não são indicativos de dano renal por si só (Vail *et al.*, 2013).

2.5.2 Imagiologia

A avaliação radiográfica (torácica e abdominal) é importante para determinar a extensão de envolvimento dos órgãos internos e linfonodos (Morris & Dobson, 2008; Bryan, 2010; Biller *et al.*, 2016).

As alterações radiográficas encontradas nos cães com linfoma variam de acordo com a forma e localização anatômica, no entanto as mais comuns são a linfadenopatia e/ou organomegalia (ex: esplenomegalia, hepatomegalia). Ocasionalmente pode haver infiltração de outros órgãos, nomeadamente pulmão (Nelson & Couto, 2014). De acordo com Vail *et al.* (2013), aproximadamente 60 a 75% dos cães com linfoma multicêntrico possuem alterações nas radiografias torácicas, sendo que um terço apresenta evidências de infiltrados pulmonares (padrão intersticial e/ou alveolar) e dois terços, linfadenopatia na região torácica. Pode também estar presente efusão pleural. Cerca de 50% dos casos revelam sinais radiológicos de envolvimento dos linfonodos ilíacos e/ou mesentéricos, e de baço ou fígado (Vail *et al.*, 2013).

A ultrassonografia é também uma ferramenta muito útil ao possibilitar a detecção de alterações da ecogenicidade no parênquima dos órgãos, que por norma reflete alterações estruturais secundárias a infiltrações neoplásicas (Bryan, 2010; Marconato, 2011; Biller *et al.* 2016). Permite também a rápida e fácil identificação de estruturas linfoides ou órgãos aumentados e pode ser usada como auxílio para punções aspirativas ou biópsias ecoguiadas, possibilitando desta forma a confirmação do diagnóstico e também o estadiamento clínico (Morris & Dobson, 2008; Essman, 2009; Marconato, 2011; Nelson & Couto, 2014).

A tomografia computadorizada (TAC), comparativamente ao RX, é mais sensível para a detecção da extensão da metastização, assim como para detetar linfadenopatia mediastínica e outras massas que possam estar presentes (Forrest & Kraft, 2013). Permite também perceber a relação do tumor com as estruturas adjacentes. Para além dos métodos referidos anteriormente, são também de grande utilidade a ressonância magnética e a tomografia computadorizada por emissão de fotões (denominada habitualmente por PET) (Bryan, 2010; Forrest & Kraft, 2013; Biller *et al.*, 2016). Esta última, possui a vantagem de possibilitar a detecção precoce de lesões neoplásicas através de alterações metabólicas nos órgãos envolvidos, ainda antes de estes apresentarem alterações estruturais (Marconato *et al.*, 2012). Apesar de ser um meio de diagnóstico poderoso, é extremamente dispendioso e como tal, menos acessível (LeBlanc, 2010; Marconato, 2011; Marconato *et al.*, 2012).

2.5.3 Imunofenotipagem

Esta é uma técnica valiosa para distinguir entre um linfoma com origem em células B ou T, consoante a determinação das moléculas presentes (ex: CD 79a, CD20 e CD21 específicas para células B e CD3, CD4 e CD8 específico para células T), e que possui uma grande aplicabilidade na prática clínica (Scase *et al.*, 2005; North & Banks, 2009; Vail *et al.*, 2013; Nelson & Couto, 2014). Está documentado que o imunofenótipo dos linfócitos está significativamente correlacionado com o tempo de sobrevivência e prognóstico (Turek *et al.*, 2008; Papakonstantinou *et al.*, 2013; Biller *et al.*, 2016).

A imunofenotipagem pode ser realizada através de imunohistoquímica (biópsia de tecido), imunocitoquímica (citologia aspirativa), e citometria de fluxo, aplicando anticorpos contra os marcadores específicos dos linfócitos (Papakonstantinou *et al.*, 2013; Vail *et al.*,

2013). Pode ainda ser feita através da técnica de PAAR, que como já referido anteriormente, permite diferenciar proliferações clonais de proliferações reativas e desta forma perceber o fenótipo de linfomas que citologicamente seriam dúbios (Turek *et al.*, 2008; Avery *et al.*, 2013).

Um estudo realizado por Willmann *et al.* (2009), mostrou que a coloração da proteína Pax5 serve como marcador das células B nos casos de LNH que co-expressam os marcadores CD3 (específico para linfoma do tipo T) e CD79a (específico para linfoma do tipo B). Como tal, este trabalho sugere que o Pax5 pode ser considerada uma ferramenta de diagnóstico nestes casos de linfoma que permaneceriam sem classificação usando marcadores imunohistoquímicos já estabelecidos. Contudo, são necessárias investigações mais aprofundadas a fim de validar estes achados.

A imunohistoquímica é uma técnica particularmente importante para a subclassificação de linfomas. É um procedimento de coloração que emprega anticorpos para identificar moléculas específicas, podendo ser realizada em secções de tecidos congelados ou fixados em formol (Scase *et al.*, 2005; Avery *et al.*, 2013). É igualmente útil na determinação da capacidade proliferativa do tumor (Scase *et al.*, 2005; Avery *et al.*, 2013). No entanto, como todas as técnicas de diagnóstico, a imunohistoquímica tem algumas desvantagens, nomeadamente a fixação em formol por tempo excessivo poder levar à perda de proteínas e, consequentemente, à adulteração dos resultados (Ehrhart *et al.* 2013). Para além disto, é uma técnica que requer a colheita de tecido tumoral, o que é feito através de métodos mais invasivos (biópsia), mais morosos e potencialmente mais dispendiosos do que as técnicas que efetuam a análise em aspirados celulares, como a imunocitoquímica, a citometria de fluxo e o PAAR (Avery *et al.*, 2013; Ehrhart *et al.* 2013; Friedrichs & Young, 2013).

A citometria de fluxo é um método de referência em medicina humana e é utilizada rotineiramente para imunofenotipagem deste tipo de neoplasias (Sozmen *et al.*, 2005). É uma técnica muito vantajosa pois possibilita a análise de vários parâmetros numa só vez através de laser, nomeadamente as características das células, incluindo o seu tamanho, granularidade e as proteínas que estejam presentes na superfície celular (Avery *et al.*, 2013; Poggi *et al.*, 2013). Este último parâmetro, por exemplo, não é passível de ser analisado através da imunohistoquímica (devido à fixação em formol danificar as proteínas) (Avery *et al.*, 2013).

2.6 Tratamento

Uma vez estabelecido o diagnóstico de linfoma, as potenciais opções terapêuticas devem ser discutidas com os proprietários do animal tendo em conta determinados fatores, tais como: a eficácia clínica dos protocolos para cada tipo de linfoma (taxas de resposta) e possíveis efeitos adversos, impacto financeiro, doenças concomitantes e estado clínico do paciente. (Argyle *et al.*, 2008; Nelson & Couto, 2014; Wypij, 2015; Biller *et al.*, 2016).

São várias as opções disponíveis quando falamos em tratamento oncológico. Quimioterapia convencional, quimioterapia metronómica, radioterapia, imunoterapia, cirurgia, medicinas alternativas (nomeadamente homeopatia, acupuntura, laser, entre outras) e técnicas moleculares, são todas opções terapêuticas que podem ser consideradas para o tratamento do paciente oncológico (Withrow *et al.*, 2013; Nelson & Couto, 2014; Biller *et al.*, 2016). Todavia, independentemente do tratamento instituído, é extremamente raro alcançar a cura e a progressão da doença é inevitável (Vail *et al.*, 2009; Waugh *et al.*, 2015). O objetivo principal da escolha terapêutica é obter o maior tempo de remissão possível sem comprometer a qualidade de vida do animal (Marconato *et al.*, 2012).

2.6.1 Quimioterapia

A quimioterapia convencional é o tratamento de eleição do linfoma e os doentes apresentam de uma forma geral, taxas de resposta elevadas (Rodriguez, 2010; Burton *et al.*, 2012). Os diferentes agentes citotóxicos usados na quimioterapia convencional atuam de forma a causar danos no ADN (ácido desoxirribonucleico) celular impedindo a replicação celular e/ou causando a apoptose. É mais eficaz em neoplasias de crescimento rápido devido às células de divisão rápida serem mais sensíveis aos danos no ADN (Wang *et al.*, 2015), razão pela qual afecta também as células do trato gastrointestinal e da medula óssea, podendo causar efeitos secundários agudos ou crónicos (Elias *et al.*, 2014). A mielosupressão por exemplo, é dos efeitos secundários mais comuns na quimioterapia, sendo habitualmente expressa como uma diminuição dos neutrófilos em circulação (Wang *et al.*, 2015).

A escolha do protocolo de quimioterapia para cada doente com linfoma depende de vários fatores, nomeadamente do tipo de linfoma, da sua localização e estadio, do grau, de

potenciais síndromes paraneoplásicas, entre outros (Vail *et al.*, 2013). De uma forma geral, os protocolos de quimioterapia combinados possuem uma maior eficácia que os protocolos que usam um só agente (Elias *et al.*, 2014). Estes últimos possuem taxas de resposta inferiores e com menor durabilidade, comparativamente aos protocolos combinados (Vail *et al.*, 2013).

Os protocolos combinados mais utilizados são o COP (ciclofosfamida, vincristina e prednisolona) e o CHOP (ciclofosfamida, vincristina, prednisolona e doxorubicina) (Turek *et al.*, 2008; Marconato *et al.*, 2013; Vail *et al.*, 2013), sendo que o segundo possui a capacidade de induzir taxas de resposta mais altas (na ordem dos 80 a 95%) e remissões completas mais longas (entre 6 a 12 meses) comparativamente ao COP (taxas de remissão completa na ordem dos 70 a 75% e de duração inferior, cerca de 6 a 7 meses) (MacDonald *et al.*, 2005; Bryan, 2010; Marconato, 2011; Vail *et al.*, 2013; Curran *et al.*, 2015). As tabelas 5 e 6 ilustram exemplos de um protocolo CHOP e COP respectivamente.

Tabela 5 – Protocolo CHOP modificado de 19 semanas, da Universidade Wisconsin-Madison. Adaptado de Vail *et al.*, 2013.

Semana	Fármaco e dose a administrar
1	Vincristina 0.7 mg/m ² IV Prednisolona 2 mg/kg PO, q24hr
2	Ciclofosfamida* 250 mg/m ² IV Prednisolona 1.5 mg/kg PO, q24hr Week
3	Vincristina 0.7 mg/m ² IV Prednisolona 1.0 mg/kg PO, q24hr
4	Doxorubicina ^a 30 mg/m ² IV Prednisolona 0.5 mg/kg PO, q24hr
5	Sem tratamento
6	Vincristina 0.7 mg/m ² IV
7	Ciclofosfamida* 250 mg/m ² IV
8	Vincristina 0.7 mg/m ² IV
9	Doxorubicina 30 mg/m ² IV
10	Sem tratamento
11	Vincristina 0.7 mg/m ² IV
12	Ciclofosfamida* 250 mg/m ² IV
13	Vincristina 0.7 mg/m ² IV
14	Doxorubicina 30 mg/m ² IV
15	Sem tratamento
16	Vincristina 0.7 mg/m ² IV
17	Ciclofosfamida* 250 mg/m ² IV
18	Vincristina 0.7 mg/m ² IV
19	Doxorubicina 30 mg/m ² IV

*É administrada Furosemida (1mg/kg) IV, simultaneamente à administração de ciclofosfamida para reduzir a incidência de cistite hemorrágica estéril; ^aEm cães com peso inferior a 15 kg, a dose de doxorubicina de 30 mg/m² é substituída por 1mg/kg;

Tabela 6 - Protocolo COP de alta e baixa dose para linfoma em cães. Adaptado de Vail, 2011.

Protocolo	Frequência de administração
COP alta dose	
Ciclofosfamida*250-300 mg/m ² IV ou PO	Administrar 1 vez a cada 3 semanas durante um ano. Se o animal entrar em remissão completa no 1º ano, diminuir as administrações para 1 vez a cada 4 semanas por 6 meses. Descontinuar terapêutica se o animal entrar em remissão completa em 1,5 anos.
Vincristina 0,75 mg/m ² IV	Administrar uma vez por semana, 4 doses e posteriormente, 1 vez a cada 3 semanas durante um ano, no mesmo dia da administração da ciclofosfamida. Se o cão entrar em remissão completa num ano, diminuir para 1 vez a cada 4 semanas durante 6 meses. Descontinuar se o animal entrar em remissão completa em 1,5 anos.
Prednisona/Prednisolona 1mg/kg PO	Administrar diariamente durante 22 dias e posteriormente q48 durante 1,5 anos. Descontinuar gradualmente durante 3 semanas se o animal entrar em remissão completa em 1,5 anos.
COP baixa dose	
Ciclofosfamida*50 mg/m ² IV ou PO	Administrar q48h ou nos primeiros 4 dias de cada semana.
Vincristina 0,5 mg/m ² IV	Administrar a cada 7 dias.
Prednisona/Prednisolona	Administrar 40 mg/m ² PO q24h, durante 7 dias, depois q48h na dose 20 mg/m ² .
Manutenção	Após 8 semanas de indução, continuar o COP em semanas alternadas durante 4 meses, depois a cada 3 semanas durante 6 meses e, por fim, reduzir a 1 semana em 4 após 1 ano.

Tumores de alto grau têm uma apresentação clínica mais agressiva, contudo respondem melhor aos protocolos de quimioterapia combinados (ex: CHOP ou COP) e alcançam taxas de remissão completas mais elevadas (Sokolowska *et al.* 2012), sendo os protocolos baseados no CHOP os mais utilizados em medicina veterinária (McDonald *et al.*, 2005; Turek *et al.*, 2008; Marconato *et al.*, 2013; Curran *et al.*, 2015). Já os tumores de baixo grau são menos sensíveis ao tratamento com quimioterapia, mas a esperança média de vida do paciente é maior comparativamente aos de alto grau (Sokolowska *et al.* 2012; Vail *et al.*, 2013). Adicionalmente, de acordo com Vail *et al.*, cães com linfomas do tipo T têm menos probabilidade de alcançar a remissão completa com quimioterapia, comparativamente aos linfomas do tipo B (à exceção de linfomas T de baixo grau).

A resposta à quimioterapia deve ser avaliada tendo em conta os sinais clínicos, as análises sanguíneas e exames imagiológicos (Turek *et al.*, 2008). Consideram-se quatro tipos de resposta, conforme representado na Tabela 7.

Tabela 7 - Definições gerais de resposta à terapêutica. Adaptado de Vail *et al.*, 2009.

Resposta da doença	Definição
Resposta completa	Todas as evidências de doença desaparecem. Todos os linfonodos devem apresentar-se dum tamanho não-patológico consoante o julgamento do(s) avaliador(es). Baço e fígado devem ser considerados dentro dos limites normais.
Resposta parcial	Diminuição de pelo menos 30% do diâmetro dos linfonodos afetados.
Doença estável	Sem diminuição suficiente dos linfonodos para ser considerado resposta parcial nem com aumento suficiente para ser considerado doença progressiva.
Doença progressiva	Evidências de um aumento de pelo menos 20% do diâmetro dos linfonodos. Progressão evidente da doença noutros órgãos.

Contudo, a grande maioria dos animais acabam por sofrer uma recidiva da doença e nestes casos a eficácia dos protocolos de resgate é geralmente mais limitada, principalmente quando já existe resistência aos quimioterápicos (Tomiyasu *et al.*, 2014). A taxa de resposta global ronda os 31% a 41% e a duração média de resposta após o início do protocolo de resgate, é referida como tendo uma duração de cerca de dois meses (Tomiyasu *et al.*, 2014).

A resistência aos quimioterápicos (MDR – “multidrug resistance”) e consequente diminuição da eficácia do tratamento, surge devido a vários mecanismos (Tabela 8), sendo um deles o aparecimento de clones tumorais, que podem adquirir resistência multi-farmacológica, nomeadamente a citotóxicos (Gramer *et al.*, 2013; Tomiyasu *et al.*, 2013; Vail *et al.*, 2013; Sokolowska *et al.*, 2015). Estes clones apresentam sobre-expressão da glicoproteína-P (devido a mutação do gene MDR1), a qual confere resistência a muitos dos quimioterápicos utilizados e consequentemente leva a uma diminuição da resposta dos pacientes ao tratamento (Gramer *et al.*, 2013; Sokolowska *et al.*, 2015).

Tabela 8 - Mecanismos de resistência aos quimioterápicos (adaptado de Wypij, 2015).

Mecanismos de resistência aos quimioterápicos
Dose e/ou frequência da quimioterapia inadequada (ex: atrasos nos tratamentos)
Concentração inadequada do quimioterápico nos tecidos alvo
Sobre-expressão das proteínas de reparação celular
Insuficiente acumulação intracelular dos quimioterápicos
Aumento da “clearance” sistêmica e/ou intracelular do quimioterápico
Desregulação dos inibidores de apoptose e/ou das proteínas pró-apoptóticas
Aumento da reparação dos danos no ADN

Apesar das altas taxas de remissão inicial destes protocolos de tratamento, no fundo acabam por ser paliativos, visto que metade dos pacientes tratados têm recidivas e acabam por sucumbir à doença cerca de 1 ano após o diagnóstico (Burton *et al.*, 2012). Este facto associado aos recursos financeiros exigidos e ao compromisso em fazer sessões semanais de quimioterapia, justifica a relutância de muitos proprietários em iniciar este tipo de tratamento (Burton *et al.*, 2012).

Em algumas formas de linfoma extra nodal, por exemplo linfoma nasal, mediastínico, ocular e do SNC (sistema nervoso central), também radioterapia e/ou cirurgia podem ser consideradas como tratamento primário e/ou adjuvante, sempre com o devido acompanhamento e vigilância a nível de envolvimento sistémico (Vail *et al.*, 2013).

2.6.2 Imunoterapia

Nos últimos dez anos têm sido feitos esforços, tanto em medicina humana como em veterinária, no sentido de desenvolver protocolos de imunoterapia que levem o sistema imunitário a tornar-se mais eficiente em reconhecer e eliminar as células neoplásicas (Marconato *et al.*, 2013; Anderson & Marconato, 2015; Biller *et al.*, 2016).

Um estudo duplamente cego realizado em cães diagnosticados com linfoma tipo B, utilizou vacinas constituídas por hidroxiapatita em pó e proteínas de choque térmico, retiradas dos tumores dos próprios pacientes (Marconato *et al.*, 2013). Apesar de a amostragem deste

trabalho ser pequena, chegou-se à conclusão que os animais que receberam a vacina e efetuaram quimioterapia simultaneamente, tiveram um tempo de progressão e um tempo de sobrevivência significativamente melhores que o grupo placebo (que apenas realizou quimioterapia), assim como tempos de remissão maiores (Marconato *et al.*, 2013).

Sorenmo *et al.* (2011), testou também um protocolo de vacinação mas com vacinas constituídas por células B ativadas com CD40 de células tumorais autólogas. Não obtiveram resultados tão significativos como o estudo anterior, pois não houve diferenças relevantes nos tempos de sobrevivência e nos tempos de progressão entre o grupo vacinado e o não vacinado. No entanto, a vacinação potenciou os efeitos da terapia de resgate e melhorou a taxa de segundas remissões duráveis (Sorenmo *et al.*, 2011).

Com o aumento do conhecimento da biologia tumoral e do sistema imunitário, a imunoterapia caminha no sentido de revolucionar a oncologia veterinária, permitindo obter respostas melhores, mais duradouras e com menos efeitos adversos no tratamento dos pacientes oncológicos (Anderson & Marconato, 2015; Biller *et al.*, 2016).

2.7 Prognóstico

O prognóstico de canídeos diagnosticados com linfoma depende de diversos fatores (Vail *et al.*, 2013). Os atualmente aceites como tendo maior valor prognóstico incluem: estadiamento e sub-estadiamento clínico segundo a OMS, grau histopatológico, imunofenótipo, localização anatómica, síndromes paraneoplásicas, entre outros (Sato *et al.*, 2012; Vail *et al.*, 2013). Os fatores de prognóstico negativos com maior relevância são: imunofenótipo T, estadio clínico V, sub-estadio b, anemia, hipercalcemia, linfadenopatia mediastínica cranial, alto índice proliferativo e pré-tratamento com corticosteroides (Garret *et al.*, 2002; Siedlecki *et al.*, 2006; Martini *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015). Estes devem ser avaliados aquando do diagnóstico e antes do tratamento, dado serem fatores decisivos para preverem a resposta do doente à quimioterapia (Barber & Weishaar, 2014; Wang *et al.*, 2015). Relativamente a fatores preditivos de resposta à quimioterapia, ainda não existem estudos que apontem resultados conclusivos (Wang *et al.*, 2015).

Investigações recentes, documentam o valor como marcador preditivo do antigénio Ki67 (um indicador de proliferação celular) em cães com linfoma B de alto grau, tratados com

quimioterapia. Através da medição da sua expressão por citometria de fluxo, verificou-se que valores intermédios do Ki67 estão associados a um maior tempo de remissão, enquanto que os valores mais altos e os mais baixos estão associados a um tempo de remissão mais curto, e como tal, a um pior prognóstico (Poggi *et al.*, 2016). O mesmo autor, num estudo anterior, concluiu que a avaliação do índice do Ki67 através de citometria de fluxo, permite diferenciar linfomas de alto grau de linfomas de baixo grau de uma forma não-invasiva (Poggi *et al.*, 2013).

Koshino *et al.* realizou um estudo em 45 cães para avaliar se, a expressão do gene p53, pode ser um fator preditivo de resposta ao tratamento com quimioterapia. Este estudo, embora apresente uma amostragem pequena, mostra que a perda de função deste gene reduz a sensibilidade das células tumorais à quimioterapia, sugerindo que a inativação deste gene possa estar associada a quimioresistência (Koshino *et al.*, 2016).

Outro trabalho, demonstrou que a expressão do mRNA do gene p16 acima de determinado valor *cut-off*, é indicativo de um pior prognóstico em canídeos com linfoma de alto grau (Fujiwara-Igarashi *et al.*, 2014).

Uma vez feito o diagnóstico, sem instituir qualquer terapêutica, o tempo de sobrevivência média em cães e gatos é de aproximadamente 6 a 8 semanas (Siedlecki *et al.*, 2006; Morris & Dobson, 2008). De uma forma geral, os cães tratados apenas com corticoterapia, sobrevivem até cerca de 3 meses, enquanto que o tratamento com quimioterapia permite aumentar a esperança média de vida para cerca de 6 a 9 meses (Morris & Dobson, 2008). As taxas de remissão em canídeos tratados com diferentes protocolos quimioterápicos rondam aproximadamente de 80 a 90% (Nelson & Couto, 2014). É de referir que num estudo de 2011, numa amostragem de 127 cães tratados com quimioterapia, 13 alcançaram um período de remissão completa por mais de 2 anos (Marconato *et al.*, 2011). Contudo, apesar das inúmeras opções terapêuticas e da quimioterapia prolongar consideravelmente o tempo de sobrevida, o linfoma é uma doença invariavelmente fatal (Marconato *et al.* 2013).

Capítulo 3 - Materiais e Métodos

Os casos expostos nesta dissertação foram de animais acompanhados no Hospital de Referência Veterinária Montenegro, durante os 4 meses de estágio. As informações utilizadas para a caracterização de cada caso foram obtidas em consulta, fichas de internamento e através da análise dos registos das consultas e ficheiros clínicos do hospital (com o programa WINVET[®]).

Inicialmente foram recolhidos e analisados 12 registos de consultas de canídeos e felídeos diagnosticados com linfoma, no período compreendido entre 1 de Setembro de 2015 e 31 de Dezembro de 2015. Contudo apenas foram incluídos 5 canídeos, dado que os restantes foram eutanasiados antes de ter sido instituído qualquer tipo de tratamento.

Para os 5 casos descritos foram recolhidas as seguintes informações: sexo, idade, raça, peso, história pregressa, diagnóstico, tipo de linfoma (sempre que possível), meios complementares de diagnóstico utilizados, análises efetuadas, protocolo de tratamento selecionado e efeitos adversos secundários à quimioterapia. Todos os casos foram diagnosticados através de PAAF de linfonodos em conjugação com outras técnicas, nomeadamente histopatologia, imunofenotipagem e exames imagiológicos (RX, ecografia e TAC).

Capítulo 4 - Apresentação dos casos clínicos

4.1 Caso clínico 1 – Ruby

Resenha: Ruby é um canídeo macho, orquiectomizado, da raça Labrador Retriever, de 6 anos de idade e 39 Kg de peso vivo. Temperamento agressivo.

Motivo da consulta que acompanhei: Veio à consulta no dia 18 de Setembro de 2015 para fazer a administração de vincristina (VCR), correspondente à sessão 19 do protocolo CHOP de 25 semanas (Tabela 9).

História pregressa e anamnese: De acordo com os registos clínicos, o Ruby é um animal de interior, sem antecedentes de doenças ou alergias. Em casa é habitualmente alimentado com ração de dieta para cães esterilizados. Tem o protocolo de vacinação geral em dia, juntamente com a vacina para a leishmaniose, sendo desparasitado internamente de 6 em 6 meses, e mensalmente externamente. Foi referenciado para o Hospital Montenegro com suspeita de linfoma. Apresentou-se na primeira consulta com anorexia total, diarreia e dispneia. Nessa altura, ao exame físico tinha as mucosas ligeiramente pálidas, com um TRC inferior a 2 segundos e apresentava um grau de desidratação de 5%. Foi observado algum desconforto abdominal durante a palpação e detetou-se uma linfadenomegalia periférica generalizada (linfonodos sub-mandibulares, pré-escapulares e poplíteos). Os gânglios não apresentavam alterações a nível de consistência, nem aderências. Não foi realizada a sua medição de forma objetiva, ou seja com régua antropométrica. À auscultação cardiopulmonar notou-se algum abafamento dos sons cardíacos e pulmonares, de ambos os lados do tórax.

No dia da admissão do Ruby (15 de Maio de 2015), foi realizada uma citologia aspirativa por agulha fina aos gânglios linfáticos submandibular e poplíteo (direito e esquerdo), juntamente com biópsia dos mesmos a fim de confirmar a hipótese diagnóstica. Os resultados, quer da citologia quer da histopatologia, concluíram tratar-se de linfoma multicêntrico linfoblástico de células B, segundo a classificação de Kiel (ver em Apêndice I a descrição dos exames complementares). Foram também realizadas duas radiografias de tórax (projeção laterolateral direita e ventro-dorsal) (Figura 2), em que se verificou a presença de efusão pleural, cujo resultado da análise citológica foi de transudado modificado. O paciente ficou internado e iniciou-se drenagem torácica diária. Foi instituída fluidoterapia e tratamento sintomático com butorfanol (0,3mg/kg, SC, SID), omeprazol (1 cápsula de 20mg, SID),

sucralfato (1 saqueta, BID), metoclopramida (3,9 mL, SC), cefazolina (3,9 mL, BID), metronidazol (3 comprimidos, BiD) e enrofloxacin (3,9 mL, SID).

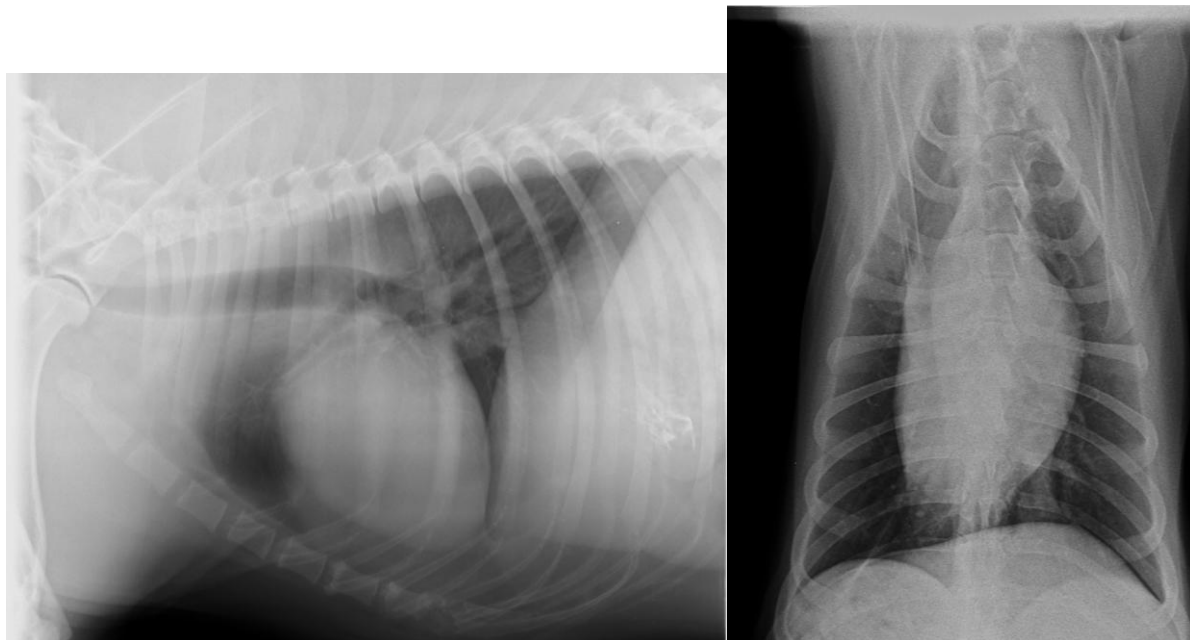


Figura 2 - Imagens radiográficas da cavidade torácica do Ruby, nos planos latero-lateral direito e ventro-dorsal. Observa-se a presença de derrame pleural e aumento da silhueta cardíaca.

Após estabilização (dia 16 de Maio) foi colhida uma amostra de sangue para hemograma e análises bioquímicas, e uma amostra de urina por cistocentese, para urianálise e urocultura (Apêndice I). As análises acusaram monocitose, aumento das transaminases hepáticas (ALT e ALKP), aumento da ureia e creatinina e aumento do cálcio sérico (Tabela 14 e 15, Apêndice I). Na urianálise verificou-se uma densidade urinária baixa (1013) e um rácio proteína/creatinina de 0,6 (proteinúrico) segundo IRIS Staging of CKD 2013. A urocultura foi negativa. No mesmo dia, foi também realizado um TAC toraco-abdominal (Figura 5-8) que evidenciou uma linfadenomegalia marcada dos gânglios mesentéricos que se apresentavam disformes. Não foi visível nenhuma alteração ao nível de fígado ou baço. Não foi registado o estadiamento clínico do linfoma, no entanto segundo a descrição dos exames complementares, depreende-se que seria pelo menos de grau III (ou possivelmente IV, mas não se verificou se havia envolvimento hepático e/ou esplénico). No mesmo dia deu início ao protocolo CHOP (Tabela 9) com a administração de 0,81mL de vincristina (VCR).

Três dias após a data de internamento, foram repetidas as análises cujos valores normalizaram, à exceção dos valores da creatinina que continuaram ligeiramente aumentados (Apêndice I). Repetiu-se também as radiografias torácicas, tendo-se verificado a ausência de efusão pleural. Teve alta com a medicação que já estava a fazer enquanto internado, juntamente com prednisolona 20mg (1 comprimido e meio SID, durante 2 dias e depois de acordo com o protocolo de quimioterapia). Na semana 3 do protocolo, para além da sessão com VCR, administrou-se L-asparaginase por via IM. A toma só foi realizada nesta semana pois foi a proprietária que se responsabilizou em adquirir o fármaco e apenas conseguiu nesta altura.

Tabela 9 – Protocolo de quimioterapia instituído ao Ruby desde o diagnóstico.

Protocolo Ruby				
Sessão	Data	Dose do fármaco administrado	Quantidade administrada	Leucócitos
—	15/05/2015	—	—	16,4 mil/ul
Sessão 1	16/05/2015	*Vincristina 0,7mg/m ² IV Prednisolona 2mg/kg PO SID	0,81 mL 4 comp	NR
Sessão 2	23/05/2015	Ciclofosfamida 250mg/m ² Prednisolona 1,5 mg/kg PO SID	5 comp 3 comp	NR
Sessão 3	29/05/2015	Vincristina 0,7 mg/m ² IV L-asparaginase 400 UI/kg IM Prednisolona 1 mg/kg PO SID	0,81 mL NR 2 comp	NR
Sessão 4	05/06/2015	Doxorrubicina 30mg/m ² IV Prednisolona 0,5 mg/kg PO SID	17,25 mL 1 comp	NR
Sessão 6	19/06/2015	Vincristina 0,7mg/m ² IV	0,81 mL	NR
Sessão 7	26/06/2015	Ciclofosfamida 250mg/m ²	5 comp	NR
Sessão 8	03/07/2015	Vincristina 0,7mg/m ² IV Imunoestimulante IV	0,81 mL 1,5 mL	SA
Sessão 9	10/07/2015	**Doxorrubicina 30mg/m ² IV Imunoestimulante IV	17,25 mL 1,5 mL	NR
Sessão 11	21/07/2015	Vincristina 0,7mg/m ² IV Imunoestimulante IV	0,81 mL 1,5 mL	4,4 mil/ul
Sessão 13	07/08/2015	Ciclofosfamida 250mg/m ²	5 comp	NR
Sessão 15	21/08/2015	Vincristina 0,7mg/m ² IV Imunoestimulante IV	0,81 mL 1,5 mL	NR

Protocolo Ruby				
Sessão	Data	Dose do fármaco administrado	Quantidade administrada	Leucócitos
Sessão 17	04/09/2015	Doxorrubicina 30mg/m ² IV	17,25 mL	NR
		Imunoestimulante IV	1,5 mL	
Sessão 19	18/09/2015	Vincristina 0,7mg/m ² IV	0,81 mL	NR
		Imunoestimulante IV	1,5 mL	
Sessão 21	02/10/2015	Ciclofosfamida 250mg/m ²	5 comp	NR
Sessão 23	16/10/2015	Vincristina 0,7mg/m ² IV	0,81 mL	SA
		Imunoestimulante IV	1,5 mL	
Sessão 25	30/10/2015	Doxorrubicina 30mg/m ² IV	17,25 mL	SA
		Imunoestimulante IV	1,5 mL	
Manutenção	10/12/2015	Mitoxantrona 5mg/m ²	NR	SA

Legenda: SA - Sem alterações; NR - Não registado; comp – comprimido; * na concentração de 1mg/mL; ** na concentração de 2mg/mL;

Durante as primeiras quatro semanas de tratamento o Ruby foi-se mantendo estável e com os gânglios de dimensões normais (possivelmente em remissão completa). Na 4ª semana, detectou-se um aumento das enzimas hepáticas pelo que se introduziu um suplemento alimentar constituído por ácido ursodesoxicólico (Ursofalk® 250mg, 1 comprimido, SID). Na semana 11 do protocolo, apresentou leucopenia, neutropenia e trombocitopenia ligeiras (Tabela 14, Apêndice I). Dado que clinicamente se encontrava bem, manteve-se as doses normais do protocolo e optou-se por não introduzir antibioterapia visto que as alterações eram ligeiras. Na semana 15, foram realizadas duas projecções de radiografias torácicas (sem evidências de quaisquer alterações) e ecografia abdominal de controlo em que se observou alguma heterogeneidade do parênquima hepático, sem alterações visíveis no tamanho dos órgãos e linfonodos. Adicionou-se outro protetor hepático constituído por S-Adenosil-metionina (Denosyl® 225 mg, 3 comprimidos, SID). O Ruby foi-se mantendo estável clinicamente e foi seguindo o protocolo de quimioterapia sem alterações de doses ou atrasos nos dias das administrações.

Na semana 23 após o diagnóstico (16 de Outubro), na consulta o Ruby apresentava um estado mental alerta mas estava ansioso, tendo sido necessário colocar açaime para proceder ao exame físico. Todos os parâmetros do exame físico estavam normais com exceção de linfadenomegalia dos gânglios submandibulares e poplíteos, estando os restantes normais. Não foram recolhidas amostras citológicas dos gânglios alterados. Foi realizada a penúltima administração de vincristina, juntamente com Infermun® IV.

Evolução: Até dia 29 de Outubro o Ruby manteve-se clínica e analiticamente bem, possivelmente em remissão completa, dado que os linfonodos se encontravam de tamanho normal. Concluiu neste dia o protocolo de quimioterapia que tinha sido inicialmente proposto. Após discussão do caso com um colega mais experiente em oncologia, optou-se por continuar o tratamento com um protocolo de manutenção. Foi aconselhado fazer monoterapia com mitoxantrona de 21 em 21 dias, numa dose de 5 mg/m^2 , por via intravenosa. No dia 10 de Dezembro, fez-se controlo analítico (hemograma e bioquímicas) em que não foram detetadas quaisquer alterações, e fez a primeira sessão com mitoxantrona, na dose que foi aconselhada. Onze dias após a administração da primeira dose de mitoxantrona, o Ruby deu entrada no hospital em urgência, com um quadro de prostração, febre, vómitos e diarreia profusa com sangue. As análises sanguíneas efetuadas evidenciaram uma leucopenia severa e alterações hepáticas (ALT e ALKP). Após seis horas de internamento com fluidoterapia e tratamento sintomático, o Ruby acabou por não resistir e faleceu no dia 21 de Dezembro de 2015.

4.2 Caso clínico 2 – Kuca

Resenha: Kuca é um canídeo de raça Rafeiro Alentejano, fêmea inteira, de 9 anos e 50 kg de peso. Temperamento um pouco nervoso/agressivo.

Motivo de consulta que acompanhei: Apresentou-se à consulta que acompanhei para a 12ª sessão de quimioterapia, no dia 16 de Outubro de 2015 (Tabela 10).

História pregressa e anamnese: A Kuca é um animal de interior sem registo de antecedentes de doenças ou alergias. É habitualmente alimentada com ração para cão adulto. Possui o protocolo vacinal anual em dia, e faz habitualmente as desparasitações internas de seis em seis meses, e as externas mensalmente. Foi referenciada para o HVM no dia 12 de Dezembro de 2015, por suspeita de linfoma. Não havia descrição de queixas clínicas, tendo sido detectada linfadenomegalia dos gânglios pré-escapulares e poplíteos. Nesta primeira consulta foram realizadas análises gerais para hemograma e bioquímicas, cujo resultado apontou uma leucopenia, linfopenia e ligeira neutropenia (Tabela 16, Apêndice II). Foram também realizadas duas projeções radiográficas de tórax (latero-lateral e ventrodorsal), que não evidenciaram quaisquer alterações, e citologia dos linfonodos poplíteos e pré-escapulares. A análise citológica revelou um resultado compatível com linfoma (Apêndice II). Não foi determinado o imunofenótipo nem foram efetuados mais exames complementares para o estadiamento do linfoma.

Optou-se por fazer indução com o protocolo COP, fazendo a primeira sessão no dia 15 de Dezembro de 2014 (Tabela 10).

Tabela 10 – Protocolo de quimioterapia instituído à Kuca desde o diagnóstico.

Protocolo Kuca				
Sessão	Data	Dose do fármaco administrado	Quantidade administrada	Leucócitos
1ª Sessão	15/12/2014	*Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,63 mL	NR
—	17/12/2014	**Ciclofosfamida 50mg/m ² PO	2 comp	—
2ª Sessão	23/12/2014	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,63 mL	SA
3ª Sessão	30/12/2014	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,63 mL	3,9 mil/ul
—	13/01/2015	Imunoestimulante PO	4 comp SID	2,76 mil/ul
—	03/02/2015	Imunoestimulante IM	2 mL	1,96 mil/ul
—	17/02/2015	Ciclofosfamida 50mg/m ² PO	1 comp	—

Tabela 11 – Protocolo de quimioterapia instituído à Kuca desde o diagnóstico.

Protocolo Kuca				
Sessão	Data	Dose do fármaco administrado	Quantidade administrada	Leucócitos
4ª Sessão	17/03/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 25% da dose	0,47 mL	Leucopenia ligeira
5ª Sessão	31/03/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 25% da dose	0,47 mL	Leucopenia ligeira
6ª Sessão	21/04/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 25% da dose	0,5 mL	Leucopenia ligeira
—	02/06/2015	Suspendeu a ciclofosfamida	—	Leucopenia
7ª Sessão	16/06/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 25% da dose	0,5 mL	Leucopenia ligeira
8ª Sessão	30/06/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,66 mL	Leucopenia ligeira
9ª Sessão	20/07/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,66 mL	Leucopenia ligeira
—	27/07/2015	Retomou Ciclofosfamida 250mg/m ² PO, a cada 3 semanas Furosemida 40 mg PO	6 comp 2 + 1/5 TiD	NR
10ª Sessão	14/08/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 25% da dose	0,5 mL	Leucopenia
—	21/08/2015	Ciclofosfamida 250mg/m ² PO Furosemida 40 mg PO	6 comp 2 + 1/5 TiD	NR
11ª Sessão	15/09/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 25% da dose	0,5 mL	Leucopenia
—	05/10/2015	Ciclofosfamida 250mg/m ² PO, a cada 4 semanas Furosemida 40 mg PO	6 comp 2 + 1/5 TiD	NR
12ª Sessão	16/10/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV Imunoestimulante IV	0,66 mL 2 mL	4,82 mil/ul
—	05/11/2015	Ciclofosfamida 250mg/m ² PO Furosemida 40 mg PO	6 comp 2 + 1/5 TiD	NR
13ª Sessão	10/11/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV Imunoestimulante IV	0,68 mL 2 mL	6,99 mil/ul
14ª Sessão	17/11/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV Imunoestimulante IV	0,68 mL 2 mL	6,63 mil/ul

Legenda: SA - Sem alterações; NR - Não registado; comp – comprimido; * na concentração de 1mg/mL; **Ciclofosfamida 50mg, q48h; Prednisolona 20mg, 3 comprimidos SID na primeira semana e posteriormente, um comprimido e meio a q48h, ao longo de todo o protocolo;

Foi seguindo o protocolo mantendo-se estável, sem alterações ao exame físico nem a nível analítico, até ao dia 6 de Janeiro (após a 3ª sessão) em que foi interrompido um ciclo devido a apresentar uma leucopenia de 3,9 mil/μl. Nos dois controlos seguintes (dia 13 de

Janeiro e 3 de Fevereiro) agravou a leucopenia por duas vezes (2,76 e 1,96 mil/ μ l) e houve um aumento considerável dos gânglios pré-escapular direito, axilares direito e esquerdo e poplíteo direito (cerca de 3 a 4 cm de diâmetro). Introduziu-se um imunoestimulante oral (Impromune[®] 40 mg, 4 comprimidos, SID) juntamente com uma dose injetável por via IM (intra-muscular) (Infermun[®]). Nesta consulta não feita a administração de VCR.

Cerca de 7 semanas após a última administração de vincristina (17 de Fevereiro), os linfonodos mantiveram-se do mesmo tamanho, à exceção do submandibular direito que aumentou ligeiramente. O controlo analítico revelou um agravamento da leucopénia (1,61 mil/ μ l). Optou-se por reduzir a dose de ciclofosfamida (1 comprimido de 50 mg a q48h) alternando os dias de toma da prednisolona (1 comprimido e meio de 20 mg a q48h) para não coincidir, em conjunto com o imunoestimulante oral e antibioterapia (amoxiciclina e ácido clavulânico, 1 comprimido de 1g, BID, durante 10 dias) iniciada preventivamente.

Nas semanas seguintes a Kuca manteve-se clínica e analiticamente estável e os valores dos leucócitos começaram a normalizar, pelo que retomou a toma de VCR no dia 17 de Março, com redução de 25% da dose, sendo esta a sua 4^a sessão (cerca de 2 meses após a última).

No período de seis semanas após a 7^a sessão a Kuca veio a três consultas de controlo sucessivas em que os valores dos leucócitos permaneceram baixos, pelo que se foram adiando as sessões de quimioterapia. No dia 2 de Junho apresentou-se à consulta de controlo, com queixas de disúria, poliaquiúria com dois dias de duração e com um episódio de hematúria. Ao exame físico estava tudo normal à exceção dum ligeiro aumento da temperatura rectal (39,4°C) e aumento do linfonodo poplíteo esquerdo. Os valores dos leucócitos mantiveram-se baixos (4,26 mil/ μ l). Não foi possível proceder a uma recolha de urina por cistocentese, devido à bexiga se encontrar pouco distendida. Suspeitou-se de cistite secundária à ciclofosfamida ou possivelmente uma ITU (infecção do trato urinário), mas não foi realizada cultura urinária. Suspendeu-se a ciclofosfamida e adicionou-se omeprazol (1 cápsula de 20mg, SID, em jejum durante 15 dias) e amoxiciclina e ácido clavulânico 1g (1 comprimido, BID, durante 15 dias), mantendo o imunoestimulante oral.

No controlo seguinte, dia 16 de Junho, a Kuca aumentou de peso e a micção normalizou, no entanto observou-se um ligeiro aumento dos linfonodos pré-escapular e poplíteo esquerdos e a leucopenia manteve-se. Como tal, optou-se por fazer VCR (redução de

25% da dose inicial). No dia 30 de Junho, verificou-se que estava tudo bem ao exame físico à exceção dos linfonodos que se mantiveram aumentados. Fez a administração de VCR (na dose inicial) e em casa manteve a prednisolona e o imunoestimulante.

A 20 de Julho fez novamente sessão com VCR e uma semana depois, reiniciou a ciclofosfamida (6 comprimidos de 50mg, a cada 3 semanas) juntamente com furosemida (2 comprimidos mais 1/5 de 40mg, TiD, no dia da toma da ciclofosfamida). Nas duas sessões seguintes (14 de Agosto e 15 de Setembro), a Kuca manteve o tamanho dos linfonodos e agravou novamente a leucopenia pelo que se optou por fazer nova redução em 25% da dose inicial de VCR.

Evolução: Dez meses após o diagnóstico, foi feita uma reavaliação em consulta. A Kuca apresentava um estado mental alerta, temperamento nervoso e condição corporal normal. Todos os parâmetros do exame físico de estado geral estavam normais com exceção linfadenomegalia nos gânglios pré-escapulares, mandibular esquerdo e poplíteos. De acordo com os proprietários, em casa tem estado tudo bem, apenas repararam no aumento da frequência urinária correspondente aos dias da toma da furosemida e ciclofosfamida. Cerca de 3 semanas depois, veio para controlo analítico e alteração da periodicidade do protocolo COP. Manteve tudo igual excepto as sessões de VCR que passaram a ser semanais. Ficou combinado com os proprietários que caso não se observassem melhorias, seria iniciado o protocolo CHOP.

A Kuca foi-se mantendo estável, contudo no dia 24 de Novembro foi registado um ligeiro aumento de ambos os linfonodos poplíteos e pré-escapular esquerdo. Nesta consulta os proprietários manifestaram incapacidade financeira em manter as sessões de quimioterapia tão frequentes, pelo que foi combinado espaçar as sessões para uma a duas por mês, mantendo a restante medicação em casa. Após este dia a Kuca fez mais uma sessão de VCR a 15 de Dezembro, em que foi novamente registado um aumento dos linfonodos periféricos, pelo que foi aconselhado aos proprietários voltar às sessões semanais. Mais uma vez por impossibilidade financeira, os donos optaram por manter as sessões mensais. A 30 de Dezembro, os donos contactaram o HRVM por via telefónica a fim de avisarem que não seria possível virem fazer a próxima sessão na altura agendada. Como tal, foi dada indicação para manter a prednisolona 20mg (2 comprimidos, SID) todos os dias até à próxima sessão. No dia 3 de Janeiro de 2016, os proprietários contactaram novamente o hospital para informar que a Kuca tinha falecido em casa, após ter descompensado de forma abrupta durante a manhã.

4.3 Caso clínico 3 – Putchi

Resenha: Putchi é um canídeo macho inteiro, de raça indeterminada, com 13 anos de idade e aproximadamente 10 Kg de peso.

Motivo de consulta que acompanhei: Foi levado à consulta no dia 26 de Outubro de 2015, para fazer o 2º ciclo de quimioterapia com o protocolo CHOP (Tabela 11).

História pregressa e anamnese: O Putchi vive em apartamento e é alimentado com ração comercial. O protocolo vacinal e as desparasitações interna e externa encontram-se atualizados. Era habitualmente seguido noutro centro de atendimento médico veterinário (CAMV) onde foi detetado um sopro de grau IV/VI e uma dermatite no abdómen ventral, já com tratamento instituído pelos colegas. Foi diagnosticado linfoma multicêntrico (no dia 20 de Fevereiro de 2015), por citologias aspirativa dos gânglios periféricos (Apêndice III), tendo sido referenciado para o HRVM para fazer estadiamento e possivelmente quimioterapia.

Na primeira consulta (dia 24 de Fevereiro de 2015) foram realizadas duas radiografias de tórax no plano latero-lateral direito e ventro-dorsal, onde não foram detetadas quaisquer metástases (Figura 3). Fez-se ecografia abdominal que evidenciou heterogeneidade do parênquima esplénico e esplenomegalia. Visualizou-se também um aumento dos gânglios mesentéricos (aproximadamente do tamanho duma uva). Não foi realizada imunofenotipagem nem mais exames complementares para o estadiamento clínico da neoplasia, assumindo-se estar presente um linfoma multicêntrico em pelo menos estadio III (com os gânglios submandibulares, pré-escapulares e poplíteos aumentados) ou IV (dada a suspeita de o baço estar afetado) e substadio a. Foi aconselhado a repetição das análises gerais (hemograma e bioquímicas), antes de dar início à quimioterapia. As análises foram feitas nos colegas e acusaram apenas uma ligeira anemia pelo que se deu início ao protocolo COP (Tabela 11) no dia 2 de Março de 2015, fazendo em casa ciclofosfamida (meio comprimido de 50mg, q48h), omeprazol (10mg, 1 comprimido, SID) e prednisolona (20mg, um comprimido durante uma semana e seguidamente, meio comprimido, q48h).

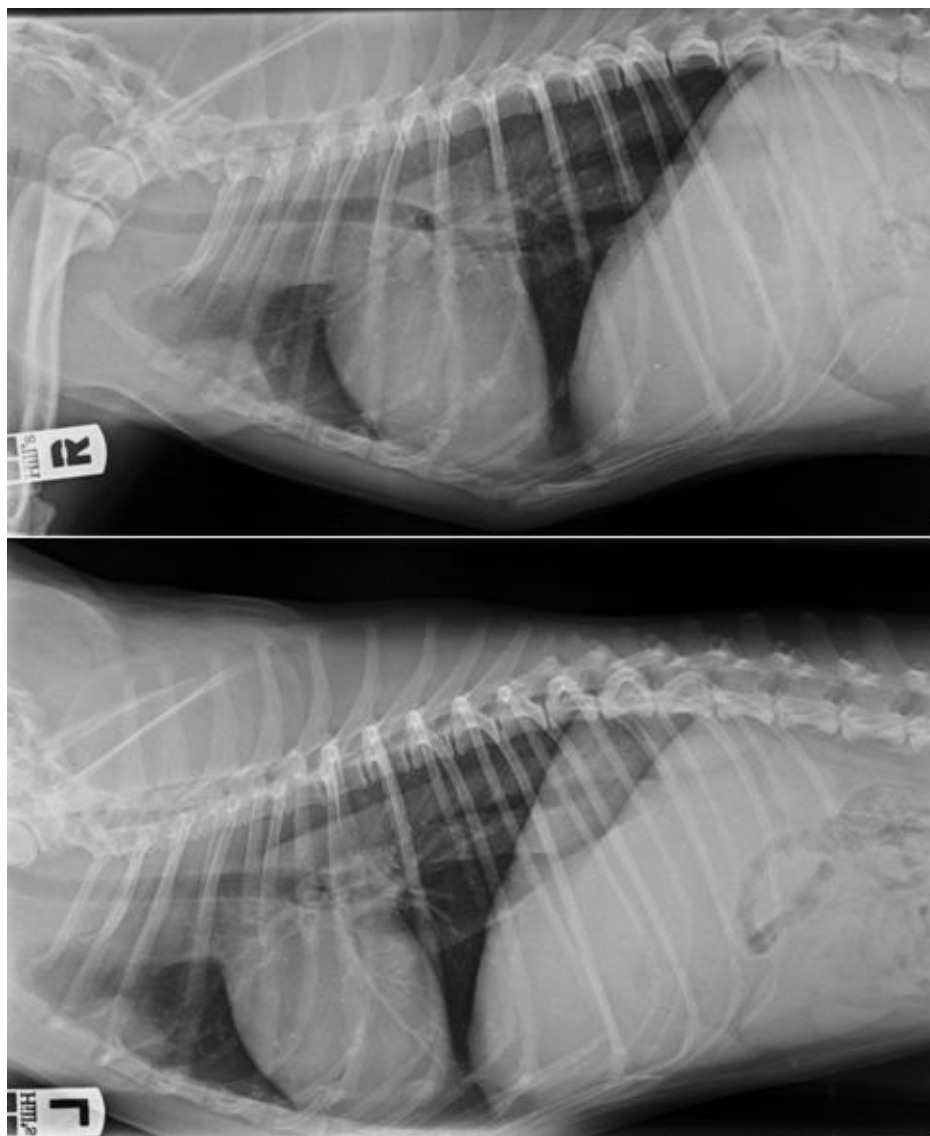


Figura 3 - Imagens radiográficas da cavidade torácica do Putchi, nos planos latero-lateral direito e esquerdo, realizadas no dia 24 de Fevereiro de 2015. Observa-se um ligeiro aumento da silhueta cardíaca. Sem evidências de metástases.

Tabela 12 – Protocolo quimioterapêutico instituído ao Putchi desde o diagnóstico.

Protocolo Putchi				
Sessão	Data	Dose do fármaco administrado	Quantidade administrada	Leucócitos
1ª Sessão	02/03/2015	*Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,23 mL	NR
—	04/03/2015	**Ciclofosfamida 50mg/m ² PO	½ comp	—
2ª Sessão	09/03/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,23 mL	Leucopenia ligeira
3ª Sessão	17/03/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,23 mL	Leucopenia
4ª Sessão	24/03/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,18 mL	Leucopenia ligeira
5ª Sessão	31/03/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,18 mL	Leucopenia ligeira
6ª Sessão	06/04/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,19 mL	Leucopenia ligeira
—	04/05/2015	Iniciou imunoestimulante oral	—	Leucopenia
7ª Sessão	12/05/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,19 mL	Leucopenia ligeira
8ª Sessão	08/06/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,19 mL	Leucopenia ligeira
9ª Sessão	23/06/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,19 mL	Leucocitose ligeira
10ª Sessão	04/07/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,24 mL	Leucopenia ligeira
11ª Sessão	21/07/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,24 mL	SA
12ª Sessão	10/08/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,24 mL	7,65 mil/ul
13ª Sessão	29/08/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,24 mL	SA
14ª Sessão	05/09/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,19 mL	Leucopenia ligeira
15ª Sessão	15/09/2015	Vincristina 0,5mg/m ² IV	0,24 mL	Leucopenia ligeira
Iniciou CHOP	25/09/2015	***Doxorrubicina 30mg/m ² IV	6 mL	SA
	05/10/2015	Vincristina 0,75mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,24 mL	SA
		Imunoestimulante IV	1 mL	
	09/10/2015	Ciclofosfamida 200 mg/m ² PO	2 comp	SA
	12/10/2015	Vincristina 0,75mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,24 mL	NR
		Imunoestimulante IV	1 mL	
	19/10/2015	Imunoestimulante IM Iniciou Denamarin®	1 mL	Leucopenia
2º Ciclo	26/10/2015	Doxorrubicina 30mg/m ² IV	7 mL	11,52 mil/ul
	04/11/2015	Vincristina 0,75mg/m ² IV	0,35 mL	SA
		Imunoestimulante IV	1 ml	
	08/11/2015	Ciclofosfamida 200 mg/m ² PO	2 comp	NR

Protocolo Putchi				
Sessão	Data	Dose do fármaco administrado	Quantidade administrada	Leucócitos
3º Ciclo	10/11/2015	Vincristina 0,75mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,28 mL	4,12 mil/ul
		Imunoestimulante IV	1ml	
	01/12/2015	Doxorrubicina 30mg/m ² IV	7 mL	SA
	09/12/2015	Vincristina 0,75mg/m ² IV com redução de 20% da dose	0,28 mL	4,76 mil/ul
		Imunoestimulante IV	1ml	
	13/12/2015	Ciclofosfamida 200 mg/m ² PO	2 comp	NR
	28/12/2015	Vincristina 0,75mg/m ² IV	0,35 mL	7,32 mil/ul
		Imunoestimulante IV	1ml	
	09/01/2015	Vincristina 0,75mg/m ² IV	0,35 mL	SA
		Imunoestimulante IV	1ml	

Legenda: comp – comprimido; SA - Sem alterações; NR - Não registado; * na concentração de 1mg/mL; **Ciclofosfamida, 1/2 comprimido de 50mg, q48h ao longo de todo o protocolo COP; *** na concentração de 2mg/mL; Prednisolona 20mg, 1 comprimido SID na primeira semana e posteriormente, meio comprimido a q48h, durante o protocolo COP;

Na segunda sessão, foi notável uma grande melhoria a nível clínico. A linfadenomegalia diminuiu e também foram visíveis melhorias ao nível da dermatite escrotal e das virilhas. Repetiu-se o hemograma, que revelou uma leucopenia ligeira e um ligeiro agravamento da anemia (Tabela 19, Apêndice III). Manteve a dose de VCR e passou a meio comprimido de prednisolona q48h.

Na quarta sessão, optou-se por fazer uma diminuição de 20% da dose (0,18 ml VCR) devido aos valores de leucopenia. Deu-se continuidade às sessões de quimioterapia com redução de 20% da dose inicial, até ao dia da 6ª sessão em que os valores voltaram a diminuir. Optou-se por adiar a 6ª administração de VCR, e iniciou enrofloxacina (50mg, um comprimido, PO, SID, durante oito dias). Durante o mês seguinte, o Putchi manteve-se animicamente bem, foi fazendo controlos semanais do hemograma em que os valores variaram, tendo inicialmente regularizado, mas posteriormente, voltou a apresentar leucopenia (Tabela 19 e 20, Apêndice III).

No dia 4 de Maio, introduziu-se um imunoestimulante oral (Impromune[®], 1 comprimido SID), e uma semana depois foi feito novo controlo em que se verificou que os valores dos leucócitos se mantinham baixos. Optou-se por manter a redução de 20% da dose

na 6ª sessão. Nesta consulta (12 de Maio) a proprietária afirmou que tinha suspenso as medicações orais em casa sem indicação médica. Reiniciou-se a toma de ciclofosfamida (50mg, meio comprimido a cada 3 dias), prednisolona (meio comprimido de 20mg, q48h), omeprazol (um comprimido de 10mg, SID) e imunoestimulante (1 comprimido, SID).

A 18 de Maio as análises voltaram a acusar leucopenia, pelo que se introduziu novamente enrofloxacina (um comprimido de 50mg, SID, durante dez dias). Ao exame clínico estava tudo normal à exceção do gânglio poplíteo esquerdo aumentado (tamanho duma noz), e com uma consistência de borracha. Veio fazer a 8ª sessão de quimioterapia (com redução de 20% da dose) no dia 8 de Junho. Ao exame físico foi detectado novo aumento dos linfonodos poplíteos e pré-escapular esquerdo.

Na 10ª sessão voltou a fazer a dose normal de VCR e foi-se mantendo estável clínica e analiticamente até à 14ª sessão em que voltou a fazer novamente redução de 20% da dose inicial (0,19 mL) por apresentar uma ligeira leucopenia. Associou-se novamente enrofloxacina (1 comprimido de 50mg, SID, durante 8 dias) profilaticamente.

No dia 25 de Setembro, foi decidido passar para o protocolo de resgate com CHOP, tal como descrito na Tabela 11. Foi administrada doxorrubicina e manteve a terapêutica de suporte com omeprazol (um comprimido de 10mg, SID) e Impromune® (1 comprimido de 900mg, SID), passando a fazer dois comprimidos de ciclofosfamida a cada três semanas. Foi também associado à medicação, cotrimoxazol (Septrin®, meio comprimido de 480mg, BID, durante 8 dias) profilaticamente, devido à leucopenia. Na semana seguinte veio para fazer a administração de VCR, contudo o hemograma de controlo revelou novamente leucopenia, pelo que se procedeu apenas à administração injetável de imunoestimulante (Infermun®, 1mL, IM).

No dia 12 de Outubro (semana 4 do protocolo de resgate), fez a toma de VCR juntamente com imunoestimulante injetável e parou o imunoestimulante oral que estava a fazer em casa. Na semana seguinte repetiram-se as análises que acusaram leucopenia e elevação das transaminases (ALT e ALKP). Introduziu-se protetor hepático (Denamarin® 225mg, 1 comprimido SID).

No dia 26 de Outubro, o Putchi foi reavaliado em consulta, em que se verificou que apresentava todos os parâmetros normais ao exame físico, com exceção de sopro de grau IV/VI e de linfadenomegalia dos gânglios submandibulares e poplíteos (tamanho duma

“azeitona”). A nível analítico não foram encontradas alterações, de modo que foi feita a administração da VCR, correspondente à 1ª semana do 2º ciclo do protocolo CHOP.

Evolução: A 10 de Novembro, os valores de leucopenia e anemia agravaram-se apesar do tamanho dos gânglios estar normal. Fez a toma de VCR com redução de 20% da dose inicial. Nas duas semanas seguintes teve alguns episódios de vômitos e diarreia e os linfonodos aumentaram ligeiramente. Analiticamente estava tudo bem mas optou-se por adiar uma semana a sessão de quimioterapia.

Iniciou o 3º ciclo do protocolo CHOP no dia 1 de Dezembro (doxorrubicina). Por esta altura o paciente sofreu um agravamento da dermatite nas virilhas e desenvolveu edema no prepúcio com corrimento purulento (balanopostite). O proprietário começou a colocar topicamente dexpanthenol em creme (Bepanthene®) e gel constituído por ácido fusídico 5 mg e betametasona 1 mg (Fuciderm®). Nos quinze dias seguintes manteve-se relativamente estável embora ainda tenha sofrido alguns episódios de vômitos e de apresentar uma ligeira leucopenia no hemograma. Optou-se por fazer a sessão de quimioterapia.

Na consulta seguinte, o Putchi apresentou-se mais prostrado e detectou-se um abscesso das glândulas bulbouretrais. Não foi feita a sessão de quimioterapia e instituiu-se enrofloxacina 50mg (1 comprimido SiD, durante 10 dias). No dia 28 de Dezembro o paciente veio para consulta de seguimento em que se verificou um aumento dos linfonodos periféricos e agravamento da dermatite no abdómen ventral. A balanopostite melhorou e corrimento passou de purulento a seroso. Foi feita a administração de VCR, sem redução da dose, e foram agendadas as próximas sessões com um intervalo de 15 dias, devido a dificuldades económicas.

No início de Janeiro de 2016, a balanopostite agravou e os linfonodos periféricos encontravam-se de tamanhos assimétricos. No controlo analítico verificou-se um aumento da GPT (Apêndice III). Fez a toma de VCR e reiniciou a enrofloxacina. No dia 25 de Janeiro (cerca de 11 meses após o diagnóstico), a condição clínica do Putchi veio a deteriorar-se cada vez mais, o que levou os proprietários a tomar a decisão de eutanásia.

4.4 Caso clínico 4 – Lira

Resenha: A Lira é um canídeo, fêmea esterilizada, de raça Labrador Retriever, de 13 anos de idade e com 23,15 Kg de peso.

Motivo de consulta que acompanhei: A Lira apresentou-se à consulta no dia 14 de Outubro, devido a vômitos e diarreia profusa com sangue, desde há dois dias.

História pregressa e anamnese: A Lira é um animal de interior, que come habitualmente ração. Costuma fazer as vacinações anualmente e as desparasitações internas e externas irregularmente. Ao longo da sua vida, a Lira desenvolveu vários episódios de gastroenterite, associados a indiscrições alimentares. Tem história de dermatite alérgica à picada da pulga (DAPP), e teve também vários episódios de otites externas. Em Agosto de 2014, foi diagnosticada com hipotireoidismo e parálise unilateral da laringe (que foi intervencionada cirurgicamente). Foi prescrito como terapêutica levotiroxina sódica (0,5mL, SID), que mantém até à data. Em Julho de 2015, apresentou um quadro clínico compatível com uma lesão medular ao nível da coluna lombar, possivelmente com envolvimento de L4-L6 e na impossibilidade de realizar TAC fez-se apenas tratamento conservativo para controlo de inflamação e dor.

No dia 14 de Outubro, deu entrada no hospital prostrada, com um grau de 5% de desidratação. Mostrava alguma relutância em caminhar, mais acentuada a nível dos membros pélvicos, que denotavam um apoio pouco firme (paresia). Ao exame físico, apresentava as mucosas oculares e gengivais rosadas e com um TRC de 2 segundos, manifestou alguma rigidez e desconforto à palpação abdominal. A auscultação cardiopulmonar revelou aumento da intensidade dos ruídos inspiratórios. Foi registada uma frequência respiratória de 30 r.p.m e uma frequência cardíaca de 104 b.p.m. Apresentava uma condição corporal de 2 (numa escala de 1 a 5) e uma temperatura de 39,6°C.

Foi internada para efetuar exames complementares de diagnóstico e tratamento sintomático para os sinais gastrointestinais: fluidoterapia, metronidazol (46mL, BID), ranitidina (2mL, BID), cefalosporina (7mL, BID), metilprednisolona (0.7 mL, SID) e pró-bióticos. Foi feita uma recolha de sangue para hemograma e análises bioquímicas, cujos resultados observados foram: leucocitose, neutrofilia, anemia ligeira (Tabela 22, Apêndice IV), aumento da ALT e ALKP e hipoproteinemia (Tabela 23, Apêndice IV).

Evolução: Efetuou-se uma ecografia abdominal (Apêndice IV) em que se verificou um aumento considerável dos linfonodos mesentéricos, inflamação da mucosa intestinal e hipermotilidade. Fez-se CAAF dos linfonodos, cujo resultado veio compatível com linfoma de células T pequenas (Apêndice IV), suspeitando-se tratar de um quadro de linfoma gastrointestinal linfocítico. Optou-se por iniciar o protocolo de quimioterapia COP (Tabela 12), sendo instituída a primeira administração de VCR a 22 de Outubro. Quatro dias após a primeira sessão, a Lira continuava sem melhorias e mantinha a diarreia profusa e anorexia. A proprietária optou pela eutanásia no dia 26 de Outubro de 2015.

Tabela 13 – Protocolo COP instituído à Lira.

Protocolo COP
Ciclofosfamida: $50\text{mg}/\text{m}^2$ PO 4dias/semana ou a q48h ou $300\text{mg}/\text{m}^2$ PO, q3 semanas
Vincristina: $0,5\text{mg}/\text{m}^2$ IV, semanal
Prednisolona: $40\text{-}50\text{mg}/\text{m}^2$ PO q24h 1 semana e depois $20\text{-}25\text{mg}/\text{m}^2$ PO q48h
Omeprazol: 1 cápsula 20 mg, SID, durante todo o protocolo.

4.5 Caso clínico 5 – Pintas

Resenha: A Pintas é um canídeo, fêmea inteira, de raça indeterminada, com 8 anos de idade e 39 Kg de peso.

Motivo de consulta que acompanhei: Veio à consulta por sangramento da glândula mamária abdominal cranial direita, no dia 7 de Dezembro de 2015.

História pregressa e anamnese: A Pintas é um animal de interior e não partilha o espaço com outros animais. Era alimentada com ração comercial, de baixa qualidade, tendo sido posteriormente alterada para dieta hipoalergénica devido a episódios de otite e dermatite recorrentes, desde os 7 meses de idade, com forte suspeita de origem alérgica. As informações acerca do protocolo vacinal e desparasitações externas e internas, não constavam nos registos clínicos.

No dia de contacto com a paciente, a Pintas apresentou-se à consulta com um estado mental alerta, temperamento equilibrado e com uma condição corporal normal. As mucosas oculares e gengivais encontravam-se brilhantes e rosadas, com um TRC inferior a dois segundos. Auscultação cardiopulmonar normal. Movimentos respiratórios costoabdominais e de profundidade normal. A frequência respiratória era de 32 r.p.m e a cardíaca de 112 b.p.m. Foi detectada linfadenomegalia periférica generalizada, por palpação. A pele de um modo geral encontrava-se em mau estado, com eritema e algumas pústulas distribuídas de forma difusa por todo o corpo. Lesões compatíveis com uma pioderma generalizada. Apresentava também dermatite interdigital nos quatro membros.

Procedeu-se à recolha de sangue para hemograma e análises bioquímicas e foi também realizada uma CAAF dos linfonodos pré-escapulares e poplíteos, enviada para laboratório. As análises não revelaram quaisquer alterações, à exceção de um ligeiro aumento da AST (Apêndice V). O resultado da citologia e da imunofenotipagem veio compatível com um linfoma B centroblástico, com alto grau de malignidade (segundo a classificação adaptada de Kiel) (Figura 11). Na altura institui-se tratamento para o pioderma com amoxiciclina e ácido clavulânico (1 comprimido de 875mg, BID, durante 8 dias) e banhos de dois em dois dias com champô de miconazol e clorexidina.

No dia 19 de Dezembro, a Pintas deu início ao protocolo COP (Tabela 13) com a administração de VCR na dose de 0,7 mg/m². Em casa iniciou a toma de prednisolona (2

comprimidos e meio de 20mg, SID na primeira semana; posteriormente, 1 comprimido e meio, q48, durante todo o protocolo), ciclofosfamida (1 comprimido de 50mg, q48h) e omeprazol (1 cápsula de 20mg, SID).

Tabela 14 - Protocolo de quimioterapia COP instituído à Pintas desde o diagnóstico.

Protocolo Pintas				
Sessão	Data	Dose do fármaco administrado	Quantidade administrada	Leucócitos
1ª Sessão	19/12/2015	*Vincristina 0,7 mg/m ² IV	0,7 mL	NR
—	21/12/2015	**Ciclofosfamida 50mg PO	1 comp	—
2ª Sessão	26/12/2015	Vincristina 0,7 mg/m ² IV	0,7 mL	18,21 mil/ul
3ª Sessão	02/01/2016	Vincristina 0,7 mg/m ² IV, com redução de 25% da dose	0,54 mL	4,75 mil/ul
4ª Sessão	09/01/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	SA
5ª Sessão	16/01/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	SA
6ª Sessão	23/01/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	SA
7ª Sessão	30/01/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	SA
8ª Sessão	06/02/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	9,13 mil/ul
9ª Sessão	13/02/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	13,4 mil/ul
10ª Sessão	20/02/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	Leucocitose
11ª Sessão	05/03/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	12,25 mil/ul
12ª Sessão	19/03/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	9,94 mil/ul
13ª Sessão	02/04/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	16,69 mil/ul
14ª Sessão	10/04/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	36,01 mil/ul
15ª Sessão	16/04/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	25,41 mil/ul
16ª Sessão	23/04/2016	Vincristina 0,5 mg/m ² IV	0,54 mL	44,49 mil/ul

Legenda: comp – comprimido; SA - Sem alterações; NR - Não registado; * na concentração de 1mg/mL **Ciclofosfamida, 1 comprimido de 50mg, q48h ao longo de todo o protocolo; Prednisolona, 2 comprimidos e meio de 20mg, SID na primeira semana, posteriormente, 1 comprimido e meio q48, durante todo o protocolo;

Evolução: No dia 1 de Janeiro de 2016, a Pintas deu entrada no hospital em urgência, devido a “*head tilt*” para o lado direito. Ao exame de estado geral, foi detetada perfuração do tímpano e presença de grande quantidade de líquido serosanguinolento, no pavilhão auricular direito. Restante exame físico sem quaisquer alterações. Foi instituído como tratamento tópico enrofloxacina diluída (0,5 mL, SID) e limpezas com soro fisiológico. Voltou no dia seguinte para seguimento da otite, repetição de hemograma e 3ª sessão de quimioterapia, cuja dose foi reduzida para 0,5 mL devido à alteração no ouvido. Foi também associado antibiótico oral (cefradina 1g, $\frac{3}{4}$ comprimido, BID), durante dez dias.

Até à 9ª sessão de quimioterapia (13 de Fevereiro de 2016) com VCR, a Pintas manteve-se estável tanto animicamente, como a nível analítico. Foi acordado com os donos que a partir da 10ª sessão, a Pintas começaria a fazer as sessões de quimioterapia de quinze em quinze dias. Na 10ª sessão, voltou a ter uma otite, desta vez do ouvido esquerdo. O hemograma acusou leucocitose. Associou-se novamente ao tratamento tópico e antibioterapia oral (cefradina 1g, $\frac{3}{4}$ comprimido, BID), durante sete dias. Na 12ª sessão, a dona reparou num aumento considerável dos linfonodos submandibulares. Ficou em hipótese voltar às sessões semanais, caso não houvesse redução do tamanho dos linfonodos. Quatro dias após a 13ª dose de VCR, a Pintas deu entrada no HRVM, com queixa de prostração, anorexia, perda de peso (1 Kg), edema subcutâneo na região do pescoço (gânglios retrofaríngeos, submandibulares, pré-escapulares aumentados e estase linfática associada) e ruídos respiratórios superiores (estridentes). Foram efetuadas duas projeções radiográficas de tórax (latero-lateral e ventro-dorsal), sem evidências de efusão ou massas (Figura 4). Ficou internada durante a noite para observação e institui-se corticoterapia IV. Melhorou significativamente e teve alta ao fim do dia seguinte (7 de Abril) com prednisolona 20mg (1 comprimido e meio, SID) e imunoestimulante com *Coriolus Versicolor* (Corpet® 500mg, 3 comprimidos, SID).

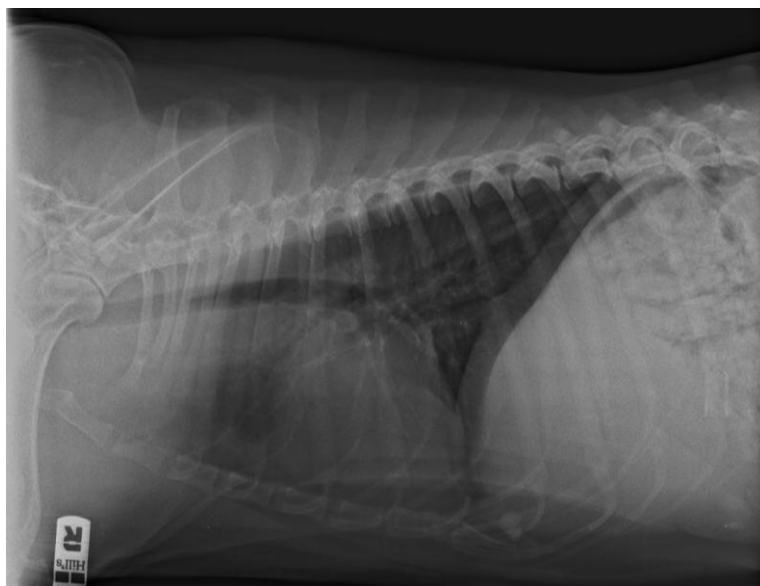


Figura 4 - Imagem radiográfica da cavidade torácica da Pintas, no plano latero-lateral direito, realizado no dia 6 de Abril de 2016. Ausência de alterações radiográficas.

Quatro dias após a alta, veio novamente à consulta por edema subcutâneo severo na região do pescoço, anorexia e diarreia. Manifestava algum desconforto a respirar e os linfonodos submandibulares, estavam novamente muito aumentados. Foram repetidas as análises gerais, que denunciaram leucocitose, linfocitose e uma ligeira anemia. Os parâmetros bioquímicos avaliados, acusaram uma ligeira hipocalemia (Apêndice V). Ficou um dia no internamento para observação. Fez a sessão de quimioterapia com vincristina e iniciou novamente antibioterapia com metronidazol (250mg, 3 comprimidos BID), cefazolina (1g, 1 comprimido BID) e enrofloxacin (200mg, 1 comprimido de 50mg, mais 1 comprimido de 150mg, SID). Associou-se também duas tomas de furosemida (3,9 mL, BID), com o intuito de reduzir o edema. Manteve a prednisolona e omeprazol. No dia 16 de Abril, veio fazer controlo analítico e a 14ª toma de VCR. A Pintas mantinha a leucocitose e linfocitose mas melhorou ligeiramente. O edema melhorou também e as fezes já estavam moldadas, embora ainda de consistência mole. O tamanho dos linfonodos manteve-se. Dados os valores do controlo analítico ainda se encontrarem alterados, optou-se por prolongar a toma de metronidazol e cefradina, por mais uma semana.

Uma semana após a 15ª sessão de quimioterapia, a Pintas deu entrada no hospital com dificuldade respiratória. Apresentava dispneia, hipertermia, linfadenomegalia e edema generalizado. A dona optou pela eutanásia, sendo dado baixa do paciente no dia 29 de Maio de 2016.

Capítulo 5 - Discussão dos casos clínicos

Na medicina humana o linfoma linfoblástico é considerado um tumor com um alto grau de proliferação, possuindo algumas semelhanças com o linfoma linfoblástico canino, relativamente à sua morfologia e malignidade (Sokołowska *et al.* 2012). É o tipo de linfoma mais agressivo em medicina veterinária, sendo mais comum o imunofenótipo T que o B (Valli *et al.*, 2011). Efectivamente verificou-se que a maioria dos casos estudados (4/5) eram linfomas multicêntricos de células grandes (dois de células B) e apenas um era de linfoma linfocítico gastrointestinal de células T. Todos os casos descritos careceram da informação do estadio clínico, pois não foram realizados todos os meios de diagnóstico necessários para o determinar, tais como citologias de fígado, baço e de medula óssea. Sabe-se que, mesmo que ecograficamente os órgãos aparentem não ter alterações, podem estar presentes células tumorais, o que reforça a importância da citologia (Nelson & Couto, 2014). De acordo com as diretrizes da OMS, o estadiamento clínico permite compreender a extensão da disseminação e distribuição anatómica da neoplasia, assim como estabelecer um prognóstico e instituir o protocolo de tratamento mais adequado (Marconato, 2011; Vail *et al.*, 2013; Graff *et al.*, 2014). No entanto por questões monetárias nem sempre foi possível a sua realização.

De acordo com a literatura, teria sido igualmente aconselhável fazer a mensuração do cálcio sérico, dado ser um fator de prognóstico importante sobretudo nos linfomas de células T (Fournel-Fleury *et al.*, 2002; Marconato, 2011; Vail *et al.*, 2013). Adicionalmente, os animais com hipercalcemia têm um tempo de sobrevida significativamente menor, sobretudo se associada a uma diminuição da função renal (Ettinger, 2003).

Todos os casos descritos foram tratados com quimioterapia, em que maioritariamente (4/5) foi elegido o protocolo COP. O Ruby foi o único paciente em que se optou pelo protocolo CHOP para indução. Apesar da toxicidade deste protocolo poder ser mais elevada (mas em níveis toleráveis), comparativamente ao protocolo COP e a outros protocolos de monoterapia (Nelson & Couto, 2014), geralmente este é o protocolo de primeira escolha pois possui a capacidade de induzir taxas de resposta mais altas (na ordem dos 80 a 95%) e remissões completas mais longas (entre 6 a 12 meses) (MacDonald *et al.*, 2005; Marconato, 2011; Vail *et al.*, 2013; Curran *et al.*, 2015). O protocolo CHOP possui ainda a vantagem de não ser necessário fazer protocolo de manutenção após o seu término, dado que os estudos verificam que não traz nenhum tipo de benefício, em termos de prolongamento do tempo de

sobrevida (Marconato, 2011; Vail *et al.*, 2013; Nelson & Couto, 2014). Durante o tratamento do Ruby, nunca foi determinado objectivamente com citologia, ou PARR dos linfonodos, se ele estava em remissão completa, tendo prosseguido o protocolo CHOP até ao fim das 25 semanas, findas as quais se apresentava clinicamente bem e com os linfonodos normodimensionados. No que diz respeito ao acompanhamento da resposta ao protocolo instituído, verificou-se também uma falta de pormenorização dos registos clínicos, nomeadamente a ausência da medição objetiva e regular do tamanho dos linfonodos. De acordo com o consenso do VCOG, os linfonodos periféricos devem ser medidos por dois avaliadores diferentes, com o objetivo de determinar a resposta tumoral ao tratamento instituído de forma mais precisa (Vail *et al.*, 2009; VCOG, 2011). O registo esporádico fazendo uso dos termos “aumentou ligeiramente” ou “manteve o tamanho”, como ocorreu nestes cinco casos, não são os mais apropriados para uma correta avaliação, principalmente se o animal for acompanhado por mais que um médico veterinário. Se as medições tivessem sido efetuadas, seria possível classificar a resposta ao tratamento consoante o tamanho dos linfonodos registado de sessão a sessão. Tal procedimento permite saber se o protocolo escolhido está realmente a ser eficaz (Vail *et al.*, 2009). Outra das técnicas que poderia ter sido utilizada para determinar objectivamente a resposta à terapêutica, consiste no PARR de sangue periférico ou de aspirados celulares, pois detecta se há presença ou não de doença residual mínima (DRM) (Keller *et al.*, 2004; Lana *et al.*, 2006; Langner *et al.*, 2014). Esta última é importante, pois permite diferenciar os animais que estejam em verdadeira remissão completa, e que possam beneficiar de uma interrupção do tratamento quando finalizado o protocolo de indução da quimioterapia, dos que apresentam apenas remissão parcial e que possam necessitar duma intensificação ou mudança do protocolo quimioterápico (Marconato, 2011).

Ainda relativamente ao caso do Ruby, foi instituído um protocolo de manutenção com mitoxantrona, o que é questionável pois de acordo com Lucroy *et al.* (1998), a mitoxantrona usada isoladamente após um protocolo de quimioterapia convencional, tem eficácia limitada em cães com linfoma multicêntrico. Adicionalmente, o uso de protocolos de quimioterapia sem manutenção, permite um atraso no desenvolvimento de resistência aos quimioterápicos e consequentemente, aumenta a probabilidade dos pacientes atingirem uma segunda remissão (Simon *et al.*, 2006).

Em relação aos casos clínicos da Kuca e Putchi, ambos careceram da informação acerca do imunofenótipo. Este facto, associado a não ter sido feito o estadiamento clínico, dificulta a determinação do prognóstico do doente, bem como a escolha do protocolo de tratamento (Marconato *et al.*, 2011). Ambos os pacientes fizeram indução com protocolo COP e nenhum chegou a atingir remissão completa. O protocolo COP é efetivo para o tratamento de linfoma, sendo mais acessível a nível financeiro e relativamente bem tolerado pelos pacientes. No entanto, comparativamente ao protocolo CHOP, este possui taxas de remissão completa mais baixas (na ordem dos 50 a 70%) e de duração inferior (cerca de 6 meses) (Bryan, 2010; Vail *et al.*, 2013). Com efeito, teria sido importante para ambos os casos, ponderar a utilização de outro protocolo. A introdução da doxorrubicina, poderia ter sido uma boa opção, tendo em conta que já foi evidenciado em vários estudos que a sua administração contribui drasticamente para o aumento da sobrevivência (Vail *et al.*, 2013). Mesmo sendo utilizada como único agente no protocolo de indução (opção válida sobretudo nos casos de linfoma B), a doxorrubicina possibilita taxas de resposta na ordem dos 69 a 74%, com uma duração de entre 4,5 a 9 meses (Higginbotham *et al.*, 2013). Nestes dois casos, uma vez confirmada a ausência de resposta completa ao protocolo eleito, teria sido importante ponderar a alteração do mesmo para um protocolo de resgate, sendo as opções mais válidas o CHOP ou o protocolo de lomustina e asparaginase (Saba *et al.*, 2009; Vail *et al.*, 2013). O mesmo seria aplicável ao caso clínico da Pintas, um caso de linfoma multicêntrico de células B centroblástico, que segundo a classificação da OMS, inclui-se na categoria dos linfomas de células B grandes difusas (Valli *et al.*, 2011; Curran *et al.*, 2016). Este tipo é considerado o mais comum, dentro dos linfomas agressivos, possuindo uma progressão rápida e uma resposta ao tratamento difícil de prever, tanto na medicina humana como na medicina veterinária (Sato *et al.*, 2012; Aresu, 2016). Tendo em conta estas características (semelhantes ao caso do Ruby em termos de agressividade tumoral), levanta-se a questão acerca do motivo da escolha do protocolo de indução e respectiva dosagem administrada (que foi a dose mínima terapêutica do intervalo de referência para a vincristina, ou seja 0,5 mg/m²). De acordo com a literatura, deve iniciar-se o protocolo com a dose máxima tolerada (ou seja os 0,7 mg/m²), pois é sempre mais eficaz, além de que a administração de doses mais baixas potencia a quimioresistência (Argyle *et al.*, 2008; Gustafson & Page, 2013). Aparentemente, não houve justificação clínica nem analítica para optar por uma redução da dose (Tabela 24-26, Apêndice V). Além disso, à semelhança dos casos da Kuca e Putchi, quando se verificou

que não ocorreu remissão, dever-se-ia ter ponderado a escolha de um protocolo de resgate, ou pelo menos revistas as dosagens que estavam a ser administradas.

Ainda relativamente à análise dos protocolos de tratamento utilizados, verificou-se que no caso do Ruby foi incluída a L-asparaginase no protocolo, mas segundo os estudos publicados, a sua inclusão nos protocolos CHOP de indução, não acarreta benefícios em termos de aumento ou duração das taxas de resposta (Valerius *et al.*, 1997; Jeffreys *et al.*, 2005; MacDonald *et al.*, 2005; Vail *et al.*, 2013). No caso da Kuca salienta-se ainda que apesar de se ter suspeitado de cistite hemorrágica estéril secundária à administração da ciclofosfamida, após a interrupção temporária da sua administração e logo que, a paciente melhorou das queixas urinárias, reintroduziu-se o citotóxico juntamente com um diurético, o que segundo a literatura está contraindicado devendo-se suspender definitivamente o seu uso elegendo outro fármaco para a substituir, como por exemplo o clorambucilo (Gustafson & Page, 2013).

No caso do Putchi, optou-se por um protocolo de resgate com CHOP ao fim de 15 sessões de COP, tendo sofrido ao longo do tratamento variações frequentes do tamanho dos linfonodos. Tendo em conta que tinha sido detetado um sopro no exame físico, teria sido relevante realizar uma avaliação cardíaca completa antes de iniciar um protocolo de resgate que inclui a doxorrubicina, dada a sua cardiotoxicidade na espécie canina (Vail, 2011; Gallay-Lepoutre *et al.*, 2016). É ainda importante referir, que o Putchi apresentou lesões cutâneas desde o dia da admissão no HRVM, cuja causa deveria ter sido explorada, pois poderia estar relacionada com o processo neoplásico (ex, metastização ou linfoma cutâneo) ou ser causada indirectamente pela imunossupressão gerada pela neoplasia, que pode predispor estes doentes a desenvolver dermatites bacterianas resistentes e/ou a dermatofitose.

Em relação à Lira, esta foi diagnosticada com um linfoma gastrointestinal de células pequenas, sendo compatível com linfoma linfocítico de células T. Este tipo de linfoma, incomum no cão, tem um prognóstico desfavorável e geralmente está associado a uma menor taxa de resposta à quimioterapia (Frank *et al.*, 2007; Rassnick *et al.*, 2009; Gieger, 2011). O tratamento mais indicado segundo a literatura, são os protocolos de quimioterapia combinados (por exemplo o CHOP em doses mais altas) ou a excisão cirúrgica, caso este seja focal (Frank *et al.*, 2007; Rassnick *et al.*, 2009; Vail *et al.*, 2013). Neste caso, optou-se por fazer a indução com um protocolo COP, sendo que logo após a primeira administração de vincristina, os donos optaram pela eutanásia devido à ausência de melhorias visíveis no seu estado clínico.

Embora nenhum destes 5 casos tenha alcançado efetivamente remissão completa, os tempos de sobrevida da Kuca e do Putchi (53 e 47 semanas respectivamente) foram superiores à média de 9 a 10 meses descrita por Nelson & Couto (2014). Já a Lira, a Pintas e o Ruby obtiveram tempos de sobrevida francamente menores (1, 18 e 30 semanas respectivamente). Logicamente, não podemos comparar estes resultados entre si, dado serem neoplasias de diferentes tipos celulares e imunofenótipos. Uma das causas de insucesso ou de menor taxa de resposta à quimioterapia, é a redução inadequada das doses e/ou aumento do intervalo entre administrações (Lana & Dobson, 2011; Vail et al., 2013; Wypij, 2015). Nos casos apresentados, verificou-se uma frequente redução da dose dos citotóxicos e o adiamento de sessões de tratamento tendo por base, a nível analítico, principalmente o número dos leucócitos. No entanto, segundo a literatura, estas decisões devem ser tomadas (além dos sinais clínicos e toxicidades orgânicas específicas de cada citotóxico) tendo em conta o número de neutrófilos e/ou de plaquetas considerando-se que não é seguro fazer quimioterapia quando os valores dos neutrófilos se encontram abaixo de 1500/uL (correspondente ao grau 2 de neutropenia) e as plaquetas abaixo de 50000/uL (grau 2 de trombocitopenia) (Argyle et al., 2008; Vail et al., 2013). Acima destes valores e na ausência de sinais clínicos de risco (como por exemplo febre, diarreia, melena, hematosquezia, vômitos prolongados, anorexia) e de alterações hepática e/ou renal, considera-se seguro a administração do citotóxico na máxima dose tolerada (Vail et al., 2013). Em todos os casos descritos, foram consideradas apenas as leucopenias em conjunto com a avaliação clínica não objetiva, para a decisão de redução de dose ou adiamento da sessão, o que pode ter posto em causa a eficácia do tratamento, comprometendo a sua taxa e duração de resposta. As reduções de dose acarretam uma redução da eficácia do tratamento pelo que têm de ser ponderadas de forma muito precisa, sendo inevitáveis sempre que os pacientes manifestem efeitos secundários moderados a severos (Gramer et al., 2013; Vail et al., 2013). Está inclusivamente documentado que cães que experienciam neutropenias de grau 3 a 4 induzidas por quimioterapia, possuem tempos de remissão mais prolongados, comparativamente aos cães que não apresentam neutropenia (Wang et al., 2015). Este facto pode ter contribuído para o insucesso em atingir a remissão completa nos casos clínicos apresentados. Importa também salientar que, apesar de não haver ainda evidência científica comprovada do benefício do uso de immunoestimulantes nos animais em quimioterapia (Vail et al. 2013), estes foram frequentemente administrados nos casos estudados.

Ainda relativamente ao caso clínico do Putchi, é importante mencionar que para fornecer a dose de ciclofosfamida o mais correta possível, foi dada indicação aos proprietários para partir os comprimidos em casa. Esta medida é bastante questionável, pois segundo as regras de segurança para a manipulação de quimioterápicos, está contraindicado partir comprimidos de citotóxicos devido ao perigo de libertação de aerossóis com a consequente contaminação ambiental e severo risco de inalação pelo proprietário (pois sabe-se que a exposição aos agentes alquilantes pode levar a carcinogénese) (Fransman *et al.*, 2005; Meijster *et al.*, 2006; Argyle *et al.*, 2008; Vail *et al.*, 2013; Biller *et al.*, 2016). É igualmente importante salientar que, segundo as *guidelines* do ECVIM (European College of Veterinary Internal Medicine), sobre as regras de segurança para manipulação de citotóxicos injetáveis, estes devem ser preparados numa câmara de fluxo laminar vertical e administrados através dum sistema de soro fechado (ex: PhaSeal[®]), sempre recorrendo a proteções físicas tais como luvas de nitrilo, máscara com viseira e bata impermeável (ECVIM, 2007; Argyle *et al.*, 2008; Vail *et al.*, 2013). Medidas de segurança que, apesar da sua extrema importância, nem sempre foram cumpridas. Um estudo realizado em 2006, demonstrou que a exposição a fármacos antineoplásicos é regular no dia-a-dia de prática clínica em CAMVs, seja através da ausência ou uso de material de proteção insuficiente durante a manipulação dos fármacos, seja através da contaminação das superfícies onde os produtos foram manipulados (Meijster *et al.*, 2006). Tendo em conta que a prática clínica oncológica tem vindo crescer nos últimos anos, é de extrema importância a aplicação de cuidados de saúde rigorosos tanto para os médicos veterinários, enfermeiros e auxiliares, como para os proprietários dos animais. Neste contexto, além das medidas anteriormente mencionadas, destaca-se também a necessidade de evitar o contacto com as secreções do animal (principalmente fezes e urina) nos 5 a 7 dias após quimioterapia, providenciando a eliminação adequada das mesmas (Hamscher *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2013). Durante o seguimento destes casos clínicos, foi constatado que as práticas de segurança na manipulação de quimioterápicos necessitam de ser melhoradas.

Em suma, tendo em conta a experiência obtida durante o estágio, destaca-se a importância da implementação de protocolos de estadiamento e acompanhamento rigorosos e sistemáticos para os doentes oncológicos, permitindo o aperfeiçoamento da prática clínica oncológica. Numa tentativa de colmatar a dificuldade em manter os registos clínicos o mais completos possíveis, sugere-se um exemplo de uma ficha modelo de acompanhamento do paciente oncológico que contém os tópicos mais importantes que devem ser registados a cada sessão de quimioterapia (Apêndice VI). É um método que permite uma sistematização na

recolha e registo das informações retiradas a cada sessão, e respetivo acompanhamento do animal.

Capítulo 6 – Conclusão

A oncologia veterinária é uma área que sofreu um grande desenvolvimento e evolução nas últimas décadas e que continua em crescente expansão. Caminha-se sobretudo no sentido da medicina preventiva, que possibilita o diagnóstico precoce e tratamento atempado. Nos últimos anos, ocorreram importantes avanços nos meios de diagnóstico e de tratamento do linfoma canino, disponibilizando-se a estes doentes um aumento da esperança de vida, com qualidade. Contudo, até à presente data, apesar de todos os estudos científicos realizados, não existe ainda um tratamento que leve à cura do doente canino com linfoma, sendo a única forma de tratamento mais eficaz, a quimioterapia. Não obstante, a investigação mais atual está a enveredar no sentido do desenvolvimento da imunoterapia como esperança de obter um controlo da doença mais eficaz e sem efeitos adversos para o doente.

Foram encontradas diversas limitações durante o estudo dos cinco casos clínicos apresentados, das quais se destaca a falta de registos detalhados nos ficheiros clínicos, a ausência do estadiamento clínico completo dos casos, a ausência de uma avaliação objetiva da resposta ao tratamento, e as condições sócio-económicas dos proprietários, que nem sempre permitiram a realização de todos os exames complementares necessários. Verificou-se que é de extrema importância a implementação de protocolos sistematizados para o estadiamento tumoral (que já estão definidos para o linfoma canino na literatura) e para o acompanhamento clínico destes doentes, pois permitem uma avaliação mais precisa do estado de evolução da doença e uma melhor previsão da resposta ao tratamento, além de fornecerem uma importante base de dados para futuras investigações clínicas nesta área.

Por fim, o estágio no HRVM permitiu o contacto com praticamente todas as áreas da clínica médica e cirúrgica dos animais de companhia e, desta forma, desenvolver novas competências e consolidar todos os ensinamentos obtidos ao longo dos 6 anos de curso. Possibilitou igualmente perceber como se processa toda a abordagem diagnóstica e terapêutica oncológica, num centro de referência veterinária.

7. Referências Bibliográficas

Anderson, K. L., Marconato, J. F. (2015). Progress in Adaptive Immunotherapy for Cancer in Companion Animals: Success on the Path to a Cure. *Vet. Sci.* 2015, 2(4): 363-387.

Aresu, L. (2016). Canine Lymphoma, More Than a Morphological Diagnosis: What We Have Learned about Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Front. Vet. Sci.*, 3:77. doi: 10.3389/fvets.2016.00077.

Argyle, D. J., Brearley, M. J., Turek, M. M., Roberts, L. (2008). Cancer Treatment Modalities. In; Argyle, D. J., Brearley, M. J., Turek, M. M., (2008). *Decision Making in Small Animal Oncology*, (1ª Ed., pp.69-129), Iowa, USA: Blackwell.

Avery, P. R., Burton, J., Bromberek, J. L., Seeling, D. M., Elmslie, R., Correa, S., *et al.* (2014). Flow Cytometric Characterization and Critical Outcome of CD4+ T-Cell Lymphoma in Dogs: 67 cases. *J Vet Intern Med* 28:538-546.

Barber, L.G., Weishaar, K.M. (2014). Criteria for designation of clinical substage in canine lymphoma: a survey of veterinary oncologists. *Veterinary and Comparative Oncology*, doi: 10.1111/vco.12086.

Biller, B., Berg, J., Garret, L., Ruslander, D., Wearing, R., Abbott, B., *et al.* (2016). 2016 AAHA Oncology Guidelines for Dogs and Cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2016, 52:181-204. doi: 10.5326/JAAHA-MS-6570.

Bryan, J. N., (2010). Tumors of the Hematopoietic System. In Henry, C. J., Higginbotham, M. L. *Cancer Management in Small Animal Practise* (1ª Ed., pp. 343-351) Missouri: Elsevier.

Burnett, R. C., Vernau, W., Modiano, J. F., Olver, C. S., Moore, P. F., Avery A. C. (2003). Diagnosis of Canine Lymphoid Neoplasia Using Clonal Rearrangements of Antigen Receptor Genes. *Vet Pathol* 40:32-41.

Burton, J. H., Garret-Mayer, E., Thamm, D. H. (2012). Evaluation of a 15-week CHOP protocol for the treatment of canine multicentric lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, doi: 10.1111/j.1476-5829.2012.00324.x.

Chiou, S. H., Chow, K. C., Yang, C. H., Chiang, S. F., Lin, C. H. (2005). Discovery of Epstein–Barr virus (EBV)-encoded RNA signal and EBV nuclear antigen leader protein DNA sequence in pet dogs. *J Gen Virol* 86, 899–905.

Couto, G., (2016). *Linfomas En Perros Y Gatos: Son Todos Iguales?* Comunicação apresentada no XII Congresso Hospital Veterinário Montenegro, Santa Maria da Feira, Portugal.

Curran, K., Thamm, D. H. (2015). Retrospective analysis for treatment of naïve canine multicentric lymphoma with a 15-week, maintenance-free CHOP protocol. *Veterinary and Comparative Oncology*, doi: 10.1111/vco.12163.

Curran, K. M., Schaffer, P. A., Frank, C. B., Lana, S. E., Hamil, L. E., Burton, J. H. *et al.* (2016). BCL2 and MYC are expressed at high levels in canine diffuse large B-cell lymphoma but are not predictive for outcome in dogs treated with CHOP chemotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*, doi: 10.1111/vco.12263.

Document of the European College of Veterinary Internal Medicine of Companion Animals (2007). Preventing occupational and environmental exposure to cytotoxic drugs in veterinary medicine (2nd Ed.).

Elias, M. A., Duarte, A., Nunes, T., Lourenço, A. M., Braz, B. S., Vicente, G., *et al.* (2014). Influence of chemotherapy for lymphoma in canine parvovirus DNA distribution and specific humoral immunity. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 37, 313-320.

Ehrhart, E. J., Kamstock, D. A., Powers, B. E. (2013). The Pathology of Neoplasia. In Withrow, S.J. & MacEwen, E.G. *Small Animal Clinical Oncology*, (5thEd., pp. 51-67), St Louis, Missouri: Saunders Company.

Ernst, T., Kessler, M., Lautscham, E., Willimzig, L., Neiger, R. (2016). Multicentric lymphoma in 411 dogs - an epidemiological study. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* Apr 25, 44 (3).

Essman, S. C. (2009). Imaging Methods in Cancer Diagnosis. Section B. In Henry, C. J., Higginbotham, M. L. *Cancer Management in Small Animal Practise* (1st Ed., pp. 68-72) Missouri: Elsevier.

Ettinger, S. N. (2003). Principles of Treatment for Canine Lymphoma. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, Vol 18, No 2 (May).

Fontaine, J., Bovens, C., Bettenay, S., Mueller, R.S. (2009). Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review. *Vet Comp Onco*, 7(1):1-14.

Forrest, L. J., Kraft, S. L. (2013). Imaging in Oncology. In: Withrow, S.J. & MacEwen, E.G. *Small Animal Clinical Oncology*, (5ªEd., pp. 98-110), St Louis, Missouri: Saunders Company.

Foster, A.P., Sturgess, C., Gould, D.J., Iwasaki, T. & Day, M.J. (2000). Pemphigus foliaceus in association with systemic lupus erythematosus and subsequent lymphoma in a cocker spaniel. *J Small Anim Pract*, 41(6), 266-270.

Fournel-Fleury, C., Magnol, J. P., Bricaire, P., Marchal, T., Chabanne, L., Delverdier, A., *et al.* (1997). Cytohistological and Immunological Classification of Canine Malignant Lymphomas: Comparison with Human Non-Hodgkin's Lymphomas. *J. Comp. Path.*, Vol. 117, 35-59.

Fournel-Fleury, C., Ponce, F., Felman, P., Blavier, A., Bonnefont, C., Chabanne, L., *et al.* (2002). Canine T-cell Lymphomas: A morphological, Immunological, and Clinical Study of 46 New Cases. *Vet Pathol* 39:92-109.

Frank, J. D., Reimer, S. B., Kass, P. H., Kiupel, M. (2007). Clinical Outcomes of 30 Cases (1997-2004) of Canine Gastrointestinal Lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc*, 43:313-321.

Fransman, W., Vermeulen, R., Kromhout, H. (2005). Dermal exposure to cyclophosphamide in hospitals during preparation, nursing and cleaning activities. *Int Arch Occup Environ Health*, 78: 403-412.

Fry, M.M. & McGavin, M.D. (2013). Medula Óssea, Células Sanguíneas e Sistema Linfático. In McGavin, M.D. & Zachary, J.F. *Bases da Patologia em Veterinária*. (Tradução da 5ª Edição, pp. 701-773). Rio de Janeiro: Elsevier.

Fujiwara-Igarashi, A., Goto-Koshino, Y., Sato, M., Maeda, S., Igarashi, H., Takahashi, M., *et al.* (2014). Prognostic significance of the expression levels of the *p16*, *p15*, and *p14* genes in dogs with high-grade lymphoma. *The Veterinary Journal*, 199, 236-244.

Gaeta, R., Brown, D., Cohen, R., Sorenmo, K. (2012). Risk factors for development of sterile haemorrhagic cystitis in canine lymphoma patients receiving oral cyclophosphamide: a case-control study. *Veterinary and Comparative Oncology*, doi: 10.1111/vco.12009.

Gallay-Lepoutre, J., B´elanger, M.C., Nadeau, M.E. (2016). Prospective evaluation of Doppler echocardiography, tissue Doppler imaging and biomarkers measurement for the detection of doxorubicin-induced cardiotoxicity in dogs. A pilot study, (2016), doi: 10.1016/j.rvsc.2016.02.001.

Garret, L. D., Thamm, D. H., Chun, R., Dudley, R., Vail, D. M. (2002). Evaluation of a 6-Month Chemotherapy Protocol with No Maintenance Therapy for Dogs with Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 16: 704-709.

Gieger, T. (2011). Alimentary Lymphoma in Cats and Dogs. *Vet Clin Small Anim*, 41, 419-432. Graff, E. C., Spangler, E. A., Smith, A., Denhere, M., Brauss, M. (2014). Hematologic findings predictive of bone marrow disease in dogs with multicentric large-cell lymphoma. *Vet Clin Pathol*, 43/4, 505-512.

Gramer, I., Kessler, M., Geyer, J. (2013). Determination of MDR1 gene expression for prediction of chemotherapy tolerance and treatment outcome in dogs with lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, doi: 10.1111/vco.12051.

Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J., Affolter, V. K. (2005). Lymphocytic Tumors. In *Skin diseases of the dog and cat*, (2nd Ed., pp. 866-888). Oxford: Blackwell.

Gustafson, D. L., Page, R. L. (2013). Cancer Chemotherapy. In: Withrow, S.J. & MacEwen, E.G. *Small Animal Clinical Oncology*, (5th Ed., pp. 157-179), St Louis, Missouri: Saunders Company.

Hamscher, G., Mohring, S. S. I., Knobloch, A., Eberle, N., Nau, H., Nolte, I. (2010). Determination of Drug Residues in Urine of Dogs Receiving Anti-Cancer Chemotherapy by Liquid Chromatography–Electrospray Ionization- Tandem Mass Spectrometry: Is There An Environmental or Occupational Risk? *Journal of Analytical Toxicology*, Vol. 34, April 2010.

Higginbotham, M. L., McCaw, D. L., Roush, J. K., Nietfeld, J. C., Wilkerson, M. J., Reeds, K. et al. (2013). Intermittent Single-Agent Doxorubicin for the Treatment of Canine B-Cell Lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 2013, 49:357–362.

Huang, S. H., Kozak, P.J., Kim, J., Habineza-Ndikuyeze, G., Meade, C., Gaurnier-Hausser, A., et al. (2012). Evidence of an oncogenic gammaherpesvirus in domestic dogs. *Virology*, 427(2), 107-17.

Jacobs, R. M., Messick, J. B., Valli, V. E. (2002). Tumors of the Hemolymphatic System. In Meuten, D.J. (Eds.). *Tumors in Domestic Animals* (4^a Ed.), Iowa: Iowa State Press.

Jeffreys, A.B., Knapp, D.W., Carlton, W.W., Thomas, R.M., Bonney, P.L., Degortari, A. et al. (2005). Influence of asparaginase on a combination chemotherapy protocol for canine multicentric lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc*, 41(4), 221-6.

Junqueira, L.C. & Carneiro J. (2008). Sistema imunitário e órgãos linfáticos. In *Histologia Básica*. (11^aEd., pp. 254-282). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Keller, E. T. (1992). Immune-mediated disease as a risk factor for canine lymphoma. *Cancer* 70:2334–2337.

Keller, R. L., Avery, A. C., Burnett, R. C., Walton, J. A., Olver, C. S. (2004). Detection of neoplastic lymphocytes in peripheral blood of dogs with lymphoma by polymerase chain reaction for antigen receptor gene rearrangement. *Veterinary Clinical Pathology* 33, 145-149.

Kiupel, M., Bostock, D., Bergmann, V. (1998). The Prognostic Significance of AgNOR Counts and PCNA-positive Cell Counts in Canine Malignant Lymphomas. *J. Comp. Path.*, 119, 407-418.

Koshino, A., Goto-Koshino, Y., Setoguchi, A., Ohno, K., Tsujimoto, H. (2016). Mutation of *p53* Gene and Its Correlation with the Clinical Outcome in Dogs with Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 30:223-229.

Lana, S. E., Jackson, T. L., Burnett, R. C., Morley, P. S., Avery, A. C. (2006). Utility of polymerase chain reaction for analysis of antigen receptor rearrangement in staging and

predicting prognosis in dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20, 329-334.

Lana, S. E. & Dobson, J. M. (2011). Principles of chemotherapy. In: Dobson, J. M. & Lascelles, B. D. X. *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*, (3^a Ed., pp.60-79), England: BSAVA.

Langner, K. FA., Joetzke, A. E., Nerschbach, V., Eberle, N., Schuberth, H., Koy, M., *et al.* (2014). Detection of clonal antigen receptor gene rearrangement in dogs with lymphoma by real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis. *BMC Veterinary Research*,10:1.

Lattimer, J. C. (2009). Imaging Methods in Cancer Diagnosis. Section A. In Henry, C. J., Higginbotham, M. L. *Cancer Management in Small Animal Practise* (1^a Ed., pp. 64-68) Missouri: Elsevier.

LeBlanc, A.M., (2009). Advanced Imaging Modalities. Section A. In Henry, C. J., Higginbotham, M. L. *Cancer Management in Small Animal Practise* (1^a Ed., pp. 81-83) Missouri: Elsevier.

Lucroy, M. D., Phillips, B. S., Kraegel, S. A., Simonson, E. R., Madewell, B. R. (1998). Evaluation of Single-Agent Mitoxantrone as Chemotherapy for Relapsing Canine Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 12:325-329.

McDonald, V. S., Thamm, D. H., Kurzman, I. D., Turek, M. M., Vail, D. M. (2005). Does L-Asparaginase Influence Efficacy or Toxicity When Added to a Standard CHOP Protocol for Dogs with Lymphoma? *J Vet Intern Med*, 19:732–736.

Marconato, L. (2011). The staging and treatment of multicentric high-grade lymphoma in dogs: A review of recent developments and future prospects. *The Veterinary Journal*, 188: 34-38.

Marconato, L., Stefanello, D., Valenti, P., Bonfanti, H., Comazzi, S., Roccabianca, P., *et al.* (2011). Predictors of long-term survival in dogs with high-grade multicentric lymphoma. *JAVMA*, 238:480-485.

Marconato, L., Gelain, M. E., Comazzi, S. (2012). The dog as a possible animal model for human non-Hodgkin lymphoma: a review. *Hematological Oncology*, doi: 10.1002/hon.2017.

Marconato, L., Frayssinet, P., Rouquet, N., Comazzi, S., Leone, V. F., Laganga, P., *et al.* (2013). Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blinded Chemoimmunotherapy Clinical Trial in a Pet Dog Model of Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Clinical Cancer Research*, December 3. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2283.

Martini, V., Melzi, E., Comazzi, S., Gelain, M. E. (2013). Peripheral blood abnormalities and bone marrow infiltration in canine large B-cell lymphoma: is there a link? *Veterinary and Comparative Oncology*, 12, 2, 117-123.

Meijster, T., Fransman, W., Veldhof, R., Kromhout, H. (2006). Exposure to Antineoplastic Drugs Outside the Hospital Environment. *Ann. Occup. Hyg.*, Vol. 50, No. 7, 657-664.

Milman, G., Smith, K. C., Erles, K. (2011). Serological detection of Epstein-Barr virus infection in dogs and cats. *Veterinary Microbiology*, 150 (2011) 15–20. doi:10.1016/j.vetmic.2010.12.013.

Modiano, J. F., Breen, M., Burnett, R. C., Parker, H. G., Inusah, S., Thomas, R., *et al.* (2005). Distinct B-Cell and T-Cell Lymphoproliferative Disease Prevalence among Dog Breeds Indicates Heritable Risk. *Cancer Res*, 65(13), 5654-5661.

Morris, J. & Dobson, J. (2001). Haematopoietic System. In: *Small Animal Oncology* (1^aEd., pp. 228-251). Oxford: Blackwell Science Ltd.

Morrison, W. B. (2004). Non-Cutaneous Lymphoma. In: *Lymphoma in Dogs and Cats*. (1^a Ed., pp.3-88). Jackson, WY: Teton NewMedia.

Morrison, W. B. (2005). *Mediations on Lymphoma in Dogs and Cats*. Comunicação apresentada em North American Veterinary Conference, Orlando, Florida.

Nelson, R. W., Couto, C.G. (2014). Lymphoma. In: *Small Animal Internal Medicine*, (5^a Ed., pp.1160-1174), St. Louis: Mosby Elsevier.

North, S., Banks, T. (2009). Tumours of the Haemolymphatic System In: *Introduction to Small Animal Oncology*, (1^a Ed., pp.225-236), London: Saunders Elsevier.

Northrup, N. C., Rassnick, K. M., Snyder, L. A., Stone, M. S., Kristal, O., Cotter, S. M., *et al.* (2002). Neutropenia Associated with Vincristine and L-Asparaginase Induction Chemotherapy for Canine Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 16:570–575.

Pastor, M., Chalvet-Monfray, K., Marchal, T., Keck, G., Magnol, J.P., Fournel-Fleury, C., *et al.* (2009). Genetic and environmental risk indicators in canine non-Hodgkin's lymphomas: breed associations and geographic distribution of 608 cases diagnosed throughout France over 1 year. *J Vet Intern Med*, 23(2), 301-310.

Papakonstantinou, S., Berzina, I., Lawloe, A., O'Neill, E. J., O'Brien, P. J. (2013). Rapid, effective and user-friendly immunophenotyping of canine lymphoma using a personal flow cytometer. *Veterinary Journal*, 66:6.

Poggi, A., Miniscalco, B., Morello, E., Comazzi, S., Gelain, M. E., Aresu, L., *et al.* (2013). Flow cytometric evaluation for the determination of malignancy grade in canine lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 4, 475–480.

Ponce, F., Marchal, T., Magnol, J. P., Turinelli, V., Ledieu, D., Bonnefont, C., *et al.* (2010). A Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in France With Focus on Comparative Similarities Between Canine and Human Lymphoma Morphology. *Veterinary Pathology*, 47(3), 414-433.

Priest, H., McDonough, S., Erb, H., Daddona, J., Stokol, T. (2011). Transferrin Receptor Expression in Canine Lymphoma. *Veterinary Pathology*, 48(2) 466-474.

Rassnick, K. M., Moore, A. S., Collister, K.E., Northrup, N.C., O. Kristal, Chretien, J. D., *et al.* (2009). Efficacy of Combination Chemotherapy for Treatment of Gastrointestinal Lymphoma in Dogs. *J Vet Intern Med*, 23:317–322.

Rebhun, R.B., Lana, S.E., Ehrhart, E.J., Charles, J.B., & Thamm, D.H. (2008). Comparative Analysis of Survivin Expression in Untreated and Relapsed Canine Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 22(4), 989-995.

Roode, S.C., Rotroff, D., Richards, K.L., Moore, P., Motsinger-Reif, A., Okamura, Y., *et al.* (2016). Comprehensive genomic characterization of five canine lymphoid tumor cell lines. *BMC Veterinary Research*, 12:207.

Sapierzyński, R., Micuń, J., Jagielski, D., Jurka, P. (2010). Cytopathology of canine lymphomas (100 cases). *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 13, No. 4, 653-659. doi: 10.2478/v10181-010-0015-2.

Saba, C. F., Hafeman, S. D., Vail, D. M., Thamm, D.H. (2009). Combination Chemotherapy with Continuous L-Asparaginase, Lomustine, and Prednisone for Relapsed Canine Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 23:1058–1063.

Saar, L. I., Getty, R. (1986). Sistema Linfático em Geral. In: Getty, R., Sisson, S., Grossman, J., D. Sisson/*Grossman anatomia dos animais domésticos*. (1º Vol., 5ª. Ed., pp.163-167), Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Sato, M., Kanemoto, H., Kagawa, Y., Kobayashi, T., Goto-Koshino, Y., Mochizuki, H., *et al.* (2012). Evaluation of the prognostic significance of BCL6 gene expression in canine high-grade B-cell lymphoma. *The Veterinary Journal*, 191: 108–114.

Scase, T. J., Dobson, J. M. (2005). How to make a diagnosis. In: Dobson, J. M. & Lascelles, B. D., B.D.X. *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*, (3ª Ed., pp.6-20), England: BSAVA.

Seeling, D. M., Avery, P., Webb, P., Yoshimoto, J., Bromberek, J., Ehrhart, E. J., *et al.*, (2014). Canine T-Zone Lymphoma: Unique Immunophenotypic Features, Outcome, and Population Characteristics. *J Vet Intern*, 28:878-886.

Siedlecki, C. T., Kass, P. H., Jakubiak, M. J., Dank, G., Lyons, J., Kent, M. S. (2006). Evaluation of an actinomycin-D-containing combination chemotherapy protocol with extended maintenance therapy for canine lymphoma. *Can Vet J*, 47: 52-59.

Simon, D., Nolte, I., Eberle, N., Abbrederis, N., Killich, M., Hirschberger, J. (2006). Treatment of Dogs with Lymphoma Using a 12-Week, Maintenance-Free Combination Chemotherapy Protocol. *J Vet Intern Med*, 20:948-954.

Sokolowska, J., Micun, J., Malicka, E., Lechowski, R. (2012). Proliferation activity in canine lymphomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, Vol. 15, N° 4, 727-734. doi: 10.2478/v10181-012-0111-6.

Sokolowska, J., Urbanska, K., Gizinski, S., Zabielska, K., Lechowski, R. (2015). Immunohistochemical detection of P-glycoprotein in various subtypes of canine lymphomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, Vol. 18, N° 1, 123-130, doi: 10.1515/pjvs-2015-0016.

Sorenmo, K. U., Krick, E., Coughlin, C. M., Overley, B., Gregor, T. P., Vonderheide, R. H., *et al.* (2011). CD40-Activated B Cell Cancer Vaccine Improves Second Clinical Remission and Survival in Privately Owned Dogs with Non-Hodgkin's Lymphoma. *PloS ONE* 6(8): e24167.

Sozmen, M., Tasca, S., Carli, E., Lorenzi, D., Furlanello, T., Caldin, M. (2005). Use of fine needle aspirates and flow cytometry for the diagnosis, classification, and immunophenotyping of canine lymphomas. *J Vet Diagn Invest*, 17:323–329.

Takashima-Uebelhoe, B. B., Barber, L. G., Zagarins, S. E., Procter-Gray, E., Gollenberg, A. L., Moore, A.S., *et al.* (2012). Household Chemical Exposures and the Risk of Canine Malignant Lymphoma, a Model for Human Non-Hodgkin's Lymphoma. *Environ Res.*, 112: 171–176.

Tizard, I.R. (2004). Organs of the Immune System. In: Tizard, I.R. (Eds.), *Veterinary immunology: An introduction*. (7th Ed., pp. 78-92), Philadelphia: Saunders.

Tomiyasu, H., Goto-Koshino, Y., Fujino, Y., Ohno, K., Tsujimoto, H. (2013). Epigenetic regulation of the *ABCB1* gene in drug-sensitive and drug-resistant lymphoid tumor cell lines obtained from canine patients. *The Veterinary Journal*, Doi: 10.1016/j.tvjl.2013.10.022.

Tomiyasu, H., Fujiwara-Igarashi, A., Goto-Koshino, Y., Fujino, Y., Ohno, K., Tsujimoto, H. (2014). Evaluation of DNA methylation profiles of the CpG island of the *ABCB1* gene in dogs with lymphoma. *Am J Vet Res* 2014, 75: 835-841.

Turek, M. M., Saba, C., Paoloni, M. C., Argyle, D. J. (2008). Canine lymphoma and leucemia. In; Argyle, D. J., Brearley, M. J., Turek, M. M., (2008). *Decision Making in Small Animal Oncology*, (1st Ed., pp.171-196), Iowa, USA: Blackwell.

Vail, D.M., Young, K.M. (2007). Hematopoietic Tumors. In: Withrow, S.J. & MacEwen, E.G. *Small Animal Clinical Oncology*, (4^aEd., pp. 699-717), Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Vail, D. M., Michels, G. M., Khanna, C., Selting, K. A., London, C. A. (2009). Response evaluation criteria for peripheral nodal lymphoma in dogs (v1.0). – A Veterinary Co-operative Oncology Group (VCOG) Consensus Document.

Vail, D.M. (2011). Tumours of the hematopoietic system. In: Dobson, J. M. & Lascelles, B. D. X. *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*, (3^a Ed., pp.285-291), England: BSAVA.

Vail, D.M., Pinkerton, M.E., Young, K.M. (2013). Hematopoietic Tumors. In: Withrow, S.J. & MacEwen, E.G. *Small Animal Clinical Oncology*, (5^aEd., pp. 608-638), St Louis, Missouri: Saunders Company.

Valdovich, P., Psáder, R., Tóth, Z.A. & Perge, E. (2004). Use of the argyrophilic nucleolar region method for cytologic and histologic examination of the lymph nodes in dogs. *Vet Pathol*, 41(4), 338-345.

Valerius, K. D., Ogilvie, G. K., Mallinckrodt, C. H., Getzy, D. M. (1997). Doxorubicin alone or in combination with asparaginase, followed by cyclophosphamide, vincristine, and prednisone for treatment of multicentric lymphoma in dogs: 121 cases (1987-1995). *J Am Vet Med Assoc.*, 15, 210(4): 512-6.

Valli, V. E., Myint, M. S., Barthel, A., Bienzle, D., Caswell, J., Colbatzky, F., *et al.* (2011). Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. *Veterinary Pathology* 48(1), 198-211.

Veterinary cooperative oncology group – common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.1 (2011). *Vet Compar Oncol*, 2:195-213.

Villamil, J.A., Henry, C.J., Hahn, A.W., Bryan, J.N., Tyler, J.W. & Caldwell, C.W. (2009). Hormonal and sex impact on the epidemiology of canine lymphoma. *J Cancer Epidemiology*. doi:10.1155/2009/591753.

Wang, S. L., Lee, J. J., Liao, A. T. (2015). Chemotherapy-induced neutropenia is associated with prolonged remission duration and survival time in canine lymphoma. *The Veterinary Journal*, 205, 69-73.

Waugh, M. E., Gallagher, A., McAulay, K. A., Henriques, J., Alves, M., Bell, *et al.* (2015). Gammaherpesviruses and canine lymphoma: no evidence for direct involvement in commonly occurring lymphomas. *General Virology*, 96, 1863-1872.

Willmann, M., Mullauer, L., Guija de Arespachaga, A., Reifinger, M., Mosberger, J., Thalhammer, J. G. (2009). Pax5 immunostaining in paraffin-embedded sections of canine non-Hodgkin lymphoma: A novel canine pan pre-B- and B-cell marker. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128: 359-365.

Wypij, J., M. (2015). Rescue Protocols for Canine Lymphoma. Acedido em 18 de Fevereiro de 2016, disponível em: <http://www.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?pId=11719&meta=VIN&catId=37871&id=6812319&print=1>

8. Apêndices

8.1 Apêndice I - Caso clínico 1: Ruby

8.1.1 Análises laboratoriais

Tabela 15 - Hemograma realizado em laboratório. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	16/05/2015	21/07/2015	Valor de referência
Eritrócitos	7,6	5,8	mil/ μ l (5,4-8,5)
Hematócrito	55,7	40,9	% (35-55)
Hemoglobina	18,4	13,0	g/dL (12-18)
VCM	73,1	71,1	fL (60-77)
CHCM	33,1	31,6	g/dL (31-36)
RDW	13,3	16	% (11,9-14,5)
Leucócitos	16,4	4,4	10E9/L (5,8-20,3)
Neutrófilos	13,2	1,8	10E9/L (3,7-13,3)
Linfócitos	1,3	1,1	10E9/L (1-3,6)
Monócitos	1,4	0,6	10E9/L (0,2-0,7)
Eosinófilos	0,2	0,8	10E9/L (0,1-1,3)
Basófilos	0,1	0,0	10E9/L (<0,2)
Plaquetas	201,0	159	10E9/L (120-550)
VPM	13,1	22,6	fL (8,6-14,4)

Tabela 16 - Análises bioquímicas realizadas em laboratório.

Parâmetros	16/05/2015	18/05/2015	Valor de referência
Fosfatase alcalina	294	240	UI/L (<120)
ALT/GPT	356	41	UI/L (10-90)
Creatinina	1,6	1,3	mg/dL (0,4-1,2)
Ureia	68,6	—	mg/dL (15,0-68,5)
Proteínas totais	6,1	—	g/dL (5,0-7,0)
Albumina	3,0	2,7	g/dL (2,7-3,6)
Globulinas	3,1	—	g/dL (2-4)
Rácio Albumina/Globulinas	1,0	—	(0,5-12)
Cloro	112,2	—	mmol/L (105-120)
Sódio	146	—	mmol/L (135-151)
Potássio	4,7	—	mmol/L (3,5-5,6)
Rácio Sódio/Potássio	31,3	—	—
Cálcio	16,3	10	mmol/L (8,1-12,0)

8.1.2 Exames imagiológicos

TAC: o exame evidenciou marcada linfadenomegalia generalizada, com gânglios disformes. Nenhuma alteração visualizada a nível de fígado ou baço.

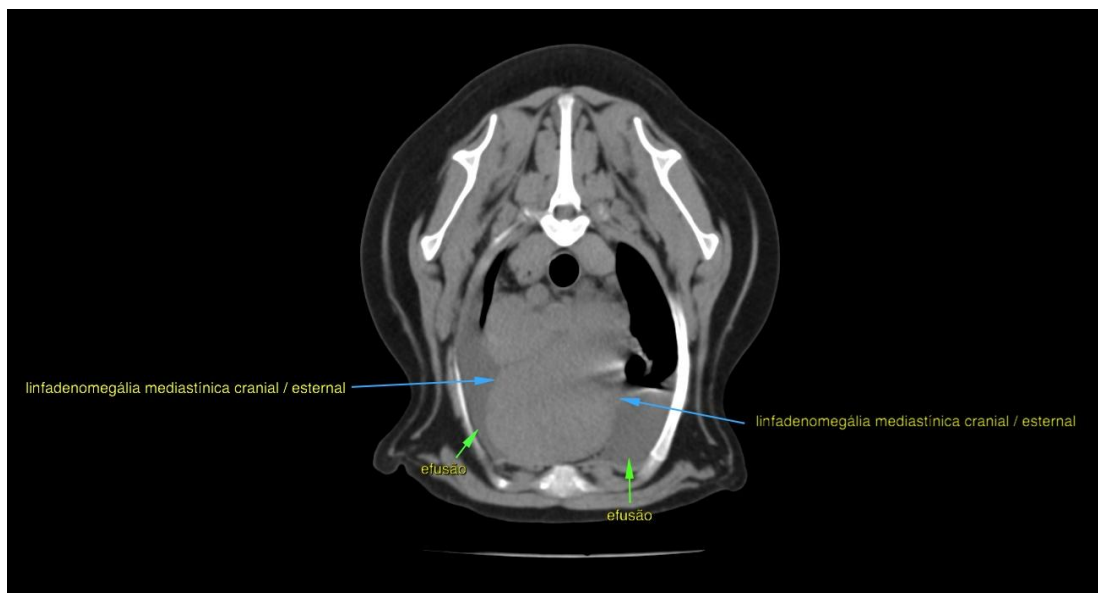


Figura 5 - TAC torácico do Ruby. Observa-se linfadenomegalia mediastínica cranial/esternal (setas de cor azul) e efusão pleural (setas de cor verde).

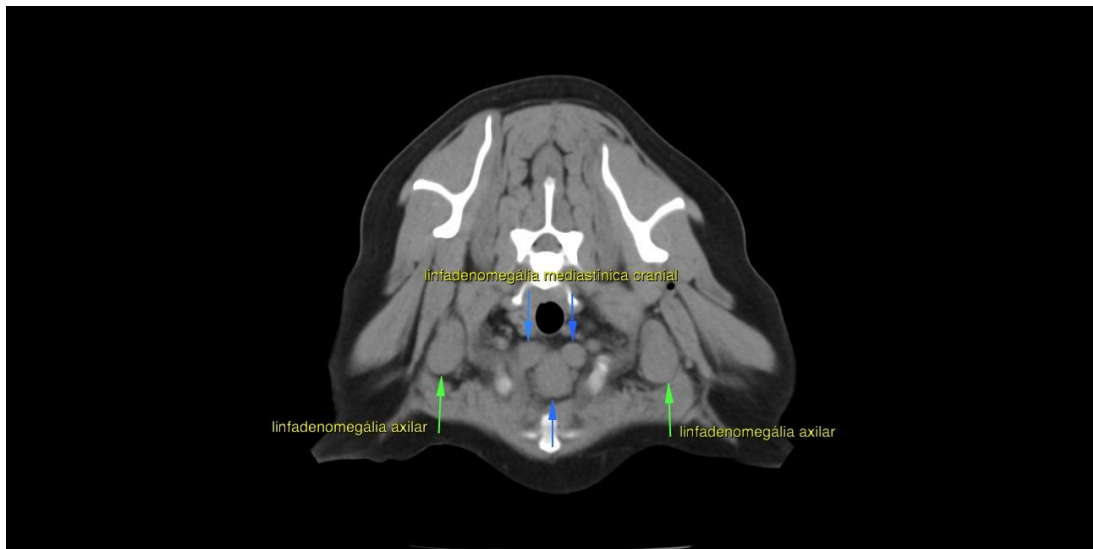


Figura 6 - TAC torácico do Ruby. Observa-se linfadenomegália mediastínica cranial e axilar (setas).

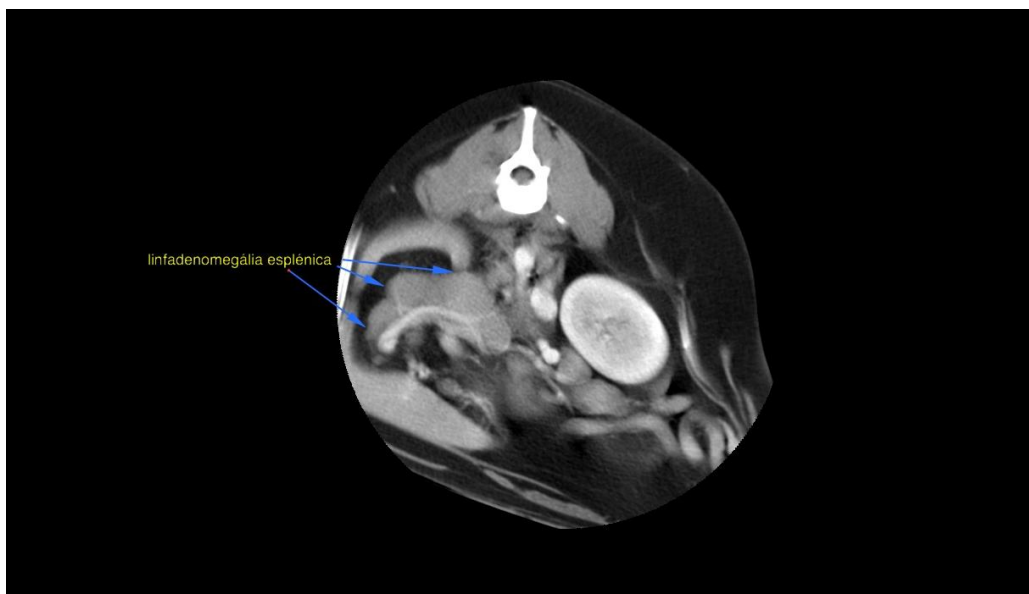


Figura 7 - TAC abdominal do Ruby. Observa-se linfadenomegália esplênica (setas).

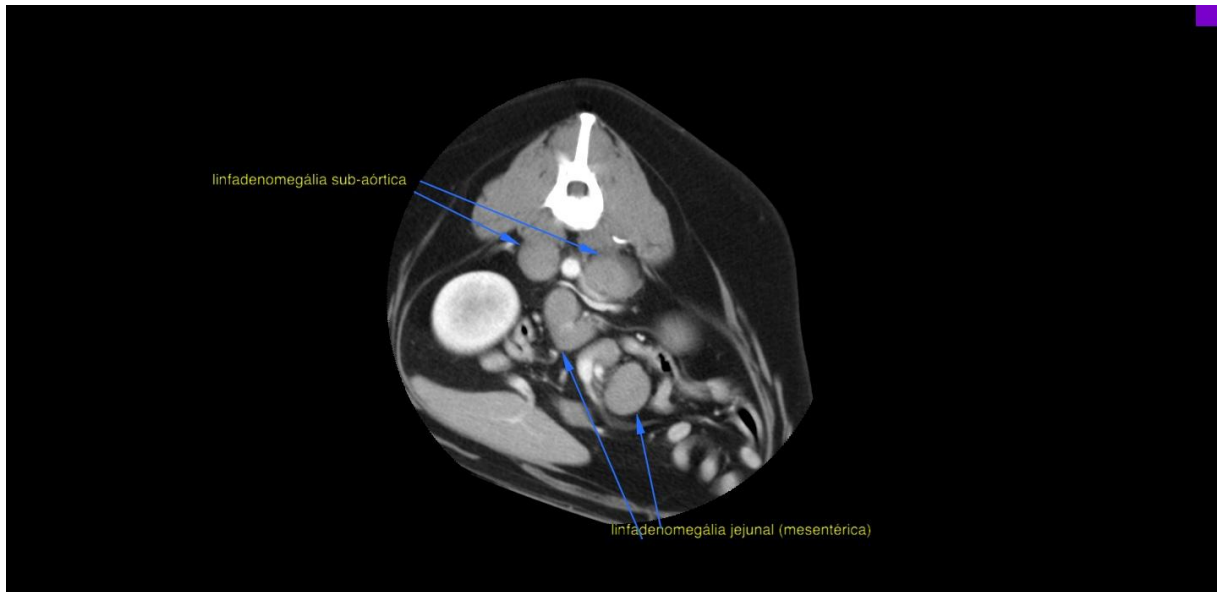


Figura 8 - TAC abdominal do Ruby. Observa-se linfadenomegália sub-aórtica e jejunal (setas).

8.1.3 Outros exames

Citologia Aspirativa por Agulha Fina (CAAF): A imagem de todas as localizações é idêntica, com lâminas de boa qualidade. A celularidade é elevada sobre um fundo proteináceo, com ocasionais células lisadas. A população é constituída por células linfóides de médias e grandes dimensões, com escassa a moderada quantidade de citoplasma basófilo e núcleo periférico redondo a levemente indentado, com cromatina levemente granular e 1-3 nucléolos evidentes, de dimensão variada. O índice mitótico é elevado (com 16 figuras de mitose/5 campos de grande ampliação), com ocasionais mitoses atípicas, e células apoptóticas. Visualizam-se ainda ocasionais macrófagos reativos em fagocitose de detrito celular e rara fagocitose de pigmento escuro (melanófagos), e raros linfócitos maduros, plasmócitos e eosinófilos. Frequentes corpos linfoglandulares de fundo. A imagem citológica é compatível com linfoma, provavelmente de alto grau. Foi aconselhado a determinação do tipo celular (B ou T). Citologia realizada no dia 14 de Maio de 2015.

Histopatologia: Observa-se uma infiltração celular difusa e densa no tecido ganglionar, que altera completamente sua arquitetura (não se define córtex e medula, e observa-se infiltração capsular). Trata-se de uma população de células linfoblásticas, de grande tamanho, com núcleo redondo ou irregular em seu contorno, cromatina irregular e rugosa, e nucléolo central evidente. A anisocitose é moderada e a anisocariose alta. O número de mitose é baixo-

moderado (0-3/400 x). Estas células espalham-se mais além da cápsula, infiltrando variavelmente o tecido adiposo peri-ganglionar. As biópsias remetidas são consistentes com o desenvolvimento de um linfoma nodal linfoblástico, processo maligno com potencial agressivo e metastático, de prognóstico reservado. Biópsia realizada no dia 15 de Maio de 2015.

Imunocitoquímica: Marcador CD3 (células T): As células neoplásicas arredondadas atípicas são difusamente positivas ao marcador. Estas células positivas representam aproximadamente 5% de todas as células linfoides reconhecíveis.

Marcador CD79a (células B; células plasmáticas): As células neoplásicas são difusamente positivas ao marcador. Representam aproximadamente 95% das células linfoides reconhecíveis.

Os resultados imunohistoquímicos são consistentes com um linfoma de células B.

8.2 Apêndice II - Caso clínico 2: Kuca

8.2.1 Análises laboratoriais

Tabela 17 - Hemograma realizado em laboratório no dia de admissão do paciente. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	12/12/2014	Valor de referência
Eritrócitos	5,1	mil/μl (5,4-8,5)
Hematócrito	35,6	% (35-55)
Hemoglobina	12,4	g/dL (12-18)
VCM	70,2	fL (60-77)
CHCM	33,3	g/dL (31-36)
RDW	13,5	% (11,9-14,5)
Leucócitos	4,8	10E9/L (5,8-20,3)
Neutrófilos	3,6	10E9/L (3,7-13,3)
Linfócitos	0,7	10E9/L (1-3,6)
Monócitos	0,3	10E9/L (0,2-0,7)
Eosinófilos	0,2	10E9/L (0,1-1,3)
Basófilos	0,0	10E9/L (<0,2)
Plaquetas	311	10E9/L (120-550)
VPM	13,3	fL (8,6-14,4)

Tabela 18 - Análises sanguíneas da Kuca, realizadas no hospital, ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	16/10/2015	10/11/2015	17/11/2015	24/11/2015	Valor de referência
Eritrócitos	6,45	5,81	5,9	4,96	mil/μl (5,5-8,5)
Hematócrito	47,4	44	44,4	37,2	% (35-55)
Hemoglobina	14,7	13,4	13,3	13	g/dL (10-18)
VCM	73,5	76,1	75,4	75,1	fL (58-73)
HCM	22,7	23	22,5	26,2	pg (19-25)
CCMH	31	30,3	29,9	34,9	g/dL (28-40)
Leucócitos	4,82	6,99	6,63	4,68	mil/μl (6,0-17,0)
Neutrófilos	4,13	6,06	5,6	3,96	mil/μl (3-11,5)
Linfócitos	0,62	0,81	0,89	0,65	mil/μl (1-4,8)
Monócitos	0,07	0,1	0,14	0,07	mil/μl (0,2-1,3)
Plaquetas	142	82	157	129	mil/μl (120-550)

Tabela 19 - Análises sanguíneas da Kuca, realizadas no hospital, ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	15/12/2015	23/12/2015	30/12/2015	Valor de referência
Eritrócitos	5,86	5,98	6,14	mil/ μ L (5,5-8,5)
Hematócrito	44,8	41,5	43,8	% (35-55)
Hemoglobina	12	12,6	13,2	g/dL (10-18)
VCM	76,5	69,4	71,4	fL (58-73)
HCM	20,4	21	21,4	pg (19-25)
CCMH	26,7	30,3	30,1	g/dL (28-40)
Leucócitos	8,84	6,95	6,12	mil/ μ L (6,0-17,0)
Neutrófilos	6,69	4,63	4,05	mil/ μ L (3-11,5)
Linfócitos	1,81	2,16	1,84	mil/ μ L (1-4,8)
Monócitos	0,34	0,16	0,23	mil/ μ L (0,2-1,3)
Plaquetas	140	227	302	mil/ μ L (120-550)

8.2.2 Outros exames

Citologia Aspirativa por Agulha Fina (CAAF): As lâminas têm moderada a elevada celularidade sobre um fundo proteináceo, com células lisadas e gotículas lipídicas. A população é constituída prevalentemente por células linfóides de médias e grandes dimensões, com escassa a moderada quantidade de citoplasma basófilo e núcleo periférico redondo a levemente indentado, com cromatina heterogênea e nucléolo pouco evidente. Ocasionais células linfóides de pequenas dimensões e frequentes corpos linfoglandulares de fundo. Ocasionais mitoses atípicas. A imagem citológica é compatível com linfoma. Citologia realizada a 12 de Dezembro de 2014.

8.3 Apêndice III - Caso clínico 3: Puchi

8.3.1 Análises laboratoriais

Tabela 20 - Análises sanguíneas do Puchi ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	26/10/2015	10/11/2015	24/11/2015	01/12/2015	Valor de referência
Eritrócitos	4,13	4,02	4,64	4,29	mil/ul (5,5-8,5)
Hematócrito	29	27,1	31,8	30,3	% (35-55)
Hemoglobina	7,9	8,0	9,2	7,6	g/dL (10-18)
VCM	70,4	67,5	68,6	70,7	fl (58-73)
HCM	19,1	19,9	19,8	17,7	pg (19-25)
CCMH	27,2	29,5	28,9	25,0	g/dL (28-40)
Leucócitos	11,52	4,12	10,11	6,03	mil/ul (6,0-17,0)
Neutrófilos	9,86	2,84	8,74	5,07	(3-11,5)
Linfócitos	1,4	1,15	1,12	0,85	(1-4,8)
Monócitos	0,26	0,13	0,25	0,11	(0,2-1,3)
Plaquetas	134	271	143	129	mil/ul (120-550)

Tabela 21 - Análises sanguíneas do Puchi ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	09/12/2015	22/12/2015	28/12/2015	Valor de referência
Eritrócitos	4,16	4,82	4,24	mil/ul (5,5-8,5)
Hematócrito	29,2	34,3	30,1	% (35-55)
Hemoglobina	8,2	8,9	8,7	g/dL (10-18)
VCM	70,4	71,2	71,1	fl (58-73)
HCM	19,7	18,4	20,5	pg (19-25)
CCMH	28,0	25,9	28,9	g/dL (28-40)
Leucócitos	4,76	8,30	7,32	mil/ul (6,0-17,0)
Neutrófilos	3,64	7,40	6,45	(3-11,5)
Linfócitos	0,96	0,78	0,70	(1-4,8)
Monócitos	0,16	0,12	0,17	(0,2-1,3)
Plaquetas	106	166	45	mil/ul (120-550)

Tabela 22 - Análises bioquímicas do Puchi ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	09/10/2015	19/10/2015	04/11/2015	09/01/2016	Valor de referência
Fosfatase alcalina	—	1572	—	—	U/L (29-250)
ALT/GPT	112	92	107	120	U/L (9,0-90)
Creatinina	1,0	1,4	1,2	1,3	mg/dL (0,6-1,5)
BUN	—	—	—	—	mg/dL (9-30)
Proteínas totais	7,6	—	—	7,2	g/dL (5,0-7,0)

8.3.2 Exames imagiológicos

Ecografia abdominal: Ao exame ecográfico visualizou-se esplenomegália juntamente com alguma heterogeneidade do parênquima esplênico e observou-se um aumento acentuado dos gânglios mesentéricos. Os restantes órgãos apresentavam-se com uma ecogenicidade, tamanho e contornos normais. Não foi realizada CAAF a nenhuma das estruturas alteradas. Exame realizado no dia 24 de Fevereiro de 2015.

8.3.3 Outros exames

Citologia Aspirativa por Agulha Fina (CAAF): Uma das lâminas com abundante celularidade, mas com células na sua maioria rupturadas. Marcada presença de corpos linfoglandulares. Outras duas lâminas com significativa componente hemática e células linfóides em padrão disperso. Células de tamanho médio a grande, citoplasma escasso de basofilia intensa, por vezes com discreto halo pálido perinuclear. Núcleos arredondados irregulares, de cromatina fina, com nucléolos proeminentes (número e tamanho variável). Embora se tenham identificado esporádicas figuras de mitose, não foi possível avaliar o índice mitótico. A imagem citológica é compatível com linfoma. Foi aconselhado pelo laboratório a determinação do tipo celular (B ou T), através de imunocitoquímica ou imunohistoquímica. Citologia realizada no dia 19 de Fevereiro de 2015 pelos colegas de outro CAMV.

8.4 Apêndice IV - Caso clínico 4: Lira

8.4.1 Análises laboratoriais

Tabela 23 - Análises sanguíneas da Lira. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	16/10/2015	Valor de referência
Eritrócitos	4	mil/ μ l (5,5-8,5)
Hematócrito	29,4	% (35-55)
Hemoglobina	9	g/dl (10-18)
VCM	73,6	fl (58-73)
HCM	22,5	pg (19-25)
CCMH	30,6	g/dl (28-40)
Leucócitos	24,46	mil/ μ l (6,0-17,0)
Neutrófilos	19,33	mil/ μ l (3-11,5)
Linfócitos	4,25	mil/ μ l (1-4,8)
Monócitos	0,88	mil/ μ l (0,2-1,3)
Plaquetas	147	mil/ μ l (120-550)

Tabela 24 - Análises bioquímicas da Lira. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	16/10/2015	17/10/2015	Valor de referência
Fosfatase alcalina	601	—	U/L (29-250)
ALT/GPT	124	—	U/L (9,0-90)
Creatinina	0,8	—	mg/dL (0,6-1,5)
BUN	9,6	—	mg/dL (9-30)
Proteínas totais	4,2	—	g/dL (5,0-7,0)
Glucose	110	94	mg/dL (60-120)
Cloro	—	111	mmol/L (95-120)
Sódio	—	142	mmol/L (138-162)
Potássio	—	3,6	mmol/L (4,0-6,0)

8.4.2 Outros exames

Citologia Aspirativa por Agulha Fina (CAAF): população celular prevalentemente constituída por células linfóides de pequenas e médias dimensões, frequentemente em forma de "raquete de ténis", com moderada quantidade de citoplasma basófilo, e núcleo arredondado, com cromatina reticular heterogénea e 1-3 nucléolos evidentes. Observam-se ocasionais corpos linfoglandulares, ocasionais mitoses atípicas e raras células apoptóticas. Raros plasmócitos e macrófagos de corpos tingíveis. O quadro citológico é suspeito de linfoma, mas a presença de uma população considerável de pequenos linfócitos e raros plasmócitos não permite um diagnóstico definitivo. Exame realizado no dia 17 de Outubro de 2015.

Imunocitoquímica: foi realizado estudo imunocitoquímico da expressão das proteínas CD3 e CD79a, em duas amostras de CAAF de gânglio linfático. Observou-se que a maioria das células neoplásicas apresentam imunoreactividade para CD3, sendo que apenas menos de 10% das células são positivas para CD79a. Estes dados são diagnósticos de linfoma T, sendo compatíveis com a morfologia linfocitária em "raquete de ténis" descrita na citologia. Estudo realizado no dia 17 de Outubro de 2015.

8.5 Apêndice V - Caso clínico 5: Pintas

8.5.1 Análises laboratoriais

Tabela 25 - Análises sanguíneas da Pintas ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	26/12/2015	02/01/2016	06/02/2016	13/02/2016	05/03/2016	Valor de referência
Eritrócitos	7,44	8,1	6,99	7,49	7,46	mil/μl (5,5-8,5)
Hematócrito	51,6	56,5	47,6	52,6	52,5	% (35-55)
Hemoglobina	14,1	17	16,1	15,3	15,1	g/dL (10-18)
VCM	69,4	69,8	68,2	70,3	70,4	fl (58-73)
HCM	18,9	20,9	23	20,4	20,2	pg (19-25)
CCMH	27,3	30	33,8	29,0	28,7	g/dL (28-40)
Leucócitos	18,21	4,75	9,13	13,4	12,25	mil/μl (6,0-17,0)
Neutrófilos	14,05	3,1	6,79	8,24	10,4	mil/μl (3-11,5)
Linfócitos	3,62	1,36	1,96	4,44	1,58	mil/μl (1-4,8)
Monócitos	0,54	0,28	0,38	0,72	0,26	mil/μl (0,2-1,3)
Plaquetas	231	238	196	196	185	mil/μl (120-550)

Tabela 26 - Análises sanguíneas da Pintas ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	19/03/2016	02/04/2016	10/04/2016	16/04/2016	23/04/2016	Valor de referência
Eritrócitos	5,84	5,07	5,03	4,71	4,93	mil/μl (5,5-8,5)
Hematócrito	41,5	35,5	34,5	32,7	34,6	% (35-55)
Hemoglobina	14,7	11,0	10,2	10,3	10,1	g/dL (10-18)
VCM	71,1	70,1	68,7	69,5	70,2	fl (58-73)
HCM	25,1	21,6	20,2	21,8	20,4	pg (19-25)
CCMH	35,4	30,9	29,5	31,4	29,1	g/dL (28-40)
Leucócitos	9,94	16,69	36,01	25,41	44,49	mil/μl (6,0-17,0)
Neutrófilos	7,35	12,4	28,64	18,6	35,33	mil/μl (3-11,5)
Linfócitos	1,92	3,33	6,26	5,48	6,67	mil/μl (1-4,8)
Monócitos	0,67	0,95	1,11	1,32	2,49	mil/μl (0,2-1,3)
Plaquetas	—	124	190	86	54	mil/μl (120-550)

Tabela 27 - Análises bioquímicas da Pintas ao longo do protocolo de quimioterapia. Parâmetros fora dos valores normais salientados a azul.

Parâmetros	09/04/2016	Valor de referência
Fosfatase alcalina	518	U/L (29-250)
ALT/GPT	45	U/L (9,0-90)
Creatinina	0,5	mg/dL (0,6-1,5)
BUN	—	mg/dL (9-30)
Proteínas totais	5,4	g/dL (5,0-7,0)
Glucose	—	mg/dL (60-120)
Cloro	103	mmol/L (95-120)
Sódio	140	mmol/L (138-162)
Potássio	3,6	mmol/L (4,0-6,0)

8.5.2 Outros exames

Citologia Aspirativa por Agulha Fina (CAAF): Plano de fundo com moderado conteúdo hemático, diversos núcleos livres e abundante quantidade de corpos linfoglandulares. População homogênea de células linfóides, composta por clara maioria de linfócitos grandes, citoplasma de basofilia acentuada, núcleos arredondados irregulares (por vezes indentados) de cromatina fina, com múltiplos nucléolos proeminentes. Moderado índice mitótico, contabilizando-se até 2-3 figuras de mitose por 5 campos de grande ampliação. Variados linfócitos pequenos maduros, plasmócitos, alguns eosinófilos. Alguns neutrófilos não degenerados e macrófagos com fagocitose de corpos tingíveis. Não se identificaram agentes etiológicos. Dados reportados foram compatíveis com linfoma, sendo aconselhável a determinação do tipo celular (B ou T) através de imunocitoquímica através de análises citológicas ou imunohistoquímica em cortes histopatológicos. Exame realizado no dia 8 de Dezembro de 2016.

Imunofenotipagem: No dia 8 de Janeiro, foram recolhidas amostras de CAAF de gânglios linfáticos para imunofenotipagem em laboratório. Foram utilizados os anticorpos CD3 e CD21. Contudo, devido à ineficiência do anticorpo CD21, não foi possível confirmar a imunofenotipagem do linfoma. A técnica foi novamente realizada com novas amostras, com auxílio de outros anticorpos para linfócitos B (PAX5 e Ki67) (Figura XYZ).

PAX5 (+) (células B): marcação positiva em mais de 80% das células.

Ki67: marcação em 50-70% das células (alto grau).

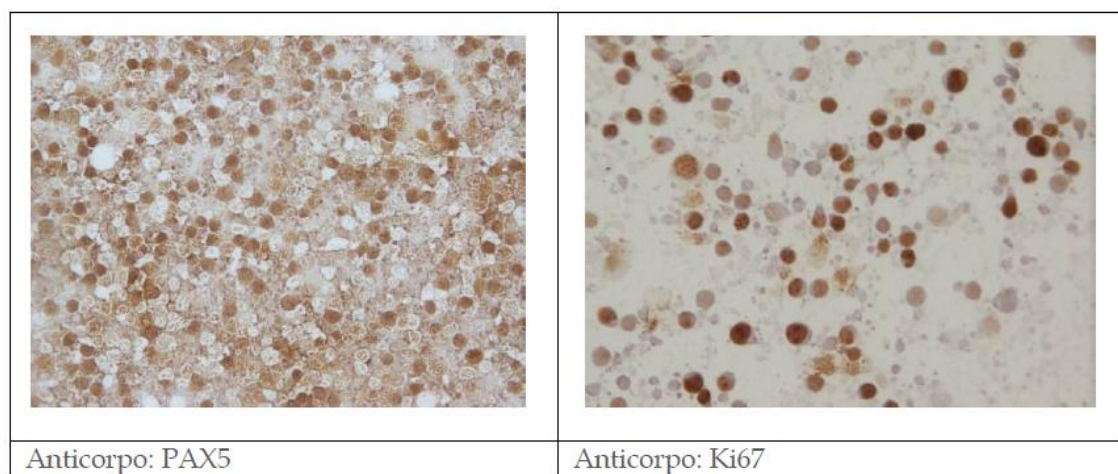


Figura 9 - Linfoma B centroblástico com alto grau de malignidade (Classificação adaptada de Kiel). Imunofenotipagem com os anticorpos PAX5 e Ki67.

8.6 Apêndice VI - Ficha modelo de acompanhamento do paciente oncológico

O protocolo apresentado foi concebido apenas como exemplo para 4 semanas. O restante tratamento continua consoante o protocolo escolhido para o paciente (COP ou CHOP).