



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

RELEVÂNCIA DA IMUNOFENOTIPAGEM NO OUTCOME CLÍNICO EM CÃES COM LINFOMA

Dissertação apresentada a provas públicas para a obtenção do grau de mestre em
Medicina Veterinária, orientado por Professora Doutora Joana Tavares de Oliveira

Paulo Miguel da Graça dos Santos Pina, nº 21803187

2024

www.ulusofona.pt



UNIVERSIDADE

LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

RELEVÂNCIA DA IMUNOFENOTIPAGEM NO OUTCOME CLÍNICO EM CÃES COM LINFOMA

VERSÃO FINAL

Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa, no dia 15/03/2024, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação n.º: 749/2024, de 04 de março, com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Mariana Batista

Arguente: Professor Doutor Joaquim Henriques

Orientador: Professora Doutora Joana Oliveira

Paulo Miguel da Graça dos Santos Pina, nº 21803187

2024

www.ulusofona.pt

Be curious, not judgmental.

Marguerite Shearer & Marshall Shearer

Agradecimentos

Primeiramente, quero agradecer à Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa por fornecer a base académica e os recursos essenciais para a conclusão do Mestrado e desta dissertação, assim como me colocar em contato com profissionais de excelência durante todo o percurso académico. Também estou grato à Faculdade de Medicina Veterinária por me atribuir uma bolsa de investigação que contribuiu significativamente para o desenvolvimento desta dissertação.

Quero dar um agradecimento especial à Professora Doutora Joana pelo apoio inabalável, orientação e rigor científico ao longo da dissertação. A sua paixão pela oncologia e investigação científica tem sido inspiradora, incutindo em mim o gosto pela investigação científica.

Agradeço do fundo do coração à Dr^a. Patrícia Lopes do ARHV pelo excecional apoio e orientação em oncologia durante o meu estágio. A sua experiência médica, inteligência emocional, compaixão pelos animais e mentoria foram inestimáveis e irei, certamente, recordar para a vida.

Também quero agradecer ao Dr. Ricardo Medeiros por partilhar comigo o seu extenso conhecimento sobre ecografia e pelas conversas interessantes, profundas e divertidas que tivemos nas salas de ecografia ao longo das semanas que passámos juntos.

Agradeço ainda à Sara Marques pela ajuda na minha dissertação, especialmente na parte estatística, contribuindo assim para o sucesso desta dissertação.

Quero expressar a minha apreciação a toda a equipa do ARHV, incluindo a equipa de fisioterapia, por me fazer sentir parte da equipa. A camaradagem, as oportunidades e os momentos partilhados foram especiais e verdadeiramente apreciados. Agradeço especialmente aos outros estagiários, Carla Figueiredo, Celeste Firmino, Francisca Ferreira, Joana Santos, Leonor Ferreira, Lourenço Prata, Mariana António, Mariana Barboza, Mariana Mansilha, Zuzanna Tomczak e Julia Szupienko, pela camaradagem e risos durante o estágio.

Um agradecimento gigante à Beatriz, o meu amor, pelo apoio inabalável, amor e força emocional durante os momentos mais desafiantes que passei, tanto durante o curso, como durante o estágio. A tua presença tem sido uma âncora para mim, e aguardo a oportunidade de envelhecer contigo.

A minha gratidão profunda aos meus pais por me proporcionarem a oportunidade de seguir esta minha vocação. O seu apoio e sacrifícios ao longo do meu curso foram fundamentais na minha jornada académica e não me irei esquecer o que passaram para continuarem a apoiar-me durante todo o percurso.

Quero também dedicar esta dissertação aos meus dois companheiros, Zoey e Barrum, que estiveram sempre ao meu lado durante o curso e o estágio. Zoey, especialmente, ocupas um lugar especial no meu coração por ser a minha fonte de conforto e companhia nos momentos difíceis que passei, e todas as aventuras que já passámos juntos até hoje. Espero continuar a ir nadar contigo para o rio durante mais anos.

Agradeço aos meus "Velhotes", Kahnu e Inês, pelo apoio emocional e pelos momentos alegres que partilhámos, incluindo as nossas brincadeiras disparatadas e aventuras com trombones.

Agradeço à Sara Fernandes, pela sua amizade e proximidade, assim como todos os *snacks* que me proporcionou.

Quero ainda agradecer ao Francisco Silva, João Martins, José Fernandes e Lourenço Prata pelo companheirismo durante o curso.

Agradeço ainda a todas as pessoas que, de certa forma, fizeram parte da minha jornada e contribuíram de diversas formas. A vossa presença e apoio são verdadeiramente apreciados.

Resumo

O linfoma canino é uma das doenças neoplásicas diagnosticadas com maior frequência no cão, sendo considerada uma das três neoplasias mais comuns nesta espécie. Uma das ferramentas de diagnóstico disponíveis para os médicos veterinários é a imunofenotipagem. O imunofenótipo do linfoma, que pode ser B ou T, é um fator de prognóstico forte, servindo para prever o desenvolvimento clínico da doença. Vários estudos identificaram o imunofenótipo T como sendo o mais agressivo, apresentando uma taxa de resposta à quimioterapia, duração da resposta, período de remissão e sobrevida inferiores ao imunofenótipo B.

Este estudo retrospectivo pretendeu investigar a influência do imunofenótipo na escolha do protocolo terapêutico e *outcome* clínico em cães com linfoma canino. O estudo, realizado com informação recolhida no ARHV, analisou retrospectivamente vinte e nove casos de cães entre janeiro de 2018 e junho de 2023, com historial clínico documentado, um diagnóstico de linfoma, imunofenotipagem realizada e com, no mínimo, quatro sessões de quimioterapia realizadas. Com os dados recolhidos, foi construída uma base de dados e realizada a sua análise estatística.

A maioria dos linfomas era de imunofenótipo B (n=24, 82,8%), sendo os restantes (n=5, 17,2%) de imunofenótipo T. Apesar de não ser estatisticamente significativo, os cães com linfoma de imunofenótipo B apresentaram, em média, um tempo de sobrevida superior aos de imunofenótipo T.

Apenas 8 cães (27,6%) começaram um protocolo quimioterápico após a realização da imunofenotipagem, com os restantes 21 (72,3%) a iniciarem um protocolo antes de saberem o imunofenótipo do linfoma. O CHOP foi o tratamento mais utilizado como primeira abordagem em mais de 90% dos casos (n=27, 93,1%). Os restantes protocolos utilizados como primeira abordagem foram o LOP (n=1, 3,4%) e um protocolo constituído por lomustina, prednisona ou prednisolona (LP) (n=1, 3,4%).

Dos 21 cães, apenas 3 (14,3%) sofreram uma alteração do protocolo depois de saberem o imunofenótipo. Destes 3, 2 (66,6%) eram de imunofenótipo T, não sendo, no entanto, a correlação estatisticamente significativa.

Foi obtida uma correlação positiva entre o imunofenótipo e cálcio ionizado aumentado no momento do diagnóstico, que corresponde ao descrito na literatura.

Até à data desta dissertação, não existiam estudos a demonstrar um possível impacto positivo ou negativo do imunofenótipo na alteração do protocolo, sendo esta dissertação o primeiro estudo sobre este tema. O tamanho da amostra foi a limitação principal deste estudo

e, apesar de não ter sido obtida uma correlação positiva entre o imunofenótipo e a alteração do protocolo terapêutico, este é um tema que requer investigações adicionais. Sem estudos prospectivos significativos que avaliem protocolos alternativos em imunofenótipos específicos, em particular o T, a imunofenotipagem irá continuar a servir principalmente como ferramenta de prognóstico no desenvolvimento oncológico, em vez de uma ferramenta com influência nas decisões do tratamento.

Palavras-chave: linfoma canino; imunofenotipagem; *outcome* clínico; protocolo terapêutico; oncologia veterinária.

Abstract

Canine lymphoma is one of the most frequently diagnosed neoplastic diseases in dogs, being considered one of the three most common neoplasms in this species. Immunophenotyping is one of the diagnostic tools available to veterinarians. The immunophenotype of lymphoma, which can be B or T, is a strong prognostic factor, helping predict the clinical development of the disease. Several studies have identified the T immunophenotype as the most aggressive, showing a lower response rate to chemotherapy, shorter response duration, remission period, and survival compared to the B immunophenotype.

This retrospective study aimed to investigate the influence of the immunophenotype on the choice of therapeutic protocol and clinical outcomes in dogs with canine lymphoma. The study, conducted using information collected from the ARHV, retrospectively analyzed twenty-nine cases of dogs between January 2018 and June 2023, with documented clinical history, a diagnosis of lymphoma, immunophenotyping testing performed, and a minimum of four chemotherapy sessions. A database was constructed with the collected data, and statistical analysis was performed.

The majority of lymphomas were of the B immunophenotype (n=24, 82.8%), with the remaining cases (n=5, 17.2%) being of the T immunophenotype. Although not statistically significant, patients with B immunophenotype lymphoma had, on average, a longer survival time than those with T immunophenotype.

Only 8 dogs (27.6%) started a chemotherapy protocol after immunophenotyping, while the remaining 21 (72.3%) initiated a protocol before knowing the lymphoma's immunophenotype. CHOP was the most commonly used chemotherapy protocol as first approach in over 90% of cases (n=27, 93.1%). The remaining protocols used as first approach were LOP (n=1, 3.4%) and a protocol consisting of lomustine, prednisone or prednisolone (LP) (n=1, 3.4%).

Out of the 21 patients, only 3 (14.3%) underwent a protocol change after knowing the immunophenotype. Of these 3, 2 (66.6%) had a T immunophenotype, although the correlation was not statistically significant.

A positive correlation was found between the immunophenotype and increased ionized calcium at the time of diagnosis, consistent with the literature.

As of the date of this dissertation, there were no studies demonstrating a possible positive or negative impact of the immunophenotype on protocol changes, making this dissertation the first study on this topic. The sample size was the main limitation of this study,

and despite not obtaining a positive correlation between immunophenotype and changes in the therapeutic protocol, this is a subject that requires further investigation. Without significant prospective studies evaluating alternative protocols in specific immunophenotypes, particularly T, immunophenotyping will continue to primarily serve as a prognostic tool in oncological development rather than a tool influencing treatment decisions.

Keywords: canine lymphoma; immunophenotyping; clinical outcome; therapeutic protocol; veterinary oncology.

Lista de abreviaturas

ALP - Fosfatase Alcalina (do inglês *Alkaline Phosphatase*)

ARHV - AniCura Restelo Hospital Veterinário

CAR-T - Células T com Recetores de Antígeno Quimérico (do inglês *Chimeric Antigen Receptor Therapy*)

CDK4 - Cinase 4 dependente de Ciclina (do inglês *Cyclin-dependent Kinase 4*)

CHOP - Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Oncovin® (Vincristina), Prednisona ou Prednisolona

COP - Ciclofosfamida, Oncovin® (Vincristina), Prednisona ou Prednisolona

CT - Tomografia Computorizada (do inglês *Computerized Tomography*)

DII-LP - Doença Inflamatória Intestinal Linfoplasmocitária

DNA - Ácido desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*)

FDA - *Food and Drug Administration*

GL - Gânglios linfáticos

gp-P - Glicoproteína P

GST - Glutathione S-transferase

GSTT1 - Glutathione S-transferase teta-1

HSP – Proteína de Choque Térmico (do inglês *Heat Shock Protein*)

IBM - *International Business Machines*

iCa - Cálcio ionizado

IL-1 - Interleucina-1

ILD – Intervalo Livre de Doença

IM - Intramuscular

Kg - Quilograma

L - Litro

L-CHOP - L-asparaginase, Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Oncovin® (Vincristina), Prednisona ou Prednisolona

LCP – Lomustina, Ciclofosfamida, Prednisona ou Prednisolona

LCR - Líquido Cefalorraquidiano

LOP – Lomustina, Oncovin® (Vincristina), Prednisona ou Prednisolona

LOPP - Lomustina, Oncovin® (Vincristina), Procarbazina, Prednisona ou Prednisolona

LP – Lomustina, Prednisona ou Prednisolona

LVP – Lomustina, Oncovin® (Vincristina), Prednisona ou Prednisolona

m² - Metro Quadrado

MCP1 - Proteína Químioatraente de Monócitos 1 (do inglês *Monocyte Chemoattractant Protein-1*)

MDR1 - Resistência a Múltiplas Drogas 1 (do inglês *Multidrug Resistance Mutation*)

mg - Miligrama

mmol - Milimole

MMP - Metaloproteinase da Matriz (do inglês *Matrix Metalloproteinases*)

MOPP - Mustargen® (Mecloretamina), Oncovin® (Vincristina), Procarbazina, Prednisona ou Prednisolona

MOPP - Mustargen®, Oncovin® (Vincristina), Procarbazina, Prednisona ou Prednisolona

MRI – Ressonância Magnética (do inglês *Magnetic Resonance Imaging*)

n – Tamanho da Amostra

NK - Natural Killer (do inglês *Natural Killer cells*)

OMS – Organização Mundial de Saúde

p – Nível de significância

PAAF - Punção Aspirativa por Agulha Fina

PARR - PCR para Rearranjos de Recetores de Antígeno (do inglês *PCR for Antigen Receptor Rearrangement*)

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês *Polymerase Chain Reaction*)

PDGFRA - Recetor A do Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (do inglês *Platelet-derived Growth Factor Receptor A*)

PET-CT - Tomografia por Emissão de Positrões com Tomografia Computorizada (do inglês *Positron Emission Tomography-Computer Tomography*)

PO - Pela Boca (adaptado do latim *per os*)

PTHrP – Hormona relacionada com a Paratiróide (do inglês *Parathyroid Hormone-related Protein*)

R-CHOP - Rituximab, Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Oncovin® (Vincristina), Prednisona ou Prednisolona

RNA - Ácido Ribonucleico (do inglês *Ribonucleic Acid*)

SC - Subcutâneo

SNC - Sistema Nervoso Central

SPSS - *Statistical Package for Social Sciences*

TFPI-2 - Inibidor da Via do Fator Tecidual 2 (do inglês *Tissue Factor Pathway Inhibitor 2*)

TGF- β - Fator de Crescimento Transformante Beta (do inglês *Transforming Growth Factor Beta*)

TK - Cinases de Tirosina (do inglês *Tyrosine Kinases*)

TKR – Recetores de Cinases de Tirosina (do inglês *Tyrosine Kinase Receptors*)

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa (do inglês *Tumor Necrosis Factor Alfa*)

TQ1 - Timidina Quinase 1

UI - Unidade Internacional (do inglês *International Unit*)

VEFG - Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (do inglês *Vascular Endothelial Growth Factor*)

VEGFR2 - Recetor 2 do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (do inglês *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2*)

VELCAP-TSC - Oncovin® (Vincristina), L-asparaginase, Doxorrubicina, Ciclofosfamida, Prednisona ou Prednisolona, Actinomicina D, Lomustina, Procarbazina

XPO-1 - Exportina-1 (do inglês *Exportin 1*)

Índice Geral

Índice de tabelas	13
Índice de Figuras.....	13
Índice de Gráficos	14
I. Descrição do estágio curricular	15
II. Dissertação de mestrado.....	18
1. Introdução.....	18
1.1. Introdução ao linfoma canino.....	18
1.2. Epidemiologia do linfoma canino.....	18
1.3. Etiologia do linfoma canino	19
1.3.1. Fatores ambientais	19
1.3.2. Fatores genéticos e moleculares	20
1.3.3. Fatores imunológicos	21
1.3.4. Fatores infecciosos.....	21
1.4. Classificação	22
1.4.1. Forma multicêntrica	22
1.4.2. Forma alimentar.....	22
1.4.3. Forma mediastínica	23
1.4.4. Forma cutânea.....	23
1.4.5. Forma indolente	24
1.5. Classificação histológica	24
1.6. Diagnóstico	25
1.6.1. Historial e sinais clínicos.....	25
1.6.2. Síndromes paraneoplásicas	26
1.6.3. Exame físico.....	27
1.6.4. Hemograma, análises bioquímicas e urianálise	27
1.6.5. Citologia e histologia	29

1.6.6. Técnicas de diagnóstico molecular	30
1.6.7. Ensaio de clonalidade.....	30
1.6.8. Proteômica	31
1.6.9. Biomarcadores	31
1.7. Imunofenotipagem	32
1.8. Estadiamento clínico.....	33
1.8.1. Imagiologia	34
1.8.2. Avaliação da medula óssea	35
1.9. Tratamento.....	35
1.9.1. Tratamento médico	35
1.9.1.1. Glucocorticóides	38
1.9.1.2. Protocolos quimioterápicos mono-fármacos	38
1.9.1.2.1. Clorambucil	39
1.9.1.2.2. Doxorrubicina.....	39
1.9.1.2.3. L-asparaginase	40
1.9.1.2.4. Lomustina	41
1.9.1.3. Protocolos quimioterápicos de múltiplos fármacos	41
1.9.1.4. Reindução e resgate	43
1.9.2. Tratamento cirúrgico	44
1.9.3. Radioterapia	45
1.9.4. Imunoterapia.....	46
1.9.4.1. Anticorpos monoclonais.....	46
1.9.4.2. Vacinas anti-tumorais	46
1.9.4.3. Imunoterapia adaptativa	47
1.9.5. Inibidores de moléculas pequenas.....	48
1.10. Prognóstico	49
III. Estudo retrospectivo de 29 casos de linfoma canino	52
1. Material e métodos.....	52

1.1. Critérios de inclusão	52
1.2. Critérios de exclusão	52
1.3. Recolha de dados.....	52
1.4. Análise estatística	53
2. Resultados.....	54
2.1. Caraterização da amostra.....	54
2.1.1. Idade	54
2.1.2. Raça.....	55
2.1.3. Sintomas na consulta inicial	56
2.1.4. Sinais clínicos na consulta inicial	56
2.1.5. Exame ecográfico.....	57
2.1.6. Tipo de linfoma	58
2.2. Diagnóstico	59
2.2.1. Tamanho celular, grau e imunofenótipo	59
2.2.2. Estadiamento	61
2.3. Tratamento quimioterápico	61
2.3.1. Indução	61
2.3.2. Reindução e resgate	62
2.3.3. Efeitos secundários da quimioterapia	62
2.3.4. Hospitalização	63
2.3.5. Duração da primeira remissão.....	63
2.3.6. Tempo de sobrevida	63
2.4. Análise do tempo de sobrevida.....	64
2.4.1. Imunofenótipo.....	64
2.4.2. Subestádio	65
2.4.3. Prednisolona	66
2.4.4. Anemia	67
2.4.5. Trombocitopenia.....	68

2.5. Análise correlacional.....	69
2.5.1. Alteração do protocolo.....	69
2.5.2. Imunofenótipo.....	69
2.5.3. Anemia	70
2.5.4. Prednisolona	70
2.5.5. Cálcio ionizado	70
3. Discussão	70
4. Conclusão.....	80
5. Referências bibliográficas	81
Apêndice I	I
Apêndice II	II
Apêndice III	III
Apêndice IV	IV
Apêndice V	V
Apêndice VI.....	VI
Apêndice VII.....	VII

Índice de tabelas

Tabela 1 - Estadiamento clínico, segundo a OMS	33
Tabela 2 - Potenciais indicações para radioterapia no linfoma.....	45
Tabela 3 - Fatores de prognóstico	50
Tabela 4 - Distribuição da amostra de conforme a raça	55
Tabela 5 - Distribuição da amostra conforme a base do protocolo quimioterápico.....	62
Tabela 6 - Distribuição da amostra conforme os efeitos secundários à quimioterapia	62
Tabela 7 - Média e mediana da amostra que atingiu uma primeira remissão total	63
Tabela 8 - Relação entre o imunofenótipo e várias hipóteses	70

Índice de Figuras

Figura 1 - Distribuição dos animais observados	16
---	----

Figura 2 - Distribuição das diferentes especialidades observadas	17
Figura 3 - Tipo de linfoma	59

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição da amostra conforme a idade.....	54
Gráfico 2 - Distribuição da amostra conforme a faixa etária	55
Gráfico 3 – Distribuição da amostra conforme os sintomas à consulta	56
Gráfico 4 – Distribuição dos sinais clínicos ao exame físico e problemas nas análises laboratoriais da primeira consulta	57
Gráfico 5 – Distribuição da amostra consoante o exame ecográfico do baço e fígado.....	58
Gráfico 6 - Distribuição da amostra conforme o tamanho celular do linfoma.....	60
Gráfico 7 - Distribuição da amostra conforme o grau do linfoma.....	60
Gráfico 8 - Distribuição da amostra conforme o estágio OMS.....	61
Gráfico 9 - Curva de Kaplan-Meier do tempo de sobrevida da amostra total de cães com linfoma.....	64
Gráfico 10 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães com imunofenótipo B e T.....	65
Gráfico 11 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães com subestádio <i>a</i> e <i>b</i>	66
Gráfico 12 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães que tomaram prednisolona antes e após a quimioterapia	67
Gráfico 13 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães com e sem anemia ao diagnóstico	68
Gráfico 14 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães com e sem trombocitopenia ao diagnóstico	69

I. Descrição do estágio curricular

O estágio curricular no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, da Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa, compreendeu um período de 5 meses, tendo decorrido no AniCura Restelo Hospital Veterinário (ARHV), situado na Rua Gregório Lopes 1513 Loja E, no Restelo, em Lisboa. Inaugurado em 2002, este é um centro veterinário de referência a nível nacional, aberto 24 horas por dia durante o ano inteiro, com serviço de urgência assegurado diariamente. As áreas de especialidade deste hospital incluem Cirurgia, Cardiologia, Dermatologia, Doenças Infetocontagiosas, Endoscopia, Exóticos, Fisioterapia, Gastroenterologia, Imagiologia, Medicina Interna, Medicina Alternativa, Neurologia, Odontologia e Oftalmologia, incluindo ainda modalidades de diagnóstico como laboratório de análises interno, tomografia computadorizada (CT) e ressonância magnética (MRI). A escolha do ARHV como local de estágio deveu-se ao fato do hospital ser uma referência a nível nacional em diversas áreas, inclusivamente com uma diplomada em medicina interna pelo colégio europeu nos seus quadros. Além da sua equipa multidisciplinar, permitindo ao hospital prestar cuidados médicos de excelência, o hospital possui uma grande casuística oncológica e uma equipa de oncologia dedicada, composta por médicos veterinários especializados em oncologia e por enfermeiros. Estes dois fatores foram determinantes na escolha deste hospital como local de estágio.

O autor esteve sob a orientação e supervisão da Dr^a. Patrícia Lopes, médica veterinária do ARHV, maioritariamente no serviço de Oncologia e Imagiologia. O estágio teve início no mês de outubro de 2022, terminando em fevereiro de 2023, compreendendo uma carga horária superior a 700 horas, normalmente repartida em turnos diários de 8 horas, correspondendo a 40 horas semanais, com quatro folgas por duas semanas e num regime de rotação nos vários serviços do hospital.

A realização do estágio no ARHV ofereceu a oportunidade de desenvolver o conhecimento teórico e prático em Oncologia, assim como em outras especialidades, com médicos veterinários especializados nessas áreas, e colocar em prática os conhecimentos aprendidos ao longo do curso de medicina veterinária, tanto na área da Oncologia, como nas restantes.

Durante o estágio, o autor acompanhou as várias especialidades e serviços do centro ARHV. A cada duas semanas, o autor escolhia um médico veterinário ou especialidade para acompanhar durante, normalmente, as duas semanas seguintes, acompanhado o médico veterinário durante o seu horário completo e todas as suas funções. Isto poderia compreender apenas consultas, ou, dependendo do médico veterinário ou especialidade, também compreendia procedimentos mais específicos, com ou sem consultas.

Nas consultas de especialidade de Oncologia, foram realizadas punções aspirativas por agulha fina (PAAF) e consequente preparação laboratorial e interpretação microscópica, imagiologia, nomeadamente ecografia e radiografia, estadiamento oncológico, e eletroquimioterapia. As sessões de imagiologia, especificamente ecografia, complementadas por semanas adicionais a acompanhar um médico veterinário exclusivamente em ecografia, permitiram ao autor ter mais contato com uma maior variedade de casos clínicos oncológicos, aumentando assim a casuística observada nesta área, assim como colocar em prática os conhecimentos ecográficos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária e estágios realizados, com posterior discussão clínica com o médico veterinário responsável. Nas consultas de enfermagem, o autor auxiliou os médicos veterinários e enfermeiros oncológicos em sessões de quimioterapia. Estas sessões incluíam tutoria relativamente à manipulação dos agentes quimioterápicos, cálculos e administração, e cuidados gerais e específicos nas sessões de quimioterapia. Durante os meses de estágio, foi possível observar uma variedade de casos clínicos de espécies de companhia, nomeadamente cães e gatos, mas também casos esporádicos de exóticos, como furões.

A casuística apresentada refere-se aos casos clínicos observados durante o estágio. Como o mesmo animal podia apresentar-se no hospital veterinário por motivos diferentes, os casos eram abordados em várias especialidades, resultando em um número de consultas superior ao número de animais observados. A Figura 1 representa a distribuição de animais acompanhados, divididos em cão, gato e exóticos. É possível observar que a espécie canina foi a mais observada pelo autor durante o seu estágio no ARHV, seguida da espécie felina e, por último, animais classificados como exóticos.

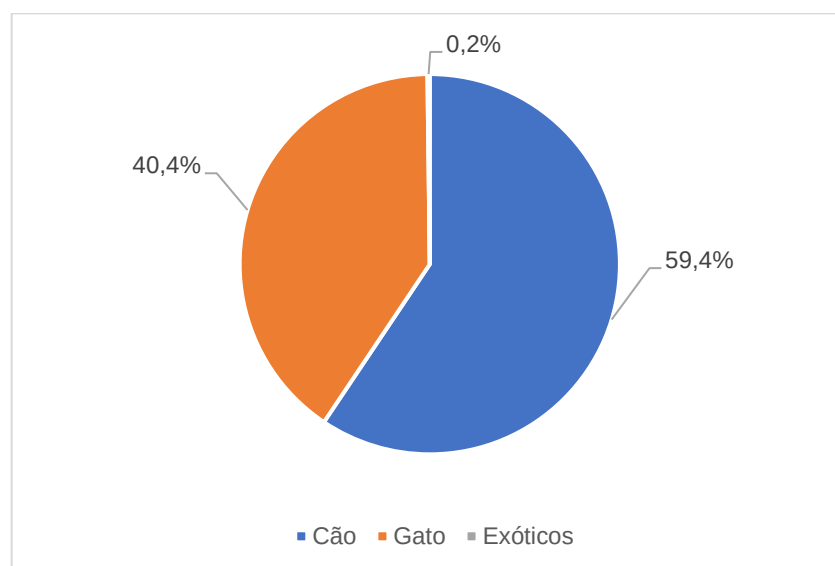


Figura 1 - Distribuição dos animais observados

Durante o período de estágio, o autor teve a oportunidade de assistir a consultas nas diversas áreas do centro veterinário, estando a sua distribuição representada na Figura 2. O ARHV é um hospital veterinário de referência a nível nacional em várias das suas especialidades, incluindo Oncologia, a área de interesse principal do autor. Tendo isto em conta, os valores percentuais apresentados, nomeadamente em Oncologia, Imagiologia e Medicina Interna, perfizeram uma componente considerável do estágio do autor, como era expetável, tendo em conta que estas três áreas estão interligadas e os médicos veterinários dessas especialidades acabam por trabalhar em ambas as áreas, especialmente Oncologia e Imagiologia.

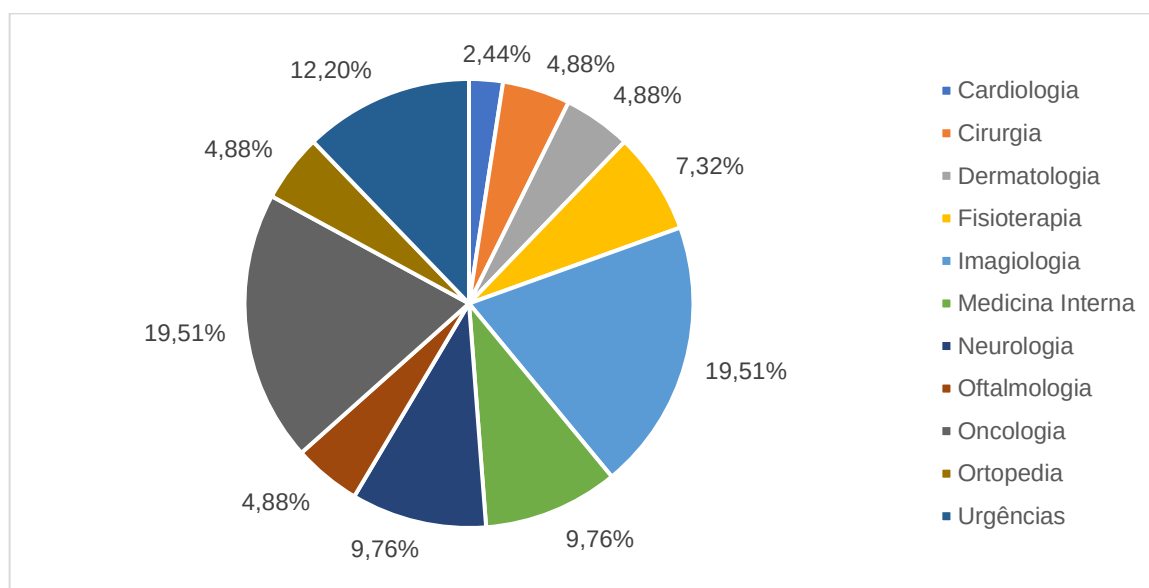


Figura 2 - Distribuição das diferentes especialidades observadas

A oportunidade de estagiar no ARHV foi uma oportunidade enriquecedora, tanto academicamente como pessoalmente. A equipa do ARHV, assim como os colegas estagiários, foram importantes no enriquecimento teórico, prático e pessoal, existindo um ambiente agradável que amplificava a vontade de aprender do autor.

II. Dissertação de mestrado

1. Introdução

1.1. Introdução ao linfoma canino

O linfoma, também conhecido por linfoma maligno ou linfossarcoma, é uma das doenças diagnosticadas com maior frequência no cão, e inclui um grupo diverso de neoplasias com origem comum, os linfócitos. Apesar de poderem surgir em quase todos os tecidos corporais, originam-se normalmente dos tecidos linfóides, como os gânglios linfáticos (GL), baço e medula óssea (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016). Esta neoplasia representa 7 a 24% das neoplasias caninas e 80% das neoplasias hematopoiéticas, nesta espécie (Kaiser, 1990, citado por Vail *et al.*, 2020; Valli *et al.*, 2017). Apesar de não se conhecer a verdadeira incidência do linfoma canino, pois a maioria dos casos não são reportados, o consenso atual é que o linfoma é a neoplasia hematopoiética mais comum no cão, e uma das três neoplasias caninas mais comuns (D. Seelig *et al.*, 2016).

1.2. Epidemiologia do linfoma canino

A incidência anual do linfoma canino encontra-se estimada entre os 13 a 114 cães por cada 100 000 cães em risco. O diagnóstico pode ocorrer em qualquer idade, com clara predisposição para cães de meia-idade a geriátricos, embora os cães com linfoma de tipo T sejam geralmente mais novos (Ernst *et al.*, 2016; Zandvliet, 2016). Estima-se que em cães com menos de 1 ano de idade a incidência seja 1.5 cães por cada 100 000 cães, enquanto em cães entre os 10 e 11 anos seja 84 cães por 100 000 cães (Argyle *et al.*, 2008; Boerkamp *et al.*, 2014; Dobson *et al.*, 2002; Merlo *et al.*, 2008).

A incidência desta doença tem aumentado nos últimos anos, fenómeno também observado nos humanos, sendo possível hipotetizar que existem fatores de risco ambientais comuns para as duas espécies (Cartwright *et al.*, 1999; Howlander *et al.*, 2012; Pastor *et al.*, 2009). Outra característica partilhada entre as duas espécies é a similaridade entre o linfoma não-Hodgkins e o linfoma canino, como a apresentação clínica, subtipo mais comum, com o linfoma difuso de células grandes B a ser o mais comum em ambas as espécies, tratamento e consequente resposta. Normalmente, o cão desenvolve um linfoma multicêntrico agressivo de alto grau, comparável com o linfoma humano não-Hodgkins.

No desenvolvimento de fármacos antitumorais, uma componente crítica é a demonstração da eficiência do fármaco num modelo *in vivo*. Em comparação com os ensaios clínicos em humanos, as vantagens destes em cães incluem uma menor regulação, um

desenvolvimento neoplásico mais rápido, intervalos de remissão mais curtos e ensaios clínicos mais rápidos, além das características patológicas da doença partilhadas entre as duas espécies. Estes fatores fazem com que o cão seja bom modelo espontâneo de doença para o linfoma humano não-Hodgkins (Marconato *et al.*, 2013; Teske, 1994).

Relativamente à predisposição racial, existe uma maior apresentação em raças de médio e grande porte, quando comparadas com as de pequeno porte. Apesar de ainda se desconhecer a causa, teoriza-se que esta relação se deva à suscetibilidade genética em certas raças de maior porte (Edwards *et al.*, 2003; Teske, De Vos, *et al.*, 1994; Villamil *et al.*, 2009; Zandvliet, 2016). As raças com maior incidência reportada são o Boxer, o Bullmastif, o Basset Hound, o São Bernardo, o Terrier Escocês, o Airedale, o Pitbull, o Briard, o Setter Irlandês, o Rottweiler e o Bulldog. Pelo contrário, o Dachshund e o Lulu da Pomerânia obtiveram um menor risco reportado (Argyle *et al.*, 2008; Edwards *et al.*, 2003; Ernst *et al.*, 2016; Vail *et al.*, 2020). Também foi reportado o surgimento de linfoma em famílias caninas das raças Rottweiler e Scottish Terrier, sendo este mais um possível argumento para uma predisposição racial (Lobetti, 2009; Teske, De Vos, *et al.*, 1994). A componente genética também ganha destaque devido à sua aparente influência no imunofenótipo, o que acaba por apoiar a tese de influência genética (Modiano *et al.*, 2005; Pastor *et al.*, 2009).

Não aparenta existir predisposição sexual no desenvolvimento de linfoma, embora as fêmeas não-esterilizadas aparentem apresentar um menor risco. Pelo contrário, foi sugerido que uma esterilização precoce, antes de 1 ano de idade, aumenta o risco de linfoma nas raças Golden Retriever e Vizsla (Torres De La Riva *et al.*, 2013; Villamil *et al.*, 2009; Zink *et al.*, 2014). Hipotetiza-se que a causa desta possível correlação seja similar à observada em humanos (Zandvliet, 2016).

1.3. Etiologia do linfoma canino

Não existe propriamente uma causa definitiva de linfoma canino, sendo a sua etiologia maioritariamente desconhecida e com prováveis múltiplos fatores envolvidos na carcinogénese. Contudo, existem fatores de risco que aumentam a probabilidade de desenvolver esta doença (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016).

1.3.1. Fatores ambientais

Existem fatores de risco ambientais comprovados que influenciam o risco de desenvolvimento de linfoma canino. Estes incluem viver em áreas industriais, perto de incineradoras de lixo, locais radioativos ou poluídos, exposição a químicos caseiros, campos

magnéticos e fumo de tabaco (Gavazza *et al.*, 2001; Hayes *et al.*, 1991; Marconato *et al.*, 2009, 2009; Pastor *et al.*, 2009; Pinello *et al.*, 2017; Reif *et al.*, 1995; Takashima-Uebelhoeer *et al.*, 2012). Um estudo europeu avaliou as variáveis existentes de uma residência numa zona industrial e na utilização de químicos, nomeadamente tintas ou solventes. Estas variáveis aumentaram, de forma modesta, o risco de desenvolvimento de linfoma, embora não tenha sido encontrada uma relação com o uso de pesticidas (Gavazza *et al.*, 2001).

1.3.2. Fatores genéticos e moleculares

Em cancros humanos existe uma sobre-representação de genótipos defeituosos, especialmente da enzima glutathione S-transferase (GST) e GST teta 1 (GSTT1). Dos vários GSTT1 identificados no cão, um genótipo foi identificado em 18% de todos os casos de linfoma canino (Ginn *et al.*, 2014; Zandvliet, 2016).

Outro fator genético resulta da pior capacidade de reparação de danos no ácido desoxirribonucleico (DNA) devido a stress oxidativo ou radiação. Como resultado, o risco de desenvolvimento de doenças neoplásicas aumenta. Observou-se em populações de Golden Retriever's, com linfoma canino, que estes possuíam uma menor capacidade de reparação de DNA quando comparados com uma população de Golden Retriever's e cães de raça indefinida sem linfoma canino. Estes sujeitos apresentaram uma sensibilidade cromossómica superior, sugerindo assim uma deficiência na reparação de DNA e, consequentemente, um aumento do risco de desenvolvimento de linfoma (Thamm *et al.*, 2013).

A maioria das anomalias genómicas no linfoma canino ocorrem com os cromossomas 13 e 31 (Hahn *et al.*, 1994; Thomas *et al.*, 2011). Apesar da trissomia 13 ser comum em linfomas, também é observado em outras neoplasias, sugerindo um papel na progressão tumoral geral, em vez de existir uma especificidade para o linfoma canino (Thomas *et al.*, 2009; Winkler *et al.*, 2006).

O proto-oncogene c-kit é um fator importante de proliferação, sobrevivência e diferenciação em células estaminais hematopoiéticas. Apesar de apresentar uma expressão normalmente baixa em linfomas caninos, um aumento deste proto-oncogene foi observado em alguns linfomas de tipo T de alto grau (Giantin *et al.*, 2013).

O gene p53 é um gene supressor tumoral. A ocorrência de mutações neste gene é relativamente rara em linfomas caninos, embora a sua expressão aparentemente seja mais comum em animais mais velhos, linfomas de alto grau e possivelmente linfomas de tipo T (Sueiro *et al.*, 2004; Tomiyasu, Goto-Koshino, *et al.*, 2010; Veldhoen *et al.*, 1998).

O aumento da fosforilação do retinoblastoma e consequente ativação da Cinase 4 dependente de Ciclina (CDK4) é comum em linfomas de tipo T de alto grau, possivelmente como resultado da deleção que ocorre no gene p16 ou perda do cromossoma 11, hipermetilação da ilha CpG do gene p16 e deleção do *locus* p15-p14-p16 (Fosmire *et al.*, 2007; Fujiwara-Igarashi *et al.*, 2014).

A desregulação da expressão do inibidor da via do fator tecidual 2, uma proteína codificada pelo gene Inibidor da Via do Fator Tecidual 2 (TFPI-2), foi identificada na maioria dos linfomas de tipo B de alto grau (Ferraresso *et al.*, 2014).

1.3.3. Fatores imunológicos

Associa-se a cães com linfoma uma função imunitária comprometida, podendo esta desempenhar um papel na linfomagenese. A observação de alterações imunitárias, tais como a trombocitopenia imunomediada, está associada a um risco aumentado de desenvolvimento de linfoma (Foster *et al.*, 2000; E. T. Keller, 1992). Nos humanos, a imunossupressão, doenças autoimunes ou desordens imunodeficientes aumentam o risco de desenvolvimento de linfoma (E. T. Keller, 1992)

Os fármacos imunomoduladores também podem aumentar o risco de linfoma. Blackwood *et al.* (2004) reporta um caso de um cão que desenvolveu linfoma após tratamento com ciclosporina. Outro estudo sugeriu uma associação entre imunodesregulação em cães com dermatite atópica e risco de desenvolvimento de linfoma epiteliotrófico T. Contudo, não se sabe se este desenvolvimento se encontrava associado à dermatite atópica ou aos fármacos imunomoduladores utilizados no seu tratamento (Santoro *et al.*, 2007). A incidência de linfoma em cães com uma terapêutica de oclacitinib (Apoquel®) foi alvo de estudo após o estudo previamente referido ter sugerido uma relação entre cães com dermatite atópica e linfoma. De acordo com o estudo de Lancellotti *et al.*, (2020), onde se comparou a utilização de oclacitinib com outras terapias alérgicas, a incidência de linfoma não se desviou significativamente entre o grupo sujeito a oclacitinib e o de controlo.

1.3.4. Fatores infecciosos

A existência de fatores infecciosos encontra-se em constante estudo. Apesar da tentativa de comparação entre a medicina humana e a medicina veterinária, não têm sido encontradas associações entre fatores infecciosos nos humanos e linfoma canino, como o vírus Epstein-Barr e *Helicobacter* sp. (Alves *et al.*, 2015; Milman *et al.*, 2011).

A ocorrência de alterações da microbiota do trato digestivo aparenta estar implicada na suscetibilidade a certos tipos de tumores (Vail *et al.*, 2020). Um estudo demonstrou que os cães com linfoma possuíam uma microbiota fecal diferente do grupo de controlo, embora não se tenha identificado uma relação de causa-efeito (Gavazza *et al.*, 2018).

1.4. Classificação

A classificação do linfoma tem como base a localização anatómica, o critério histológico e as características imunofenotípicas. As formas anatómicas de linfoma mais comuns são a multicêntrica, alimentar ou gastrointestinal, mediastínica e cutânea. Existem ainda formas extranodais primárias que podem ocorrer em qualquer local do corpo fora do sistema linfático. Estes locais incluem a pele, os olhos, o sistema nervoso central, a medula óssea, o coração, a bexiga e a cavidade nasal, entre outros (Vail *et al.*, 2020).

1.4.1. Forma multicêntrica

A forma multicêntrica ocorre em mais de 80% dos cães, sendo esta a apresentação clínica mais frequente do linfoma canino. A sua característica mais comum é a presença de linfadenopatia periférica (Ponce *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2020; Vezzali *et al.*, 2010).

1.4.2. Forma alimentar

A forma alimentar é pouco frequente, representando 5 a 7% dos casos de linfoma. Esta forma de linfoma pode ser focal, embora seja mais frequente o envolvimento de vários segmentos do trato gastrointestinal, que se apresentam com a parede espessada, encurtamento do lúmen e, com alguma frequência, ulceração da mucosa (C. G. Couto *et al.*, 1989; Ozaki *et al.*, 2006). Histologicamente, existe infiltração de linfócitos neoplásicos na mucosa e submucosa, com ocasional infiltração transmural. O fígado e os GL locais encontram-se ocasionalmente envolvidos de forma secundária (Vail *et al.*, 2020).

É possível observar doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária (DII-LP) adjacente ou distante do tumor primário. Por vezes, é difícil diferenciar histologicamente entre a DII-LP e o linfoma alimentar. Foi sugerido que a DII-LP possa ser uma alteração pré-linfomatosa do trato gastrointestinal (Vail *et al.*, 2020).

Existem poucos estudos que identificam o imunofenótipo de linfomas alimentares. Antigamente, assumia-se que eram provavelmente linfomas de tipo B, mas, recentemente, foi sugerido que a maioria dos linfomas alimentares provém de células T e que demonstram

frequentemente epiteliotropismo (K. M. Couto *et al.*, 2018; Coyle & Steinberg, 2004; Ozaki *et al.*, 2006; Vail *et al.*, 2020). Em relação à predisposição racial, não aparenta existir predisposição para determinado sexo, idade ou raça, embora as raças Boxer e Shar-pei estejam sobrerrepresentados neste tipo de linfoma (Coyle & Steinberg, 2004; Steinberg *et al.*, 1995).

Uma síndrome paraneoplásica comum nesta forma de linfoma é eosinofilia local ou sistêmica (Marchetti *et al.*, 2005; Ozaki *et al.*, 2006).

1.4.3. Forma mediastínica

A forma mediastínica, também conhecida por tímica, ocorre em 5% dos casos e é mais comum em cães novos, com a grande maioria dos casos a serem de tipo T. A principal característica é a linfadenopatia dos linfonodos mediastinais craniais, timo, ou ambos (Day, 1997; Fournel-Fleury *et al.*, 2002; Vail *et al.*, 2020).

Os sinais clínicos incluem dispneia, devido ao efeito massa ou efusão pleural, síndrome da veia cava (cranial), devido a uma massa mediastínica que restringe o retorno venoso ao coração, e poliúria e polidipsia, devido a hipercalcemia, sendo esta forma de linfoma a que mais vezes é acompanhada com esse distúrbio (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016). Num estudo com uma população de 37 cães com linfoma associado a hipercalcemia, 16 tinham linfoma mediastínico (Rosenberg *et al.*, 1991). Esta é também a forma mais tipicamente associada ao imunofenótipo T (E. L. Moore *et al.*, 2018; Reeve *et al.*, 2020; Ruslander *et al.*, 1997).

1.4.4. Forma cutânea

A forma cutânea pode ser solitária ou generalizada, sendo normalmente classificada como linfoma epitéliotrópico, tendo origem a partir das células T. Também pode ser classificada como não-epitéliotrópica. Esta forma-se a partir de um só ou múltiplos nódulos, ou placas dérmicas ou subcutâneas (Fontaine *et al.*, 2010; Gross *et al.*, 2005; P. F. Moore *et al.*, 2013). Além destes dois tipos de linfoma cutâneo, também foi descrita uma forma rara onde inicialmente a doença se pode encontrar limitada à pele, mas, posteriormente, outros sinais clínicos, como linfadenopatia, leucemia ou envolvimento de órgãos internos, podem ocorrer. Na circulação periférica é possível observar células T grandes com núcleos bilobados ou dobrados. Nos humanos este estágio da doença é denominado de síndrome Sézary (Foster *et al.*, 1997; Magnol *et al.*, 1996).

1.4.5. Forma indolente

A prevalência real deste tipo de linfoma é desconhecida, embora se estime que varie entre os 5,3 a 29%. Este tipo de linfoma é caracterizado por um desenvolvimento indolente e resposta incompleta a protocolos baseados em Ciclofosfamida, Hidroxidaunorrubicina (Doxorrubicina), Oncovin® (Vincristina), Prednisona ou Prednisolona (CHOP). Contudo, apresenta um tempo de sobrevida superior sem uma terapêutica agressiva (Fournel-Fleury *et al.*, 1997; Ponce *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2020; Valli *et al.*, 2011; Vezzali *et al.*, 2010). A maioria dos cães com linfoma indolente acaba por viver uma vida praticamente normal em termos de longevidade, morrendo de causas não relacionadas com linfoma (Vail *et al.*, 2020). Vários estudos preliminares mostram que os cães afetados por este tipo de linfoma apresentam um apetite e atividade normal, inclusivamente durante estádios avançados. Apresentam também um tempo de sobrevida superior com terapia limitada, ou mesmo sem terapia (Flood-Knapik *et al.*, 2013; Valli *et al.*, 2013).

Em relação ao tratamento, enquanto a presença do linfoma não tiver efeito na qualidade de vida ou resultar em mieloptose significativa, o recomendado é a vigilância. Caso seja necessário realizar tratamento, utilizam-se protocolos mais conservadores, como clorambucil ou ciclofosfamida, associados a prednisona. O objetivo do plano terapêutico é controlar o linfoma (Vail *et al.*, 2020).

1.5. Classificação histológica

O linfoma surge da expansão clonal de linfócitos com características morfológicas e imunofenotípicas distintas. É importante determinar o grau histológico dos linfomas, em baixo, intermédio ou alto grau, assim como a arquitetura, em difusa ou nodular/folicular. A determinação do imunofenótipo também é importante para determinar o subtipo (Vail *et al.*, 2020). Atualmente, a classificação histológica segue o sistema da Organização Mundial de Saúde (OMS), que incorpora critérios anatómicos, morfológicos (citologia e histologia) e imunofenotípicos (B ou T).

A utilização deste tipo de classificação permite um diagnóstico mais preciso, assim como uma melhor adaptação do protocolo terapêutico e melhor correlação entre o subtipo e o prognóstico (Ponce *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2020; Valli *et al.*, 2013). No sistema da OMS, cada subtipo de linfoma é classificado como uma doença distinta, sendo esta classificação atribuída conforme as características do linfoma, como o comportamento biológico (Valli *et al.*, 2013). A forma histológica mais comum do linfoma canino é o linfoma de células B difuso, de

alto grau. Apenas 5,3 a 29% dos casos são considerados de baixo grau (Vail *et al.*, 2020; Valli *et al.*, 2011, 2013; Vezzali *et al.*, 2010).

1.6. Diagnóstico

1.6.1. Historial e sinais clínicos

A maioria dos cães apresenta-se sem historial e sinais clínicos graves de doença sistêmica, embora existam vários sinais clínicos não específicos que podem acompanhar o linfoma, tais como, anorexia, perda de peso, emese, diarreia, emaciação, ascite, dispneia, polidipsia, poliúria e febre. A presença de polidipsia e poliúria é comum em cães com hipercalcemia de malignidade. Os cães com linfoma de tipo T têm uma maior probabilidade de apresentarem sinais sistêmicos (Vail *et al.*, 2020).

Os sinais clínicos associados ao linfoma canino são variáveis, dependendo da sua extensão e localização. A forma multicêntrica é caracterizada pela presença de linfadenopatia periférica generalizada. Os GL afetados são, normalmente, indolores e discretos. A linfadenopatia pode ainda estar associada a hepatoesplenomegalia e envolvimento da medula óssea. Também é possível identificar a presença de sinais clínicos relacionados com discrasias sanguíneas, que são secundárias a infiltração tumoral da medula óssea ou anemia, trombocitopenia ou neutropenia paraneoplásica. Os sinais clínicos destas discrasias sanguíneas incluem febre, sepsis, anemia e hemorragia (Vail *et al.*, 2020).

Os cães com linfoma gastrointestinal apresentam-se normalmente com sinais específicos do trato gastrointestinal, como diarreia, emese, perda de peso e má absorção, podendo existir envolvimento dos GL mesentéricos, do baço e do fígado (K. M. Couto *et al.*, 2018; Gieger, 2011; Lane *et al.*, 2018; Sogame *et al.*, 2018).

A forma mediastínica é caracterizada pelo aumento das estruturas mediastínicas craniais e/ou do timo. Os sinais clínicos estão associados à extensão do linfoma, podendo resultar em dificuldades respiratórias, ou polidipsia e poliúria devido à hipercalcemia associada. Em casos avançados, os cães apresentam-se com dificuldades respiratórias devido à compressão tumoral ou com invasão da veia cava cranial, apresentando-se também com derrame pleural e intolerância ao exercício físico. Estes cães podem ainda apresentar-se com síndrome pré-caval, ou síndrome da veia cava cranial, dificultando o retorno venoso ao coração, com consequente edema da cabeça, do pescoço e membros (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016).

No caso de linfomas extranodais, os sinais clínicos dependem do órgão envolvido (Vail *et al.*, 2020). O linfoma cutâneo pode ser mucocutâneo, cutâneo, ou ambos, e as lesões

podem ser solitárias, generalizadas ou multifocais (Fontaine *et al.*, 2009, 2010; P. F. Moore *et al.*, 2013). Pode ocorrer envolvimento extracutâneo, sendo na maioria das vezes em gânglios linfáticos, baço, fígado e medula óssea (Vail *et al.*, 2020).

Os cães com linfoma do sistema nervoso central podem apresentar envolvimento multifocal ou solitário. A maioria dos casos envolvendo extensão secundária para o sistema nervoso central (SNC) possui imunofenótipo B e tem localização meningeal, perivascular ou periventricular. Pelo contrário, os linfomas de tipo T têm maior predisposição para afetar os nervos periféricos. Os sinais clínicos são variados e incluem convulsões, défices proprioceptivos, paralisia e paresia (Fonti *et al.*, 2023; LaRue *et al.*, 2018; Sisó *et al.*, 2017; Vail *et al.*, 2020).

O linfoma ocular é caracterizado por infiltração e espessamento da íris, uveíte, hipópion, hifema, sinequia posterior e glaucoma. Tipicamente, este tipo de linfoma é secundário a um linfoma multicêntrico, embora, numa compilação de 100 casos, em 61% presumiu-se que fossem linfoma ocular solitário sem envolvimento sistêmico ao diagnóstico, sem progressão após enucleação (Lanza *et al.*, 2018; Massa *et al.*, 2002; Vail *et al.*, 2020).

Em casos de linfoma intravascular, os cães apresentam-se tipicamente com sinais clínicos do sistema nervoso central, sistema nervoso periférico ou relacionados com envolvimento ocular (Bush *et al.*, 2003; McDonough *et al.*, 2002). Estes sinais incluem paraparese, ataxia, hiperestesia, convulsões, cegueira, letargia, anorexia, perda de peso, diarreia, poliúria, polidipsia e febre intermitente (Vail *et al.*, 2020).

1.6.2. Síndromes paraneoplásicas

O linfoma canino pode estar associado a síndromes paraneoplásicas, que podem agravar o quadro na apresentação clínica, com a anemia a ser a síndrome mais comum (Zandvliet, 2016). A hipercalcemia paraneoplásica também é típica, apresentando-se associada a anorexia, perda de peso, fraqueza muscular, letargia, poliúria, polidipsia e, raramente, depressão do sistema nervoso central e coma. Na maioria das vezes, esta hipercalcemia é consequência da proteína relacionada com a hormona da paratiroide (PTHrP) produzida por células neoplásicas, podendo também estar relacionada com a produção de outros fatores humorais, como a interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral α (TNF- α), fator de crescimento transformante β (TGF- β) e análogos da vitamina D (Kubota *et al.*, 2002; Rosol *et al.*, 1992). A hipercalcemia também pode ter como consequência a insuficiência renal aguda (Felsenfeld & Levine, 2006; Kövér & Tost, 1993).

Outras síndromes paraneoplásicas em linfomas são as gamopatias monoclonais, eosinofilia, doenças imunomediadas, policitemia, hipoglicemia, neuropatias e caquexia (Day, 1996; Durno *et al.*, 2011; Evans *et al.*, 2004; Giraudel *et al.*, 2002; E. T. Keller, 1992; Marchetti *et al.*, 2005; Ozaki *et al.*, 2006; D. M. Seelig *et al.*, 2011; Vail *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 1993).

1.6.3. Exame físico

Em cães com suspeita de linfoma, a avaliação deve incluir um exame físico completo, onde é imperativo constar a palpação dos GL. Vail *et al.* (2020) também sugere a realização de toque retal, pois, pela sua experiência, uma proporção significativa de cães apresenta pólipos retais que consistem em agregados de linfócitos neoplásicos.

A avaliação das mucosas deve ser realizada para aferir a presença de icterícia, palidez, petéquias ou úlceras, visto que estes achados podem indicar a presença de anemia ou trombocitopenia secundária a mieloptose ou a doença imunomediada, ou até mesmo secundária a falha orgânica ou uremia (Vail *et al.*, 2020).

Durante a palpação abdominal pode ser possível identificar organomegalia, espessamento da parede intestinal, caso marcada, ou linfadenopatia mesentérica (Vail *et al.*, 2020).

O exame oftalmológico, com avaliação do fundo ocular, pode revelar anomalias em aproximadamente 17% dos cães com linfoma. Estas incluem uveíte, hemorragia da retina ou infiltração ocular (Massa *et al.*, 2002).

1.6.4. Hemograma, análises bioquímicas e urianálise

É importante nos cães com linfoma avaliar o perfil hematológico e bioquímico. Várias alterações podem ser observadas, embora não seja incomum a presença de anomalias inespecíficas (Gavazza *et al.*, 2008).

A anemia é o achado hematológico mais comum, sendo normalmente normocrômica e normocítica não regenerativa (Martini *et al.*, 2015). Também podem ocorrer anemias hemorrágicas e hemolíticas, com as anemias regenerativas a poderem refletir perda de peso ou hemólise concomitante. Os animais que apresentam anemia ou valores compatíveis com hemorragia podem precisar de provas de coagulação, visto que em 30 a 50% dos casos ocorre trombocitopenia (Day, 1996; Vail *et al.*, 2020). A presença de trombocitopenia ligeira e assintomática é comum, com a trombocitose também a ser ocasionalmente observada (Grindem *et al.*, 1994; Neel *et al.*, 2012). Caso esteja presente uma mieloptose significativa, a

anemia pode estar associada a trombocitopenia e leucopenia (Grindem *et al.*, 1994). Em linfomas renais, a presença de policitemia é reportada ocasionalmente (Durno *et al.*, 2011).

Embora a contagem leucocitária seja frequentemente normal, já foram reportadas tanto leucocitose como leucopenia. Na maioria dos casos, a leucocitose, associada a neutrofilia, representa uma resposta inflamatória, com leucemia a ser responsável por aproximadamente 20% dos casos (Gavazza *et al.*, 2008). A neutrofilia é um achado em 25 a 40% dos cães e a linfocitose em 20% dos cães. A presença de linfócitos atípicos pode indicar envolvimento da medula óssea e leucemia, sendo importante diferenciar linfoma com envolvimento medular de leucemia linfocítica primária, pois o prognóstico de cada uma destas doenças é diferente (Vail *et al.*, 2020).

Durante a quimioterapia, a maior parte dos cães apresenta alterações ligeiras no seu perfil hemostático compatíveis com hipercoagulabilidade, acabando por persistir durante todo o tratamento (Kol *et al.*, 2015).

As análises bioquímicas refletem, normalmente, o local anatómico envolvido, assim como as síndromes paraneoplásicas. Entre 10 a 40% dos casos de linfoma canino são acompanhados de hipercalcemia, sendo assim recomendado a medição do cálcio ionizado sérico, pois pode estar aumentado mesmo se o cálcio total estiver dentro dos intervalos de referência. Em casos clínicos ainda sem diagnóstico de linfoma, quando existe uma hipercalcemia de origem desconhecida, o linfoma deve ser sempre um dos principais diagnósticos diferenciais. Além disso, a presença de hipercalcemia pode servir como biomarcador de resposta ao plano terapêutico e da recidiva (Vail *et al.*, 2020).

O aumento dos valores das enzimas hepáticas podem ser consequência de um linfoma hepático primário ou infiltração hepática, contudo, estas alterações são tipicamente secundárias ao linfoma e indicam hepatopatia reativa e desidratação (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016). A fosfatase alcalina (ALP) pode aumentar após envolvimento hepático e exposição a glucocorticóides. No entanto, o valor da ALP não foi considerado como prognóstico de resposta ao tratamento (Wiedemann *et al.*, 2005). O aumento das globulinas séricas, normalmente monoclonal, ocorre de forma infrequente em linfomas de tipo B. A hipoproteinemia observa-se com mais frequência em cães com linfoma alimentar. Os parâmetros renais, nomeadamente a ureia e creatinina, podem aumentar secundariamente a infiltração tumoral renal, nefrose hipercalcêmica ou azotemia pré-renal por desidratação (Vail *et al.*, 2020).

A urianálise, apesar de não ser realizada de forma frequente, é importante para aferir, de modo completo, a função renal e o estado do trato urinário. A presença de proteinúria aparenta ser um achado comum em cães com linfoma multicêntrico, sendo tipicamente ligeira,

independente do estágio e subestágio, não existindo influência no prognóstico (Vail *et al.*, 2020). A presença de isostenúria em cães hipercalcémicos não significa que esteja presente uma doença renal, pois as concentrações de cálcio elevadas interferem com a capacidade de concentração tubular devido ao comprometimento da resposta à hormona antidiurética. Também é preciso ter em conta que existe um risco de calcificação renal e consequente falha renal caso os níveis de cálcio se mantiverem elevados (Vail *et al.*, 2020).

1.6.5. Citologia e histologia

A avaliação morfológica e fenotípica do tecido e células constituintes do tumor é essencial no diagnóstico (Vail *et al.*, 2020). A citologia de uma PAAF de um GL é uma técnica rápida, sensível e minimamente invasiva no diagnóstico de linfoma, sendo considerado o método de eleição no seu diagnóstico (Sözmen *et al.*, 2005; Teske & Van Heerde, 1996; Zandvliet, 2016). Como a maioria dos cães com linfomas nodais apresentam-se com GL periféricos com estrutura alterada, devido a linfócitos intermédios ou grandes, o exame citológico por PAAF é muito sensível e específico como primeira linha de diagnóstico (D. Seelig *et al.*, 2016; Vail *et al.*, 2020).

Normalmente, a maioria das células são linfócitos grandes, maiores do que linfócitos, e pode ser possível observar nucléolos visíveis e citoplasma basofílico, com ou sem zonas paranucleares claras, ou cromatina fina com nucléolos indistinguíveis. Os GL com hiperplasia reativa marcada são caracterizados por uma grande quantidade de linfócitos grandes, o que poderá dificultar a diferenciação com um linfoma. É importante evitar GL de áreas reativas, como, por exemplo, os GL submandibulares. Contudo, se apenas estes estiverem aumentados, devem ser o alvo da colheita de amostras. Caso os GL pré-escapulares ou poplíteos estiverem disponíveis, estes são preferenciais (Vail *et al.*, 2020).

Nos casos que suscitem dúvidas, ou quando a citologia é insuficiente num linfoma de baixo grau e em casos de proliferações linfoides atípicas, devem-se realizar outros exames complementares, como a histopatologia, citometria de fluxo ou imunocitoquímica. No caso da histopatologia, de forma a ser feita uma avaliação precisa, deve ser submetido para análise um GL completo, incluindo a cápsula (Vail *et al.*, 2020). É importante incluir a cápsula pois, no caso de hiperplasia linfóide, a cápsula do GL pode estar afetada, mas os seios periféricos não, permanecendo intactos. Pelo contrário, caso exista um processo neoplásico, os seios periféricos encontram-se tipicamente destruídos (Valli *et al.*, 2017).

A histologia permite classificar o linfoma consoante vários critérios. Estes incluem o padrão de crescimento, o tamanho nuclear, a morfologia nuclear, o índice mitótico e o

imunofenótipo (Valli *et al.*, 2011, 2013; Zandvliet, 2016). Quando o sistema de classificação humana da OMS foi aplicado à espécie canina, observou-se que a grande maioria dos casos consistiam em 5 subtipos: linfoma difuso de grandes células B, linfoma da zona marginal de células B, linfoma periférico de células T, linfoma nodal da zona T e linfoma linfoblástico de células T (Valli *et al.*, 2011).

Relativamente a localizações extranodais, a ecografia e PAAF ecoguiada são recursos complementares bastante úteis que permitem avaliar o envolvimento do fígado, baço e GL abdominais no processo neoplásico (Crabtree *et al.*, 2010). A citologia do líquido cefalorraquidiano (LCR), fluído torácico, ou aspirações de massas está indicada, respetivamente, em cães com linfoma do sistema nervoso central, efusão pleural, ou massa intratorácica (Vail *et al.*, 2020). Um estudo diagnosticou linfoma em 68% dos casos onde foi analisado o LCR (Sisó *et al.*, 2017). As biópsias por *punch* estão indicadas para linfoma cutâneo, sendo recomendado realizar a biópsia na lesão mais representativa e infiltrativa (Vail *et al.*, 2020). O uso de avaliações imunofenótípicas e de clonalidade destas biópsias podem ajudar a diferenciar linfoma de lesões linfocíticas benignas (Affolter *et al.*, 2009; P. F. Moore *et al.*, 2013).

1.6.6. Técnicas de diagnóstico molecular

As técnicas de diagnóstico molecular podem ser utilizadas no diagnóstico de linfoma, embora estas tenham maior utilidade na caracterização do tumor após o diagnóstico inicial. Estas técnicas permitem auxiliar na sua categorização, nomeadamente o imunofenótipo, taxa de proliferação e clonalidade, e em casos onde o diagnóstico é mais difícil, quando na avaliação citológica ou histológica não se consegue diferenciar entre linfocitose reativa e linfoma. As técnicas de diagnóstico molecular incluem histoquímica, citoquímica, imunohistoquímica, imunocitoquímica, citometria de fluxo, reação em cadeia da polimerase (PCR) e técnicas citogenéticas. Atualmente, apenas ensaios de imunofenótipo e PCR para rearranjos de recetores de antigénio (PARR) são realizados rotineiramente (Vail *et al.*, 2020). A técnica PARR, em comparação com a imunohistoquímica ou citometria de fluxo, mostrou-se inferior em relação à citometria de fluxo (Thalheim *et al.*, 2013).

1.6.7. Ensaios de clonalidade

Ocasionalmente, não é possível realizar o diagnóstico de linfoma e avaliar a diferenciação entre proliferação benigna de maligna dos linfócitos com recurso a critérios citológicos e histológicos. Nestes casos, a utilização de análises moleculares avançadas pode

ser útil. A clonalidade é o marco principal da malignidade. Pelo contrário, no caso de linfocitose reativa, as células são policlonais para os seus recetores de antigénio. Com isto em conta, é possível utilizar a técnica de PCR para detetar a presença de populações linfocíticas clonais (Avery, 2009; S. M. Keller *et al.*, 2016; Langner *et al.*, 2014; Vail *et al.*, 2020). É preciso ter cuidado com os resultados, pois podem ocorrer falsos-negativos e falsos positivos. Vários estudos em cães apresentaram uma sensibilidade de aproximadamente 70 a 90% e uma taxa de falsos-positivos de aproximadamente 5% (Vail *et al.*, 2020).

1.6.8. Proteómica

A proteómica é a análise do proteoma celular. Os componentes proteicos de uma célula, normal ou maligna, mudam ao longo do tempo devido à expressão génica como resposta a vários estímulos. O recurso à área da proteómica pode ser útil para identificar biomarcadores séricos malignos, como marcadores proteicos específicos de cancro, e para avaliar a resposta ao plano terapêutico. Futuramente, também pode ser possível utilizar a proteómica para adaptar planos de tratamento individuais a cada paciente. Na medicina veterinária, esta área encontra-se na sua infância, e, apesar de já existirem estudos preliminares do proteoma em cães com linfoma, ainda não se chegou a um ponto que permita que estas técnicas tenham impacto na decisão clínica (McCaw *et al.*, 2007; Ratcliffe *et al.*, 2009; Vail *et al.*, 2020).

1.6.9. Biomarcadores

As proteínas séricas podem ser utilizadas como biomarcadores no diagnóstico e/ou monitorização de uma doença específica. As proteínas de fase aguda, a timidina quinase 1 (TQ1), a proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP1), o fator de crescimento endotelial vascular (VEFG), as metaloproteínases da matriz (MMP) 2 e 9, e a endostatina foram avaliadas em linfomas caninos devido à sua utilização em oncologia humana, tendo como objetivo averiguar a sua utilidade na medicina veterinária (Zandvliet, 2016).

A TQ1 é uma enzima de resgate envolvida na síntese de precursores de DNA (Hanan *et al.*, 2012). Os seus níveis são mais elevados em cães com linfoma do que em cães saudáveis ou com neoplasias não hematopoiéticas. Além disso, também aparenta existir uma correlação com o estágio e prognóstico, sendo este biomarcador considerado o mais promissor (J. W. Elliott *et al.*, 2013; Euler *et al.*, 2004; Zandvliet, 2016).

Um estudo sobre a MCP1 demonstrou que a sua expressão e níveis eram mais altos em cães com linfoma do que em cães saudáveis, apresentando ainda correlação com o estágio (Perry *et al.*, 2011).

A VEFG e a MMP 2 e 9 são outras duas opções. Estas estão sob controlo do fator de crescimento transformante beta (TGF- β) (Zandvliet, 2016). Os cães com linfoma possuem uma atividade da MMP-9 superior, níveis de VEFG superiores, e níveis de TGF- β inferiores quando comparados com cães sem linfoma. Além disso, a MMP-9 e a VEFG eram superiores em linfoma de células T e estágio V, com a expressão de VEFG a possuir uma correlação com o grau de linfoma de células T. Contudo, nenhum destes biomarcadores se mostrou útil no prognóstico (Aresu *et al.*, 2014; Aricò *et al.*, 2013; Wolfesberger *et al.*, 2012).

Por último, a endostatina previne a angiogénese e o crescimento tumoral através da inibição da proliferação e migração de células endoteliais, com uma tendência a ser mais elevada em cães com linfoma. Contudo, esta proteína não se mostrou útil como biomarcador (Jr *et al.*, 2002).

A medição de haptoglobina e proteína C reativa possui uma baixa sensibilidade e especificidade no diagnóstico de linfoma canino, sendo necessário combinar os dados obtidos com os dados clínicos para os valores serem úteis como teste de diagnóstico (Mirkes *et al.*, 2014).

1.7. Imunofenotipagem

A imunofenotipagem é utilizada para determinar o tipo de linfócitos que constituem o tumor, sendo também útil para prever o desenvolvimento clínico. Os linfócitos podem ser definidos e diferenciados pela deteção de certos antígenos na sua superfície celular a partir da expressão de moléculas específicas para células B e células T, que são depois denominadas de marcadores (Comazzi & Gelain, 2011; Freedman *et al.*, 2019; S. Lana *et al.*, 2006; D. Seelig *et al.*, 2016; Vail *et al.*, 2020).

Para as células B, estes marcadores são o CD79 α , CD20 e CD21, e para as células T, o CD3, CD4 e CD8. Os cães com linfoma da zona T indolente podem expressar o marcador CD21 (Frantz *et al.*, 2013; Vail *et al.*, 2020). Apesar destes marcadores ajudarem a identificar o imunofenótipo, a expressão aberrante de moléculas CD tem aumentado no linfoma canino. Num estudo com 59 cães com linfoma, as células neoplásicas de 6 cães eram simultaneamente positivas aos marcadores das células B e T. Contudo, um ensaio de clonalidade revelou clonalidade da célula T ou do recetor da imunoglobulina, mas não dos dois, indicando que, em certos casos, as células malignas podem coexpressar marcadores

de células B e T (Fournel-Fleury *et al.*, 2002; Vail *et al.*, 2020). Os anticorpos utilizados para determinar o imunofenótipo têm potencial terapêutico, faltando uma forma de direcionar estes anticorpos para as células tumorais (Vail *et al.*, 2020).

Existe uma diferença na prevalência racial do imunofenótipo. A grande maioria dos linfomas é de células B, contudo, a distribuição entre raças difere, por vezes de forma significativa. As raças mais predispostas a um determinado tipo de linfoma estão descritas posteriormente nos *Fatores de prognóstico*. Também existem raças com uma prevalência do imunofenótipo similar, como o Golden Retriever (Hughes *et al.*, 2018; Zandvliet, 2016).

1.8. Estadiamento clínico

Além de um diagnóstico definitivo, é necessário determinar a extensão do linfoma e estadiar a doença. Um dos sistemas de classificação de estádios usados com mais frequência é o sistema de classificação da OMS, que se encontra dividido em 5 estádios. O estágio I compõe os casos onde o linfoma se encontra limitado a um só GL, enquanto o estágio II compõe os casos onde vários GL de uma região corporal estão afetados. No estágio III já se encontram os casos onde existe uma linfadenomegália generalizada, passando para estágio IV quando existe envolvimento secundário do fígado e/ou baço. Para um linfoma ser considerado estágio V, é necessária também a confirmação de envolvimento medular. A maioria dos cães, mais de 80%, apresenta-se num estágio avançado, no III ou IV, no momento do diagnóstico. Existe ainda um subestádio, definido com a ou b, onde é indicado, respetivamente, a ausência ou presença de sinais sistêmicos de doença, como febre, perda de peso ou hipercalemia (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016). Um resumo do estadiamento clínico encontra-se descrito na Tabela 1 - Estadiamento clínico, segundo a .

Tabela 1 - Estadiamento clínico, segundo a OMS (Adaptado de Vail *et al.*, 2020)

Estádio	Envolvimento
I	Um só GL ou tecido linfoide num único órgão
II	Vários GL numa região
III	Generalizado dos GL
IV	Fígado ou baço (além de GL)
V	Medula óssea (além de GL)

1.8.1. Imagiologia

A radiografia, ecografia, tomografia computadorizada (CT) e tomografia por emissão de positrões com tomografia computadorizada (PET-CT) são exames complementares úteis no estadiamento clínico do linfoma, assim como da sua progressão (Vail *et al.*, 2020).

O recurso a radiografias torácicas e abdominais pode ser importante na avaliação do envolvimento interno e extensão (Blackwood *et al.*, 1997; Vail *et al.*, 2020). Na maioria das vezes, aproximadamente 60 a 75% dos cães com linfoma multicêntrico, as radiografias apresentam anomalias, com 2/3 a apresentar linfadenopatia torácica e 1/3 a apresentar infiltração pulmonar, embora estes não sejam, tipicamente, específicos, servindo mais para um diagnóstico diferencial de linfoma (Blackwood *et al.*, 1997; Starrak *et al.*, 1997).

Contudo, a percentagem de envolvimento pulmonar pode ser ainda mais alta, com base na lavagem broncoalveolar (Yohn *et al.*, 1994). Em 20% dos cães é detetada linfadenopatia mediastínica cranial, o que acarreta um pior prognóstico em relação ao tempo de remissão e de sobrevivência (Starrak *et al.*, 1997; Vail *et al.*, 2020). Em aproximadamente 50% dos casos, as radiografias abdominais apresentam achados compatíveis com envolvimento dos GL ilíacos mediais e/ou mesentéricos, baço ou fígado (Vail *et al.*, 2020). Na opinião clínica de Vail *et al.* (2020), a imagiologia nos casos típicos de linfoma multicêntrico limita-se a radiografias torácicas, pois não existe diferença prognóstica de um cão no estágio III ou IV, enquanto que a linfadenopatia mediastínica cranial tem significado prognóstico. Caso existam sinais clínicos compatíveis com envolvimento abdominal, e seja necessário um estadiamento completo ou se não for observada linfadenopatia periférica, deve-se recorrer à imagiologia abdominal.

A ecografia para avaliação dos GL periféricos tem uma aplicabilidade clínica questionável, pois a citologia de GL é fácil, barata e de alta utilidade diagnóstica (Vail *et al.*, 2020). O recurso à ecografia para avaliação abdominal é útil para avaliar um possível envolvimento hepático e esplénico, além de avaliar a arquitetura e tamanho dos GL regionais (Crabtree *et al.*, 2010; Nyman *et al.*, 2005, 2006). Esta modalidade imagiológica também é útil na diferenciação entre enterite e neoplasia intestinal. No entanto, o exame revela-se normal em até 25% dos cães com linfoma alimentar, e, mesmo os que apresentam indícios, estes são inespecíficos (Frances *et al.*, 2013). Os sinais ecográficos sugestivos são perda da diferenciação normal entre paredes, aumento da espessura da parede, e linfadenopatia mesentérica (Penninck *et al.*, 2003). O diagnóstico definitivo é realizado com recurso a biópsia (Zandvliet, 2016).

Embora os exames complementares imagiológicos consigam demonstrar a presença de uma massa mediastínica, apenas é possível obter um diagnóstico definitivo de um linfoma

mediastínico ou timoma a partir da citologia ou biópsia. Em casos onde a citologia é inconclusiva, a imunofenotipagem ou PARR são úteis para o diagnóstico definitivo (S. E. Lana *et al.*, 2006; Zandvliet, 2016).

As modalidades imagiológicas mais avançadas, como CT, MRI, PET-CT e tomografia por emissão de pósitrons-ressonância magnética, estão a ser utilizadas cada vez mais, com a sua utilidade ainda a ser determinada. A CT é ideal para avaliar a extensão do linfoma, não permitindo normalmente um diagnóstico específico. Em medicina humana, o *standard* é a PET-CT. Esta modalidade mostra-se promissora na avaliação da resposta à quimioterapia em cães com linfoma e na previsão de recidiva antes da confirmação clínica e clinicopatológica (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016).

1.8.2. Avaliação da medula óssea

De forma a realizar um estadiamento e prognóstico completo, é necessária uma aspiração de medula óssea ou uma biópsia de núcleo, do úmero proximal ou da crista ilíaca. Também pode estar indicada em cães com anemia, linfocitose, linfócitos atípicos circulantes ou outras citopenias periféricas (Martini *et al.*, 2015; Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016).

Apesar do valor prognóstico importante, não é estritamente necessária a sua realização caso se pretenda realizar um plano terapêutico devido à sua influência limitada no prognóstico e tratamento, não sendo um procedimento realizado de forma rotineira (Vail *et al.*, 2010, 2020). Um estudo com 53 cães com linfoma avaliou o envolvimento da medula óssea, obtendo um envolvimento em 57% dos cães (Martini *et al.*, 2015; Raskin & Krehbiel, 1989, 1989). A presença de alguns pró-linfócitos e linfócitos grandes com nucléolos na circulação sanguínea pode ser indicativo de envolvimento da medula óssea, mas é preciso ter em atenção o facto destas células também serem observadas em doenças imuno-mediadas e infecciosas (Vail *et al.*, 2020).

1.9. Tratamento

1.9.1. Tratamento médico

Devido à natureza do linfoma canino, a quimioterapia é considerada a modalidade terapêutica de eleição. Como o linfoma canino é, regra geral, considerado uma doença sistémica, este requer uma terapia sistémica (Thamm, 2019; Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016). Uma minoria dos casos apresenta cura. Contudo, a implementação de um plano terapêutico

com inclusão de quimioterapia é eficaz no prolongamento de vida na maioria dos casos (Zandvliet, 2016).

A abordagem terapêutica é determinada por vários fatores, como o subtipo, estágio e subestádio da doença, presença de síndrome paraneoplásica, estado fisiológico, fatores socioeconômicos dos tutores e o seu nível de conforto em relação às expectativas e efeitos secundários. Os objetivos principais da quimioterapia são a indução de uma primeira remissão completa longa, superior a 6 meses, a reindução da remissão após recidiva, e indução sempre que o cancro não responder à indução ou reindução, utilizando fármacos não utilizados nos protocolos iniciais (Vail *et al.*, 2020).

De forma geral, a taxa de resposta à quimioterapia, a duração da resposta, o período de remissão e a sobrevida são superiores em linfomas de tipo B em comparação com os de tipo T, sem ter em conta os subtipos de baixo grau de linfoma T (Beaver *et al.*, 2010; Marconato *et al.*, 2011; Rebhun *et al.*, 2011; Ruslander *et al.*, 1997; Teske, 1994; Vail *et al.*, 1996).

Atualmente, a caracterização histológica e imunofenotípica não têm um papel significativo na determinação do protocolo terapêutico inicial. No entanto, vários protocolos foram sugeridos como alternativas para o tratamento de linfoma de tipo T, como o Mustargen® (mecloretamina), Oncovin® (vincristina), procarbazina, prednisona ou prednisolona (MOPP), a lomustina, Oncovin® (vincristina), procarbazina, prednisona ou prednisolona (LOPP) ou o Oncovin® (vincristina), l-asparaginase, hidroxidaunorrubicina (doxorubicina), ciclofosfamida, prednisona ou prednisolona, actinomicina D, lomustina e procarbazina (VELCAP-TSC). No entanto, não existem ensaios clínicos controlados e aleatórios, até à data, que demonstrem melhores resultados do que com outros protocolos mais utilizados, como o CHOP, embora protocolo LOPP apresente resultados promissores no tratamento de linfoma de tipo T (Brodsky *et al.*, 2009; Brown *et al.*, 2018; Goodman *et al.*, 2016; A. S. Moore, 2016; Vail *et al.*, 2020). Os protocolos indicados previamente tendem a adicionar ou substituir agentes alquilantes, como a lomustina ou procarbazina, pela doxorubicina (Vail *et al.*, 2020).

A maioria dos cães tolera bem a quimioterapia e, apesar de, por vezes, poder ser necessário reduzir doses ou realizar pausas no tratamento, apenas uma minoria dos cães desenvolve efeitos adversos com gravidade suficiente para hospitalização (Tomiyasu, Takahashi, *et al.*, 2010; Vail *et al.*, 2020).

Antes de cada sessão de quimioterapia deve ser realizado um hemograma completo. A contagem de neutrófilos deve ser, no mínimo, 1500 neutrófilos/ μ L, apesar de alguns oncologistas utilizarem um *cut-off* de 2000 neutrófilos/ μ L, e a contagem de plaquetas deve ser, no mínimo, 50 000 plaquetas/ μ L antes da administração de quimioterapia mielossupressiva (Fournier *et al.*, 2018). Caso a contagem de neutrófilos não atinja o *cut-off*

definido pelo oncologista, é recomendado esperar um período de 5 a 7 dias, repetindo o hemograma e avaliando as novas contagens. No entanto, estas restrições têm exceções. Em cães que se apresentam com contagens baixas devido a mieloptise antes do início da quimioterapia, é instituída uma quimioterapia mielossupressiva para "limpar" as células neoplásicas da medula óssea e, assim, permitir a normalização da hematopoiese (Vail *et al.*, 2020).

Atualmente, não existem estudos que indiquem um benefício de uma fase de manutenção ou consolidação após indução, embora não tenham sido realizados, até agora, estudos prospectivos aleatórios. Na maioria dos estudos, os cães sujeitos a protocolos mais curtos e baratos sem uma fase de manutenção prolongada, quando comparados com cães com manutenção prolongada, têm uma duração de remissão e tempo livre de doença similares e aparentam atingir segundas remissões mais facilmente quando recidivam após a conclusão da quimioterapia (J. W. Elliott *et al.*, 2013; Garrett *et al.*, 2002; Lautscham *et al.*, 2017; Simon *et al.*, 2008; Vail *et al.*, 2020). Estes dados sugerem que uma terapia de manutenção não é benéfica na maioria dos cães, e, segundo Vail *et al.* (2020), é preferível utilizar protocolos com uma indução agressiva sem manutenção, pelo menos até existirem estudos prospectivos aleatórios.

A eficácia da quimioterapia está limitada pelo surgimento de resistência a fármacos e, devido ao pequeno número de opções terapêuticas alternativas, o desenvolvimento desta resistência tem um impacto negativo significativo no prognóstico. A resistência intrínseca a fármacos é mais comum em linfomas de tipo T do que de tipo B. Teoriza-se que os transportadores de fármacos da superfamília de transportadores ABC, do inglês *ATP-Binding Cassette*, têm um papel importante no desenvolvimento desta resistência. Estes transportadores incluem a proteína ABCG2 e a glicoproteína-P (gp-P). Segundo um estudo de Zandvliet *et al.* (2015), a resistência a fármacos foi mais frequente em linfomas de tipo T. Além deste aumento da frequência, a expressão da proteína ABCG2 também se encontrava aumentada aquando do ganho da resistência. Esta proteína não se encontrava aumentada nos linfomas de tipo B, existindo neste tipo um aumento da expressão da gp-P (Hifumi *et al.*, 2010; Lage, 2008; Zandvliet, 2016; Zandvliet *et al.*, 2015).

Existem duas opções terapêuticas para abordar esta situação. Pode-se recorrer a inibidores destas proteínas ou utilizar fármacos citotóxicos que não sejam seus substratos. Dois inibidores da gp-P que podem ser úteis para reverter a resistência a fármacos são o PSC833 (Valspodar™) e o masitinib (Zandvliet, Teske, *et al.*, 2013). Contudo, um estudo avaliou o Valspodar™ ao incluir este fármaco num protocolo CHOP de primeira linha, sem resultar em qualquer benefício no tratamento (Ito *et al.*, 2017). Os agentes alquilantes e a l-

asparaginase, utilizados tipicamente em protocolos de resgate, não são substratos das proteínas previamente referidas (Zandvliet, 2016).

1.9.1.1. Glucocorticóides

Os glucocorticóides são uma das principais opções terapêuticas no linfoma canino, pertencendo geralmente a uma terapia padrão. Relativamente à oncologia, a sua utilização deve-se à indução da apoptose linfocítica e linfoblástica que provoca (Gustafson & Bailey, 2020; Lin & Wang, 2016; Smith & Cidlowski, 2010). No entanto, vários estudos reportaram que o tratamento prévio à quimioterapia com glucocorticóides resultou em taxas de resposta mais baixas e períodos de remissão mais curtos, sendo recomendada a sua suspensão até ser decidido não continuar tratamento com fármacos citostáticos (Gavazza *et al.*, 2008; Marconato *et al.*, 2011; Price *et al.*, 1991; Rassnick *et al.*, 2021; Teske, van Heerde, *et al.*, 1994; Turek *et al.*, 2008; Zandvliet, 2016).

O mecanismo causador desta aparente quimiorresistência permanece sob investigação (Gustafson & Bailey, 2020; Legendre, 2007; Mayayo-Peralta *et al.*, 2021). Além disso, a adição de prednisolona a protocolos de múltiplos fármacos baseados em doxorrubicina não melhora os resultados terapêuticos (Zandvliet, Rutteman, *et al.*, 2013). Curiosamente, os glucocorticoides nem sempre aparentam ter impacto na taxa de remissão, período livre de doença e tempo de sobrevida (Childress *et al.*, 2016; Zandvliet, Rutteman, *et al.*, 2013).

Os glucocorticóides são geralmente utilizados em protocolos multifármacos, embora também se possa realizar um protocolo mono-fármaco com apenas estes, se existirem constrangimentos económicos ou reticência por parte dos tutores em relação à quimioterapia sistémica. A dose é 2 mg/kg/dia *per os* (PO) durante 7 dias, reduzindo depois para 1 mg/kg/dia PO. Este protocolo apresenta uma remissão curta, de 1 a 2 meses. Como previamente referido, os cães tratados com glucocorticoides apresentam quimiorresistência. Isto significa que, caso o tutor pretenda posteriormente alterar o protocolo quimioterápico, a probabilidade do cão entrar numa remissão completa é reduzida (Turek *et al.*, 2008; Vail *et al.*, 2020).

1.9.1.2. Protocolos quimioterápicos mono-fármacos

A quimioterapia com protocolos mono-fármacos baseia-se na utilização de um único agente quimioterápico, podendo estar associado, ou não, a glucocorticóides. Esta modalidade terapêutica apresenta taxas de remissão menores, mas acaba por ser escolhida por alguns proprietários devido à sua simplicidade, conveniência e custos reduzidos (Turek *et al.*, 2008).

Com exceção da doxorrubicina, os protocolos mono-fármacos não costumam resultar numa remissão duradoura quando comparados com os protocolos de múltiplos fármacos. A adição de quimioterápicos com efeito isolado a protocolos CHOP não resultou em ganhos significativos ou não foi realizada uma avaliação adequada, estando muitos destes fármacos reservados para resgate (Vail *et al.*, 2020).

1.9.1.2.1. Clorambucil

O clorambucil é um agente alquilante que inibe a síntese e função do DNA através de ligações cruzadas com o DNA celular (Allerton, 2020; Papich, 2016). O seu uso apresenta indícios positivos para linfomas alimentares e encontra-se recomendado para protocolos mais conservadores, utilizados em, por exemplo, casos de linfoma indolente, com o objetivo de controlar o linfoma (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016).

1.9.1.2.2. Doxorrubicina

A doxorrubicina danifica o DNA ao inibir a enzima topoisomerase II, responsável por funções do DNA. Também provoca morte celular ao bloquear a síntese de ácido ribonucleico (RNA) e proteínas. É considerado um dos agentes mais eficientes no tratamento de linfoma (Gustafson & Bailey, 2020; Papich, 2016). É o agente quimioterápico mais eficaz no tratamento de linfoma de alto grau. Quando utilizada isoladamente, proporciona taxas de remissão por volta dos 70%, com tempo de sobrevida média de 5 a 7 meses (Dobson & Lascelles, 2011). Se combinada com prednisona, pode oferecer uma alternativa ao CHOP, embora com um *outcome* pior, que se traduz na redução do tempo de remissão e sobrevida (E. T. Keller *et al.*, 1993; Mutsaers *et al.*, 2002; Regan *et al.*, 2013; Valerius *et al.*, 1997).

A doxorrubicina apresenta toxicidade cardíaca. Isto significa que os cães com doença cardíaca, como a cardiomiopatia, não devem realizar terapêutica com este quimioterápico, podendo ser substituído pela epirrubicina (Argyle *et al.*, 2008; Gustafson & Bailey, 2020; Kitchell, 2005; McKnight, 2003; Papich, 2016; Turek *et al.*, 2008). A epirrubicina é uma alternativa à doxorrubicina, com *outcomes* similares aos protocolos que usam doxorrubicina (J. W. Elliott *et al.*, 2013). As raças predispostas à mutação do gene MDR1 requerem cuidado acrescido devido à sua propensão para toxicidade (Papich, 2016). A cardiotoxicidade cumulativa manifesta-se com uma diminuição da contractilidade miocárdica e/ou arritmias, que geralmente resultam em insuficiência cardíaca congestiva, com o dano a ser irreversível e de péssimo prognóstico (Vail *et al.*, 2020). O risco aumenta significativamente quando a dose cumulativa é superior a 240 mg/m² (Allerton, 2020).

A administração rápida de doxorrubicina pode provocar um aumento dos níveis plasmáticos de histamina, sendo importante a sua administração ser realizada de forma lenta via intravenosa (IV), a cada 21 dias, num total de 5 doses em 15 semanas. A dose é diluída em solução salina (Eschaliier *et al.*, 1988; Turek *et al.*, 2008).

A dose total é diluída em solução salina de 25 ou 50 ml e administrada lentamente, via IV, ao longo de 20 a 30 minutos, preferencialmente em 60 minutos. Os efeitos adversos podem ser diminuídos se a duração for aumentada para 2 a 3 horas. Na maioria dos casos, a dose é calculada com a área da superfície corporal (mg/m^2), sendo a dose $30 \text{ mg}/\text{m}^2$. No entanto, em cães pequenos com menos de 10 kg, é mais seguro calcular a dose a administrar utilizando o peso (mg/kg), com uma dose de $1 \text{ mg}/\text{kg}$ (Allerton, 2020; Gustafson & Bailey, 2020; Papich, 2016).

A avaliação cardíaca prévia à toma com recurso a ecocardiograma e eletrocardiografia é controversa, devendo-se sempre considerar os animais com doença cardíaca conhecida ou raças predispostas a cardiomiopatia dilatada (Gustafson & Bailey, 2020).

Vários estudos foram realizados para avaliar o efeito de certos fármacos na quimiorresistência à doxorrubicina. Um estudo de Chen *et al.* (2019) avaliou o efeito do imatinib no tratamento com doxorrubicina em linfomas do tipo B, que reverteu a quimiorresistência à doxorrubicina. Outro estudo *in vitro* sugere que o celecoxibe pode melhorar significativamente a eficiência da quimioterapia ao prevenir o desenvolvimento de quimiorresistência à doxorrubicina em linfoma do tipo B (Karai *et al.*, 2020).

Relativamente a estudos sobre a utilização isolada de doxorrubicina, um estudo onde aos cães foi administrada uma só dose de doxorrubicina, obteve uma taxa de resposta de 100% nos casos de linfoma de tipo B, ao contrário da taxa do tipo T, que foi de 50%, sugerindo que a doxorrubicina pode ser menos eficiente no tratamento de linfoma do tipo T, algo já referenciado noutras publicações (Beaver *et al.*, 2010; Papich, 2016).

1.9.1.2.3. L-asparaginase

As células neoplásticas são deficientes em asparagina sintetase e requerem asparagina extracelular para a síntese de DNA e RNA, pois não conseguem sintetizar a sua própria asparagina. Pelo contrário, as células normais são capazes de a sintetizar. A l-asparaginase tem como função a destruição da asparagina. As células tumorais conseguem desenvolver resistência ao desenvolver a capacidade de sintetizar asparagina (Gustafson & Bailey, 2020; Papich, 2016).

A dose de l-asparaginase é 400 IU/kg intramuscular (IM) ou subcutânea (SC), ou 10000 IU/m² IM ou SC. Para evitar o desenvolvimento de resistência, é usado frequentemente apenas na fase inicial de indução ou no momento da recidiva (Gustafson & Bailey, 2020).

1.9.1.2.4. Lomustina

A lomustina é normalmente utilizada em situações de recidiva ou em casos de linfoma cutâneo epiteliotrópico, podendo também ser utilizada numa abordagem mono-fármaco em casos onde o tutor pretenda um tratamento simples e conveniente. Contudo, o seu tempo de sobrevida é, em média, de 3 meses (A. S. Moore *et al.*, 1999). A lomustina funciona ao interferir com a síntese e função do DNA, RNA e proteínas (Allerton, 2020).

O tratamento é realizado com uma dose de 70 a 90 mg/m² PO a cada 3 a 4 semanas (Gustafson & Bailey, 2020).

A lomustina tem vindo a ser cada vez mais utilizada, especialmente em linfomas de tipo T de alto grau, tanto em protocolo mono-fármaco como em protocolos de múltiplos fármacos (Brown *et al.*, 2018; J. Elliott & Baines, 2019).

Um estudo retrospectivo realizado por Giannasi *et al.* (2016) avaliou sete casos de linfoma de tipo T de alto grau tratados com lomustina, Oncovin® (vincristina), prednisona ou prednisolona (LOP). A taxa de resposta completa foi 100%, com uma mediana do intervalo livre de doença (ILD) de 93 dias e uma mediana de tempo de sobrevivência de 146 dias. O ILD obtido é semelhante a outros estudos de protocolos com base na lomustina. Contudo, este estudo demonstrou uma melhoria na taxa de resposta completa comparada com outros estudos.

Outro estudo, que teve como objetivo comparar a ciclofosfamida, obteve um ILD e tempo de sobrevivência mais altos em cães que recebiam um protocolo onde a única diferença era a alteração da lomustina pela ciclofosfamida, com o restante protocolo a ser constituído por vincristina, epirrubina e prednisolona (J. Elliott & Baines, 2019).

1.9.1.3. Protocolos quimioterápicos de múltiplos fármacos

A quimioterapia sistémica com múltiplos agentes é a principal escolha terapêutica nos linfomas de grau intermédio e alto. Os protocolos constituídos por múltiplos fármacos possuem uma eficiência superior, com tempos de remissão maiores se comparados com os protocolos mono-fármacos. Geralmente, os protocolos quimioterápicos com maior sucesso são os protocolos de múltiplos agentes que incluem a doxorrubicina. Existe uma grande

variedade de protocolos, sendo a maioria das modificações de protocolos CHOP inicialmente concebidos para uso em medicina humana. Atualmente, não existem evidências suficientes para recomendar um protocolo sobre outro, desde que os componentes principais do CHOP estejam presentes (Thamm, 2019; Vail *et al.*, 2020).

Vários estudos descrevem *outcomes* clínicos distintos para tratamentos entre linfoma de tipo B e T de alto grau, demonstrando que o imunofenótipo é um fator de prognóstico importante (Curran & Thamm, 2016; Ponce *et al.*, 2004; Simon *et al.*, 2008). Por outro lado, outros protocolos reportaram taxas de respostas similares em cães com linfoma de tipo B e T (Childress *et al.*, 2018; Rebhun *et al.*, 2011).

Segundo Rassnick *et al.* (2010), Sorenmo *et al.* (2010) e Vaughan *et al.* (2007), o aumento da intensidade do tratamento pelo aumento do número de fármacos, doses ou redução de intervalos das doses não mostrou uma melhoria do *outcome* terapêutico, mas sim um aumento dos efeitos adversos.

O protocolo mais utilizado atualmente é o CHOP ou variações deste (Vail *et al.*, 2020). É constituído pela vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina e prednisona ou prednisolona. A sua duração pode ser de 15 a 25 semanas, e após a sua conclusão, a maioria é suspenso. A duração mais comum é 19 e 25 semanas. A partir desse momento, são realizados *check-ups* mensais para avaliar o estado de remissão (Curran & Thamm, 2016; J. W. Elliott *et al.*, 2013; Garrett *et al.*, 2002; Greenberg *et al.*, 2007; Hosoya *et al.*, 2007; MacDonald *et al.*, 2005; Sorenmo *et al.*, 2010; Turek *et al.*, 2008; Vail *et al.*, 2020). Um estudo recente confirmou uma aparente falta de benefício do tratamento de manutenção após a conclusão do protocolo inicial (Lautscham *et al.*, 2017).

O protocolo CHOP induz remissão em aproximadamente 80 a 95% dos cães, com tempos de sobrevida mediana de 10 a 12 meses. Aproximadamente 20 a 25% dos cães submetidos a tratamento irão estar vivos 2 anos após o início do tratamento. A taxa de resposta e a sua duração variam consoante os fatores de prognóstico. Os cães que respondem à quimioterapia e alcançam uma remissão completa ficam, normalmente, livres de sinais clínicos associados ao linfoma. Alguns estudos indicam que os cães com linfoma de tipo T de alto grau submetidos a um protocolo CHOP têm um tempo de remissão e sobrevida significativamente mais curtos do que os cães com linfoma de tipo B de alto grau (Vail *et al.*, 2020).

Nas raças com predisposição para mutações homozigóticas do gene resistência a múltiplas drogas 1 (MDR1), por exemplo, o Border Collie, e consequentemente em risco de toxicidade quimioterápica, Vail *et al.* (2020) recomenda começar o protocolo CHOP numa sequência diferente, nomeadamente com a ciclofosfamida, pois não é substrato de MDR1.

Isto permite começar o tratamento enquanto se aguarda pelo resultado do teste. Atualmente, não existem protocolos específicos para cães com dupla mutação do MDR1, embora Vail *et al.* (2020) sugira uma redução de 40 a 50% da dose, com aumentos ou decréscimos consequentes consoante a resposta do animal.

A doxorrubicina pode ser substituída pela epirrubicina em várias situações. Estudos prévios mostraram um desenvolvimento clínico semelhante em cães tratados com ciclofosfamida, epirrubicina, vincristina e prednisolona, e CHOP (J. W. Elliott *et al.*, 2013).

Foi sugerido que a ciclofosfamida é o agente menos eficiente num protocolo CHOP (J. Elliott & Baines, 2019). Muitos clínicos optam por uma administração oral da ciclofosfamida em vez de injetável. Até recentemente não se conhecia bem a diferença da eficácia entre cada via de administração, devido à falta de conhecimento da biodisponibilidade oral da ciclofosfamida (Thamm, 2019). Uma análise farmacocinética que tinha como objetivo comparar a via oral e a injetável sugere que, apesar da diferença significativa na exposição plasmática ao fármaco, a exposição ao metabolito ativo da ciclofosfamida é bastante semelhante entre as duas vias de administração, sugerindo uma provável eficácia (Warry *et al.*, 2011).

Vários estudos sugerem que a adição de L-asparaginase, resultando em protocolos como a L-asparaginase, ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisona ou prednisolona (L-CHOP), não resulta em aumentos relevantes na taxa de remissão, velocidade para atingir a remissão, ou duração da primeira remissão (Jeffreys *et al.*, 2005; Piek *et al.*, 1999).

1.9.1.4. Reindução e resgate

Eventualmente, a maioria dos cães que entra em remissão acaba por recidivar. Geralmente, isto representa o aparecimento de clones tumorais ou células estaminais tumorais, que são mais resistentes à quimioterapia comparativamente ao tumor original (Vail *et al.*, 2020). Esta resistência ocorre porque os clones se tornam resistentes após exposição aos quimioterápicos ou porque são clones que, inicialmente, já eram resistentes aos fármacos (Ito *et al.*, 2011).

Os mecanismos causadores de recidiva, por resistência a fármacos, incluem a expressão génica de MDR1, doseamento e/ou frequência inadequado, falha na obtenção de concentrações altas de quimioterápicos e tratamento inicial apenas com prednisona (Vail *et al.*, 2020). Relativamente ao protocolo de reindução escolhido, é recomendado utilizar o protocolo de indução original como protocolo de reindução, caso este tenha sido bem sucedido inicialmente. Também deve ter passado um período de tempo superior a 2 meses

após a conclusão do protocolo inicial, de forma a que a reindução seja provável. De forma geral, a duração da segunda remissão é metade da primeira (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016). As taxas de reindução variam entre os 80 a 90% em cães que realizaram protocolos baseados no CHOP e que entraram em recidiva enquanto já não estavam sujeitos a um plano terapêutico (Flory *et al.*, 2011; Garrett *et al.*, 2002).

Caso a reindução falhe, ou o cão não responda à indução inicial, pode-se recorrer aos chamados protocolos de resgate. Estes protocolos são constituídos por apenas um fármaco ou por combinações que não estão presentes em protocolos CHOP normais e que têm a sua utilização retida até ao surgimento de resistências a fármacos. Alguns protocolos de resgate comuns incluem apenas um ou combinações dos seguintes agentes, e caso algum não tenha sido utilizado previamente: rabacfosadina, lomustina, L-asparaginase, vincristina, vinblastina, prednisona e doxorubicina. Os protocolos de resgate resultam normalmente em taxas de resposta e duração de resposta inferiores, assim como numa maior toxicidade do que os protocolos de primeira linha. As taxas variam entre os 40 a 90%, com uma mediana do tempo de resposta de 1,5 a 2,5 meses, apesar de 20% dos animais conseguir uma duração superior (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016).

Os dados publicados até à data relativamente a protocolos de resgate não possuem números suficientes para uma adequada análise estatística nem comparam protocolos entre si de forma aleatória e controlada. A escolha do protocolo acaba por ser influenciada por diversos fatores, como o tempo necessário, a eficácia, os custos financeiros e os efeitos secundários (Vail *et al.*, 2020).

1.9.2. Tratamento cirúrgico

Devido ao tipo de linfoma mais comum nos cães ser o multicêntrico, a quimioterapia torna-se a principal ferramenta terapêutica nestes casos. Contudo, pode-se recorrer a tratamento cirúrgico em casos de linfoma solitário, extranodal ou linfomas em estágio I. A cirurgia pode ainda ser útil num plano paliativo onde, por exemplo, um linfonodo esteja a provocar efeito massa, com consequentes efeitos adversos (Vail *et al.*, 2020).

No caso de um linfoma esplênico primário, que costuma ser de caráter indolente, a esplenectomia é uma opção válida e de prognóstico favorável. No entanto, é importante fazer um estadiamento de forma a averiguar se existe envolvimento multicêntrico (Van Stee *et al.*, 2015). A imunofenotipagem nestes casos é relevante, pois o prognóstico dos linfomas de tipo T foi pior quando comparado com os de tipo B (Dobson *et al.*, 2001; Ponce *et al.*, 2004; Rebhun *et al.*, 2011).

1.9.3. Radioterapia

Apesar da sua sensibilidade à radiação, a radioterapia tem um papel limitado no tratamento de linfomas, visto que esta doença é tipicamente sistémica. No entanto, pode estar indicada em casos específicos (Tabela 2) (Berlato *et al.*, 2012; George *et al.*, 2016; Vail *et al.*, 2020).

Tabela 2 - Potenciais indicações para radioterapia no linfoma (Adaptado de Vail *et al.*, 2020)

Tratamento curativo	Para linfoma de estágio I e linfoma extranodal solitário, como: linfoma nasal, linfoma cutâneo e linfoma espinhal
Tratamento paliativo	Para doença local, como: linfadenopatia mandibular, linfoma rectal, linfoma mediastínico com síndrome pré-cava e envolvimento ósseo localizado
Radioterapia de corpo inteiro	Com ou sem transplante de medula óssea ou células estaminais
Radioterapia de metade do corpo	Após remissão induzida por quimioterapia

O tratamento da forma multicêntrica requer uma sessão de radiação do corpo todo ou duas sessões onde, em cada sessão, uma metade do corpo é irradiada. O último método, ao contrário do primeiro, causa menos efeitos secundários (Zandvliet, 2016).

O uso mais comum é como terapia adjuvante para a quimioterapia sistémica, podendo ser radiação do corpo todo ou radiação de metade do corpo. A primeira opção requer transplante de medula óssea ou células estaminais do sangue periférico devido ao risco de supressão severa da medula óssea. A segunda opção tem vindo a ser a mais comum. Esta pode ser realizada durante ou após o protocolo quimioterápico (Zandvliet, 2016). Num estudo onde foi realizada radioterapia de metade do corpo após 11 semanas de quimioterapia, concluiu-se que, apesar do aumento promissor da taxa de resposta e da duração da remissão, estes aumentos não são suficientes para ter relevância clínica, nem para justificar o valor deste tipo de tratamento (Williams *et al.*, 2004).

Outro estudo relativamente recentemente, que avaliou o resultado/*outcome* de cães submetidos a radioterapia adjuvante a quimioterapia, sugere uma possível melhoria nestes cães quando comparados com os que receberam apenas quimioterapia (Lurie *et al.*, 2009).

1.9.4. Imunoterapia

1.9.4.1. Anticorpos monoclonais

Ao contrário do que ocorre na oncologia humana, o desenvolvimento de anticorpos monoclonais na oncologia veterinária encontra-se na sua infância (Thamm, 2019).

Na medicina humana, o protocolo constituído pelo rituximab, ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisona ou prednisolona (R-CHOP) aumentou significativamente a duração das primeiras remissões e o tempo de sobrevivência. Este protocolo associa o CHOP ao rituximab. O rituximab tem como alvo o antígeno CD20, provocando uma resposta imunitária citotóxica nas células (Thamm, 2019; Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016). Nos cães este anticorpo, apesar da expressão positiva de CD20, não teve atividade terapêutica (Impellizeri *et al.*, 2006). Isto motivou a comunidade académica a desenvolver uma versão canina (Dias *et al.*, 2021). Um estudo recente gerou um anticorpo que obteve resultados promissores, com um efeito citopático alto, e os ensaios clínicos estão a ser preparados (Mizuno *et al.*, 2020).

Em 2012 e 2014, os anticorpos blontuvetmab (AT-004) e tamtuvetmab (AT-005), respetivamente, obtiveram aprovação condicional por parte do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (DAEU) (Aratana Therapeutics, 2014; Dias *et al.*, 2021). Um estudo realizado por Musser *et al.* (2022), que tinha como objetivo avaliar o intervalo livre de doença, estudou a utilização de L-CHOP associado ao anticorpo AT-005 no tratamento de linfoma de tipo T, para o qual está indicado. A população sujeita a AT-005 teve um ILD inferior à população com placebo, embora o anticorpo não tenha afetado estatisticamente o ILD segundo os autores. A avaliação final deste anticorpo acabou por ser difícil de averiguar devido à amostra pequena, porém, foi reportado que este anticorpo não tem especificidade para o alvo pretendido e que o *outcome* clínico dos cães, quando comparados com uma população sujeita apenas a quimioterapia, não melhorou (Aratana Therapeutics, 2015; Dias *et al.*, 2021; Musser *et al.*, 2022; Thamm, 2019).

1.9.4.2. Vacinas anti-tumorais

A investigação de vacinação anti-tumoral é tema presente na investigação veterinária, embora a maioria das abordagens não tenha resultado em ganhos significativos no tempo de remissão ou tempo de sobrevida (Vail *et al.*, 2020). Um estudo promissor, onde o tempo de sobrevida mediano foi significativamente superior no grupo vacinado, não possuiu um grupo de controlo nem aleatoriedade. Além disso, o protocolo de quimioterapia era ciclofosfamida, vincristina, prednisona ou prednisolona (COP) em vez de CHOP, este último

considerado superior, ficando impossível de determinar se a escolha de outro protocolo “superior” resultaria também nesta melhoria do tempo de sobrevida (Thamm, 2019).

Outro tipo de vacina promissora tem como base as proteínas de choque térmico (HSPs), com o objetivo de estimular a resposta imunitária celular (Dias *et al.*, 2021; Martins, 2018). Um estudo de Marconato *et al.* (2014), onde uma vacina deste tipo, ou placebo, foi associada a protocolo CHOP, resultou num período sem sinais de linfoma superior. Apesar de promissor, este estudo possuía uma amostra pequena, uma distribuição desigual e fatores de prognóstico mais favoráveis para o grupo vacinado, o que pode justificar os maus resultados do grupo que recebeu placebo. Esta vacina, denominada de APAVAC®, já se encontra disponível (Thamm, 2019).

1.9.4.3. Imunoterapia adaptativa

Um tipo de imunoterapia adaptativa, a terapia com células T, denominada de células T com recetores de antígeno quimérico (CAR-T), tem sido promissora na oncologia humana. No entanto, esta vertente ainda se encontra em desenvolvimento na medicina veterinária, com ensaios clínicos em cães a terem início recentemente (Cockey & Leifer, 2023).

As CAR-T são linfócitos T geneticamente modificados para expressar um recetor de células T sintético, que tem como alvo antígenos da superfície do linfoma, possibilitando o reconhecimento das células tumorais (Cockey & Leifer, 2023; Thamm, 2019; Vail *et al.*, 2020). Um primeiro estudo desta terapêutica foi realizado em cães com recidiva de linfoma do tipo B, com especificidade dos recetores de antígeno quiméricos para o antígeno CD20. Os resultados foram promissores, com o tratamento a ser bem tolerado, resultando numa atividade anti-tumoral modesta, embora transitória (Panjwani *et al.*, 2016). Outro estudo demonstrou a viabilidade e eficácia no aumento do tempo da primeira remissão e do tempo de sobrevida em linfomas multicêntricos (O'Connor *et al.*, 2012). Neste momento encontram-se a decorrer ensaios clínicos desta nova abordagem (Vail *et al.*, 2020).

Outra alternativa às células T são as células *natural killer* (NK). Apesar de seguras, a sua eficácia clínica é pior do que as CAR-T e possuem um tempo de vida *in vivo* inferior. Existem ainda outras alternativas a serem exploradas, como os linfócitos T $\gamma\delta$ e macrófagos, mas, assim como as células NK, estas alternativas não têm uma eficácia clínica equivalente às CAR-T (Cockey & Leifer, 2023).

1.9.5. Inibidores de moléculas pequenas

Os inibidores de moléculas pequenas inibem a função das proteínas alvo, ao ligarem-se a estas. Devido ao tamanho reduzido destas moléculas, estas conseguem ligar-se a uma maior quantidade de alvos quando comparados com os anticorpos (Liu *et al.*, 2022).

O idelalisib é um inibidor da isoforma delta de fosfoinositídeo 3-quinase, estando atualmente aprovado para uso humano em linfomas do tipo B (Thamm, 2019). O RV1001 é uma formulação oral deste inibidor avaliada num estudo de fase I/II, onde se concluiu que a administração de RV1001 está associada a respostas aos linfomas e, portanto, que o RV1001 é uma opção terapêutica promissora (H. L. Gardner *et al.*, 2018).

As cinases de tirosina (TK) são enzimas envolvidas nas vias de sinalização celular (Heidemann, 2021). O grupo dos inibidores das TK é composto de moléculas que inibem a atividade de TK específicas (Papich, 2016).

O fosfato de toceranib (Palladia®) pertence ao grupo dos inibidores das TK e os seus alvos incluem os recetores de cinases de tirosina (TKR), recetor 2 do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR2), e os genes recetor A do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFRA) e KIT, estando o Palladia® indicado para o tratamento de mastocitomas (H. Gardner *et al.*, 2016; London *et al.*, 2009; Papich, 2016). O seu uso está a ser explorado em outros tipos de tumores, como é o caso do linfoma (Choi *et al.*, 2021).

Foi realizado um estudo para aferir os efeitos do Palladia® nos linfomas multirresistentes. Uma quimioterapia de múltiplos fármacos baseada em doxorrubicina, apesar de eficiente, acaba por resultar neste tipo de linfomas. Os resultados do estudo demonstraram que a monoterapia com Palladia® foi bem tolerada, sem efeitos adversos sérios, e que dois dos cinco cães obtiveram uma resposta parcial (Yamazaki *et al.*, 2017).

O masitinib (Masivet®) é outro agente anti-tumoral que pertence ao grupo dos inibidores das TK (Papich, 2016). O seu uso *off-label* na Europa revelou dados interessantes. Um destes é o seu uso em casos de linfoma, tendo sido administrado como protocolo de manutenção em cães com linfoma do tipo T (H. Gardner *et al.*, 2016, 2016; Jagielski *et al.*, 2011; Serres *et al.*, 2010). Para alguns dos cães uma monoterapia com masitinib foi suficiente para manter uma remissão completa ou clínica (Ogilvie *et al.*, 2011). Outro estudo *in vitro* teve como objetivo averiguar o potencial do masitinib para reverter a resistência a fármacos. Foi demonstrado que o masitinib potencia o efeito antiproliferativo das células linfóides resistentes à doxorrubicina, sendo um possível candidato promissor para os linfomas resistentes a doxorrubicina (Zandvliet, Teske, *et al.*, 2013).

A rabacfosadina (Tanovea®) é um fármaco aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de linfoma canino. Atua ao inibir as principais polimerases do DNA. Isto resulta na indução de apoptose nas células linfoides tumorais devido à inibição da síntese de DNA (Thamm, 2019). Dependendo do tratamento prévio e do imunofenótipo, as respostas podem variar entre 50% a 85% (Saba *et al.*, 2018; Vail *et al.*, 2009). Um estudo que alternava Tanovea® e doxorrubicina em cães ainda não submetidos a quimioterapia revelou dados promissores, similares a um protocolo CHOP convencional, indicando um possível tratamento de primeira linha no futuro (Thamm, 2019; Thamm *et al.*, 2017).

Outro estudo concluiu que o Tanovea® aparenta ser um tratamento efetivo para cães com linfoma multicêntrico, de células intermédias a grandes, sem tratamento prévio (Saba *et al.*, 2020). Por último, o uso de Tanovea® associado a l-asparaginase em casos de linfoma multicêntrico recidivante aparenta ser seguro e eficiente, sendo necessários mais estudos para avaliar se este protocolo é superior a um protocolo monofármaco de Tanovea® (Cawley *et al.*, 2020). Como outros fármacos citotóxicos para linfomas, os melhores resultados são observados em linfomas de tipo B. Atualmente a rabacfosadina é utilizada em resgate ou em primeira linha com doxorrubicina (Postorino *et al.*, 1989; Reiser *et al.*, 2008; Saba *et al.*, 2018; Vail *et al.*, 2009).

O verdinexor (Laverdia®) é um fármaco oral que inibe a exportina-1 (XPO-1), responsável pela ligação e exportação nuclear de uma grande variedade de genes supressores tumorais importantes (Thamm, 2019). Foram realizados estudos de fase I e II em cães com linfoma com resultados promissores, embora esta opção terapêutica ainda esteja na sua infância (London *et al.*, 2014; Sadowski *et al.*, 2018). Uma vantagem deste fármaco é o facto de não ser um substrato da gp-P canina, não estando em risco para reações adversas a fármacos. Isto significa que os cães afetados pelo genótipo MDR1, ou de estado desconhecido, podem ser tratados com doses normais. Outro fator positivo é não provocar quimiorresistência (Mealey & Burke, 2023).

1.10. Prognóstico

O prognóstico para cães com linfoma é altamente variável, dependendo de uma quantidade considerável de fatores. É uma doença em que a cura é alcançada com raridade, mas, onde é possível providenciar aos animais remissões completas e uma boa qualidade de vida. Os fatores de prognóstico identificados com mais consistência são o imunofenótipo, o subestádio OMS e a classificação de indolente (Vail *et al.*, 2020). É possível observar um

resumo dos fatores de prognóstico mais pertinentes na Tabela 3 - Fatores de prognóstico (Adaptado de Vail et al., 2020).

As raças com uma maior probabilidade de desenvolver linfoma de células B são o Scottish Terrier, Border Collie, Cavalier King Charles Spaniel, Basset Hound e o Doberman Pinscher, enquanto o Boxer, Lébrei Irlandês, Shih-tzu, Airedale Terrier, Yorkshire Terrier e o Husky Siberiano têm uma maior chance de desenvolver linfoma de tipo T (Fahey *et al.*, 2011; Goodman *et al.*, 2016; Lurie *et al.*, 2004, 2008; Modiano *et al.*, 2005; Zandvliet, 2016). Relativamente aos Boxers, um estudo recente também sugere que o *outcome* clínico é potencialmente pior em Boxers (Goodman *et al.*, 2016).

Alguns estudos mais antigos sugerem que o sexo pode ter influência no prognóstico, enquanto outros recentes sugerem o oposto. As fêmeas esterilizadas tendem a ter um melhor prognóstico, enquanto que os machos têm um pior prognóstico, embora isto possa ser devido a uma aparente maior incidência do imunofenótipo T nestes últimos (E. T. Keller *et al.*, 1993; MacEwen *et al.*, 1987; Vail *et al.*, 2020; Villamil *et al.*, 2009).

O local anatómico do linfoma tem importância prognóstica. O linfoma cutâneo difuso, gastrointestinal difuso, hepatoesplênico e do sistema nervoso central (SNC) primário costumam ter um pior prognóstico (Vail *et al.*, 2020). No caso de linfoma cutâneo T indolente com infiltrado linfocítico, os cães possuem tempos de sobrevida longos (Affolter *et al.*, 2009).

Os cães que se apresentam com o subestádio *b* da OMS têm um pior desenvolvimento da doença do que os cães com subestádio *a* (Jagielski *et al.*, 2002; Teske, van Heerde, *et al.*, 1994). Os cães com estágio I e II têm um melhor prognóstico em relação aos cães em estádios mais avançados, nomeadamente III, IV e V (Vail *et al.*, 2020).

A presença de anemia é um fator de prognóstico significativo, estando correlacionado com um tempo de sobrevida menor (Abbo & Lucroy, 2007; Davies *et al.*, 2018; Miller *et al.*, 2009). Contudo, o mecanismo que explica o seu valor prognóstico é desconhecido (Purzycka *et al.*, 2020).

A análise da capacidade de expressão génica pode vir a destacar-se no futuro no prognóstico e subcategorização dos linfomas em categorias prognósticas. O seu uso em medicina veterinária ainda não é amplo, sendo utilizada em medicina humana no prognóstico e decisão terapêutica (Frantz *et al.*, 2013; Thomas *et al.*, 2003; Vail *et al.*, 2020; Zamani-Ahmadmamdudi *et al.*, 2016).

Tabela 3 - Fatores de prognóstico (Adaptado de Vail *et al.*, 2020)

Fator de prognóstico	Associação
Histopatologia/subclassificação	Forte

Imunofenótipo	Forte
Estádio OMS	Em investigação
Subestádio OMS	Forte
Sexo	Em investigação
Análise da expressão genética	Forte
Localização anatómica	Forte
Anemia	Forte
Análise molecular de doença residual mínima	Em investigação
Tratamento prévio com corticosteroides	Forte
Linfadenopatia mediastínica cranial	Forte
Toxicidade hematológica induzida por quimioterapia	Em investigação
Localização geográfica	Em investigação

III. Estudo retrospectivo de 29 casos de linfoma canino

1. Material e métodos

O presente trabalho consiste em um estudo retrospectivo realizado com o objetivo de avaliar a influência do imunofenótipo na escolha do protocolo terapêutico e *outcome* clínico de cães com linfoma canino. Os 29 cães que integraram a amostra do estudo eram provenientes do ARHV, sendo seguidos neste hospital. O estudo abrangeu um período compreendido entre janeiro de 2018 e junho de 2023.

1.1. Critérios de inclusão

Foram incluídos todos os animais da espécie canina, com historial clínico registado, com diagnóstico citológico ou histopatológico de linfoma canino, com imunofenotipagem realizada e com, no mínimo, 4 sessões de quimioterapia realizadas.

1.2. Critérios de exclusão

Foram excluídos todos os animais que não cumpriam os requisitos descritos previamente.

1.3. Recolha de dados

Os dados utilizados para a realização deste estudo retrospectivo foram obtidos através da análise dos registos de consultas no ARHV, com recurso ao programa QVET®. Após a seleção de casos, a amostra final consistia em 29 cães.

Com recurso ao programa Microsoft® Office 365 Excel versão 2309, foram registados todos os dados numa base de dados.

Através das fichas clínicas, foram recolhidos dados como a idade, sexo, condição reprodutiva, raça, historial prévio de neoplasias, sinais clínicos à data da consulta e durante o processo da doença, exame físico, exames complementares de diagnóstico e resultados, exame complementar de diagnóstico de linfoma utilizado, protocolo de tratamento inicial, se ocorreu alteração do protocolo após imunofenotipagem, protocolo de tratamento de resgate, necessidade de hospitalização, efeitos secundários à quimioterapia, data da morte, causa da morte e dados relativos ao acompanhamento .

Através dos relatórios citológicos e histopatológicos, foram obtidos dados sobre o tipo de linfoma, grau, embora não fosse possível aferir o grau V porque não foi realizada uma punção de medula na totalidade dos cães, e imunofenótipo. Relativamente à classificação histológica, esta foi considerada sempre que tenha sido realizada histopatologia e referido no relatório a conclusão do patologista. Caso contrário, considerou-se que não existia informação.

1.4. Análise estatística

Para a caracterização da amostra, realizou-se uma análise estatística descritiva com recurso a uma empresa externa de estatística, a Especialistas Académicos e, posteriormente, com auxílio do programa IBM® SPSS® Statistics. Além da análise descritiva, também foi realizada com este programa a estatística inferencial e análise de sobrevivência.

Utilizou-se a estatística descritiva na organização e representação de dados da amostra, construindo com a informação obtida tabelas de frequência, gráficos e calculando a tendência central, ou seja, média, mediana e moda.

O objetivo principal deste estudo foi averiguar se o resultado da imunofenotipagem (classificação em linfoma T ou B) teve influência na escolha do protocolo quimioterápico. Os restantes objetivos foram uma análise geral do linfoma canino, como, por exemplo, o tempo de sobrevivência, ou seja, o período que decorreu desde o início da sintomatologia até à morte e a duração da primeira remissão, ou seja, o período que decorreu desde o início do tratamento até à data da primeira recidiva.

Neste estudo, o tempo foi definido como a quantidade de dias que os cães permaneceram nele.

Na análise de sobrevivência, a variável dependente é o tempo que decorreu até determinado evento, permitindo considerar todos os animais que entraram no estudo, mesmo que não acabem por atingir determinado evento. Isto pode acontecer devido a abandono do estudo, casos perdidos no seguimento clínico ou porque o estudo terminou. Caso umas das situações prévias ocorra, designa-se o animal como censurado, ou seja, censurado significa que o animal não desenvolveu o evento até ao final da data do estudo. Para a análise de sobrevivência, utilizou-se o método de Kaplan-Meier, avaliando também a influência de vários fatores de prognóstico no tempo de sobrevivência. Considerou-se estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

Na análise retrospectiva dos registos dos cães incluídos no estudo, observou-se que estes animais foram tratados consoante a situação socioeconómica dos tutores, e, em alguns casos, instituições de proteção dos animais.

2. Resultados

2.1. Caraterização da amostra

A amostra deste estudo é composta por 29 cães (n), todos com linfoma diagnosticado, imunofenotipagem realizada e, pelo menos, 4 sessões de quimioterapia efetuadas.

2.1.1. Idade

O intervalo de idades da amostra, à data do diagnóstico, esteve compreendido entre os 2 e 15 anos, com uma média de 8,59 anos e uma mediana de 10 anos. As idades foram agrupadas em duas faixas etárias, até 7 anos e mais de 7 anos, com a faixa etária mais observada a ser a acima de 7 anos (n=19, 65,5%). O Gráfico 1 e o Gráfico 2 apresentam a distribuição de idades e faixas etárias do grupo estudado, respetivamente.

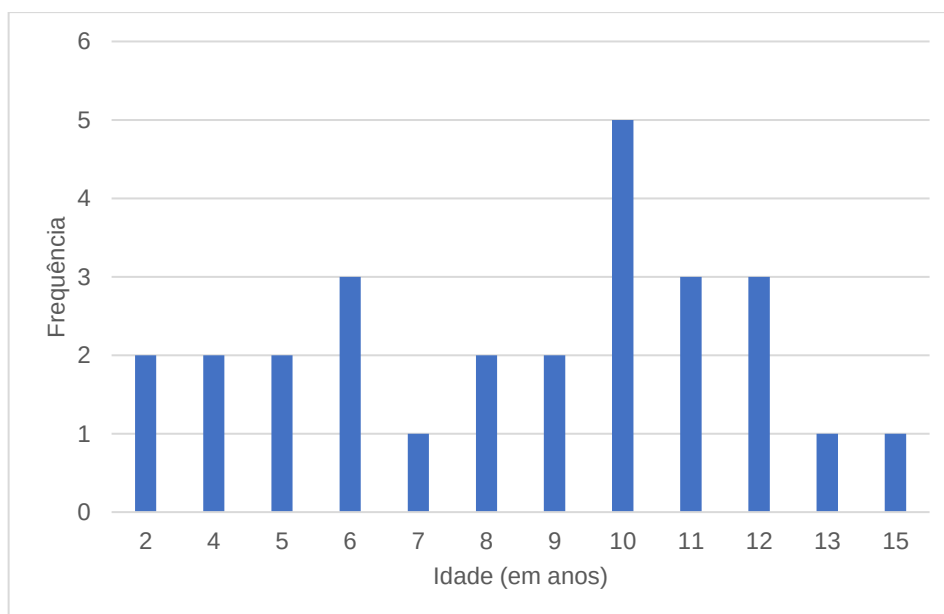


Gráfico 1 – Distribuição da amostra conforme a idade

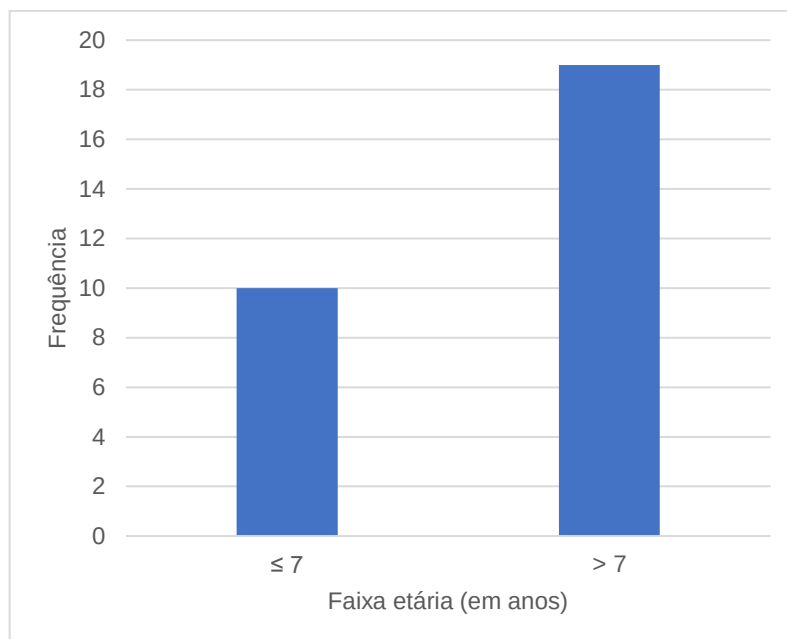


Gráfico 2 - Distribuição da amostra conforme a faixa etária

2.1.2. Raça

Relativamente à distribuição de raças da amostra, a maioria dos cães era de raça pura (n=22, 75,9%). As raças mais frequentes foram o Boxer (n=3, 13,6%) e o Labrador Retriever (n=4, 18,1%). As restantes raças podem ser observadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Distribuição da amostra de conforme a raça

Raça	Frequência	Percentagem (%)
Airedale Terrier	1	4,5
Boerboel	1	4,5
Border Collie	1	4,5
Boxer	3	13,6
Chihuahua	1	4,5
Cocker Spaniel Inglês	1	4,5
Golden Retriever	1	4,5
Labrador Retriever	4	18,1
Leão da Rodésia	1	4,5
Pug	1	4,5
Samoyedo	1	4,5
Serra da Estrela	1	4,5
Serra de Aires	1	4,5
Spitz Alemão	1	4,5
Springer Spaniel Inglês	1	4,5

Teckel de pelo liso	1	4,5
West Highland White Terrier	1	4,5
Total	22	100

2.1.3. Sintomas na consulta inicial

Na apresentação clínica inicial, os sintomas apresentados pelos cães foram o principal motivo da consulta em todos os cães (n=29, 100%). O sintoma mais comum à data da primeira consulta foi o aumento dos GL (n=13, 44,83%). Os restantes sintomas mais comuns eram a perda de peso (n=7, 24,1%), a hiporexia (n=6, 20,7%) e a diarreia (n=6, 20,7%). A distribuição dos sintomas está representada no Gráfico 3. Todos os cães apresentavam, pelo menos, um sintoma na primeira consulta (n=29; 100%).

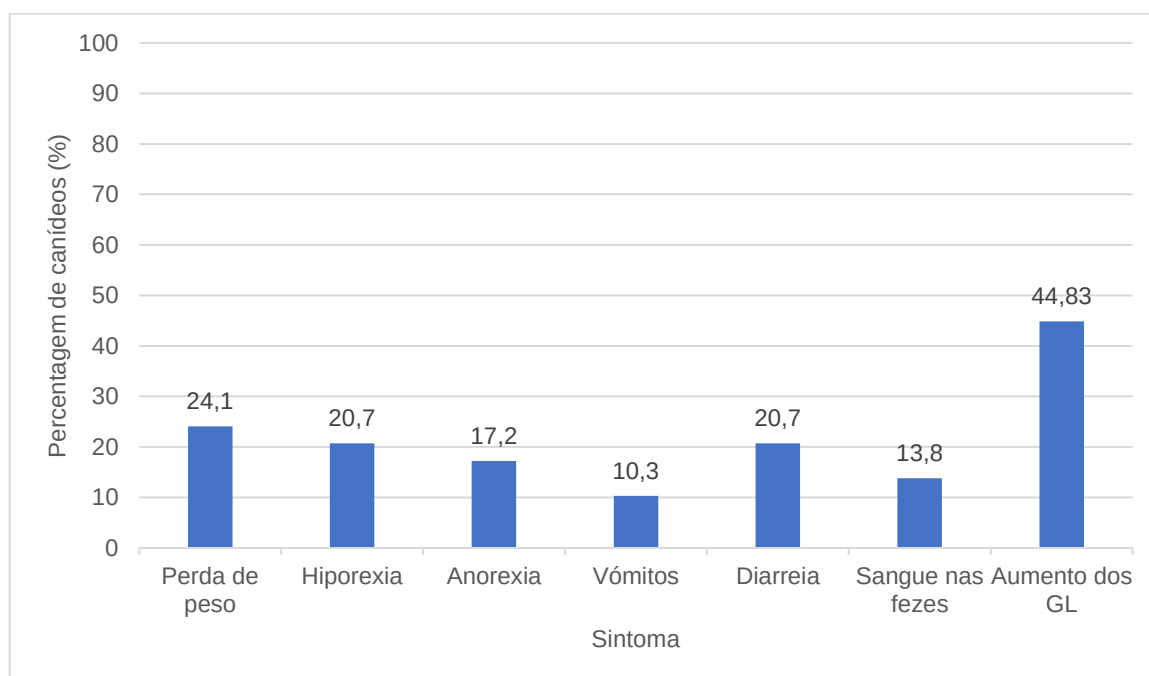


Gráfico 3 – Distribuição da amostra conforme os sintomas à consulta

Relativamente aos 4 animais com sangue nas fezes, apenas em um esta se encontrava classificada, sendo hematoquezia.

2.1.4. Sinais clínicos na consulta inicial

Na consulta inicial, todos os cães (n=29, 100%) apresentavam, pelo menos, um sinal clínico. A apresentação dos sinais clínicos foi dividida em grupos, consoante o tipo de sinal

clínico observado. A distribuição dos sinais clínicos aferidos pelo exame físico e análises clínicas está representada no Gráfico 4.

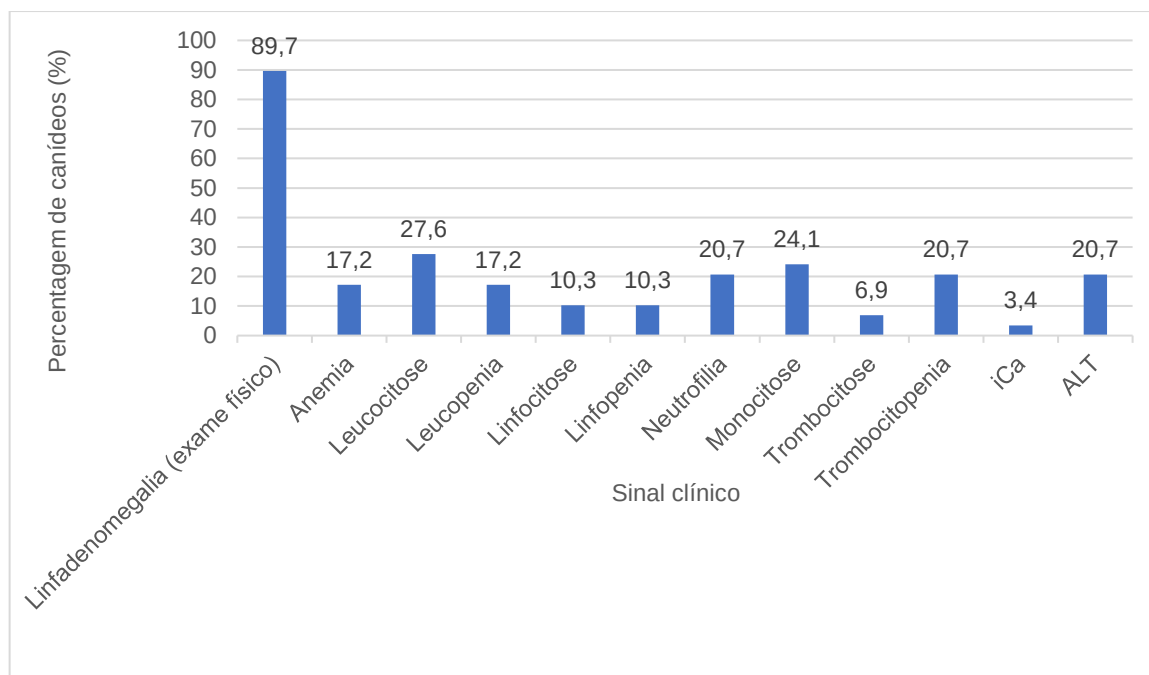


Gráfico 4 – Distribuição dos sinais clínicos ao exame físico e problemas nas análises laboratoriais da primeira consulta

É possível observar que o sinal clínico mais comum foi a linfadenomegalia ao exame físico (n=26, 89,7%). A linfadenomegalia era, na sua maioria, generalizada (n=20, 76,9%). Quando esta não era generalizada, ou seja, focal (n=6, 23,1%), era na sua maioria localizada na região submandibular (n=5, 83,3%). Apenas um cão (3,4%) apresentava o iCa aumentado, sendo o seu valor de 1,56 mmol/L [1,12-1,40 mmol/L]. No entanto, este valor não foi medido em 18 dos 29 cães (62,1%). A ALT, por sua vez, não foi medida ou o seu valor não constava na ficha clínica de 5 animais (17,2%).

2.1.5. Exame ecográfico

À ecografia, foi novamente realizada uma observação dos GL, com a maioria dos cães (n=28, 96,6%) a apresentar linfadenomegalia. Apenas um cão não tinha informações sobre este exame complementar. Apenas se observou em 17 casos um claro aumento de GL específicos. Os GL de maiores dimensões à ecografia foram os ilíacos mediais (n=7, 41,2%), os inguinais (n=3, 17,6%) e os mesentéricos (n=3, 17,6%). Os restantes GL observados com

um aumento claro de tamanho foram o axilar (n=1, 5,9%), o cólico (n=1, 5,9%), o porta (n=1, 5,9%) e o pré-escapular (n=1, 5,9%).

Também se avaliou ecograficamente o fígado e o baço. Relativamente ao baço, a maioria dos cães (n=16, 55,2%) apresentava esplenomegalia e, apesar de 9 cães (31%) com suspeita de infiltração esplênica, em apenas 3 deles (10,3%) esta suspeita foi confirmada. Relativamente ao fígado, uma minoria apresentava hepatomegalia (n=10, 34,5%). Apenas se suspeitou de 1 caso (3,4%) de infiltração hepática, no entanto, 2 cães apresentavam infiltração hepática confirmada (6,9%). É possível observar a distribuição da infiltração esplênica e hepática no Gráfico 5.

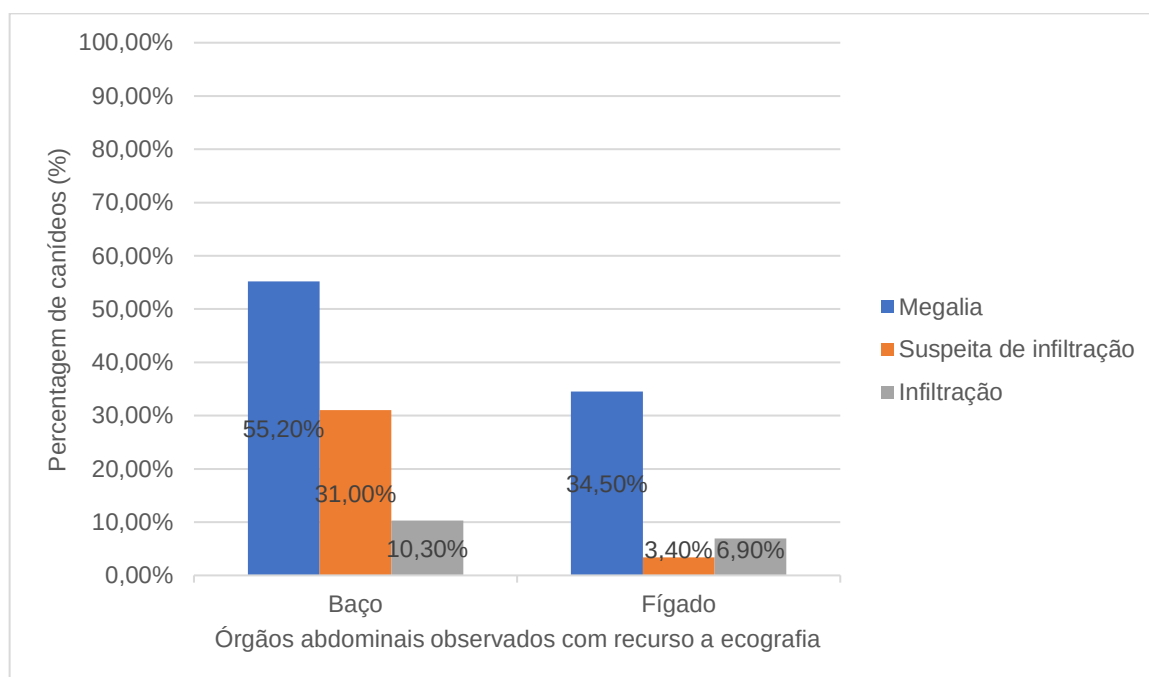


Gráfico 5 – Distribuição da amostra consoante o exame ecográfico do baço e fígado

2.1.6. Tipo de linfoma

Dos 29 casos de linfoma canino analisados, a grande maioria era do tipo multicêntrico (n=27, 93,1%), com os restantes a serem alimentar (n=1, 3,4%) e mediastínico (n=1, 3,4%). É possível observar a distribuição do tipo de linfomas na Figura 3.

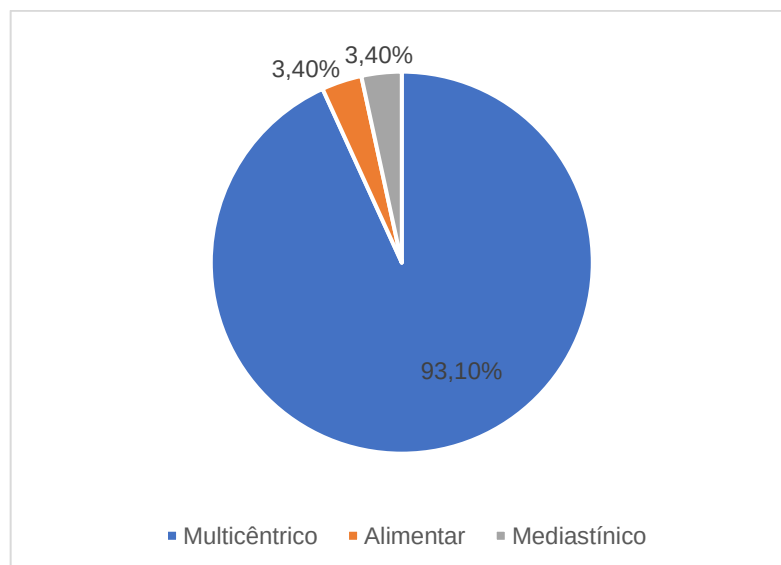


Figura 3 - Tipo de linfoma

2.2. Diagnóstico

Nos 29 casos estudados, a PAAF de um GL (n=24, 82,8%) foi o método de diagnóstico utilizado na maioria dos casos, tendo sido utilizada a histopatologia nos restantes casos (n=5, 17,2%).

2.2.1. Tamanho celular, grau e imunofenótipo

Relativamente ao tamanho celular, a maioria dos linfomas era de células grandes (n=20, 69%), com apenas 7 de células médias (24,1%). As fichas clínicas e relatórios citológicos ou histopatológicos de 2 casos clínicos (6,9%) não possuíam informações relativamente ao tamanho celular. Sobre o grau do linfoma, a maioria era de grau alto (n=22, 75,9%). A distribuição do tamanho celular e do grau está representada no Gráfico 6 e Gráfico 7.

Quanto à imunofenotipagem, a maioria dos linfomas era de imunofenótipo B (n=24, 82,8%), sendo os restantes (n=5, 17,2%) de imunofenótipo T.

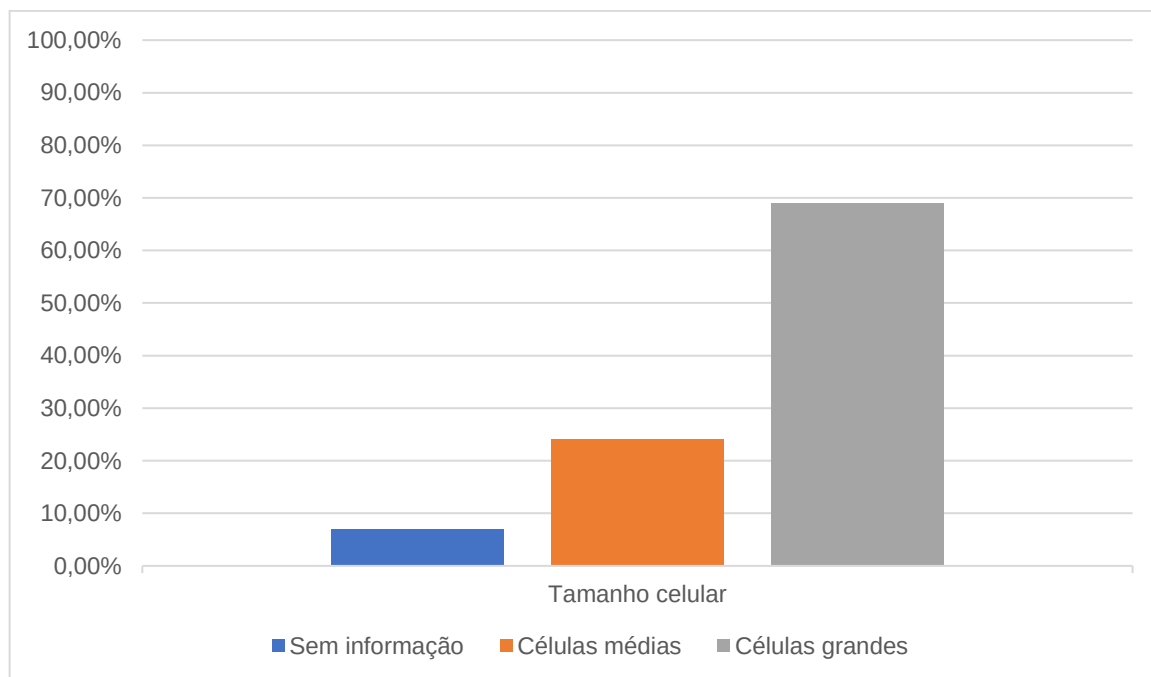


Gráfico 6 - Distribuição da amostra conforme o tamanho celular do linfoma

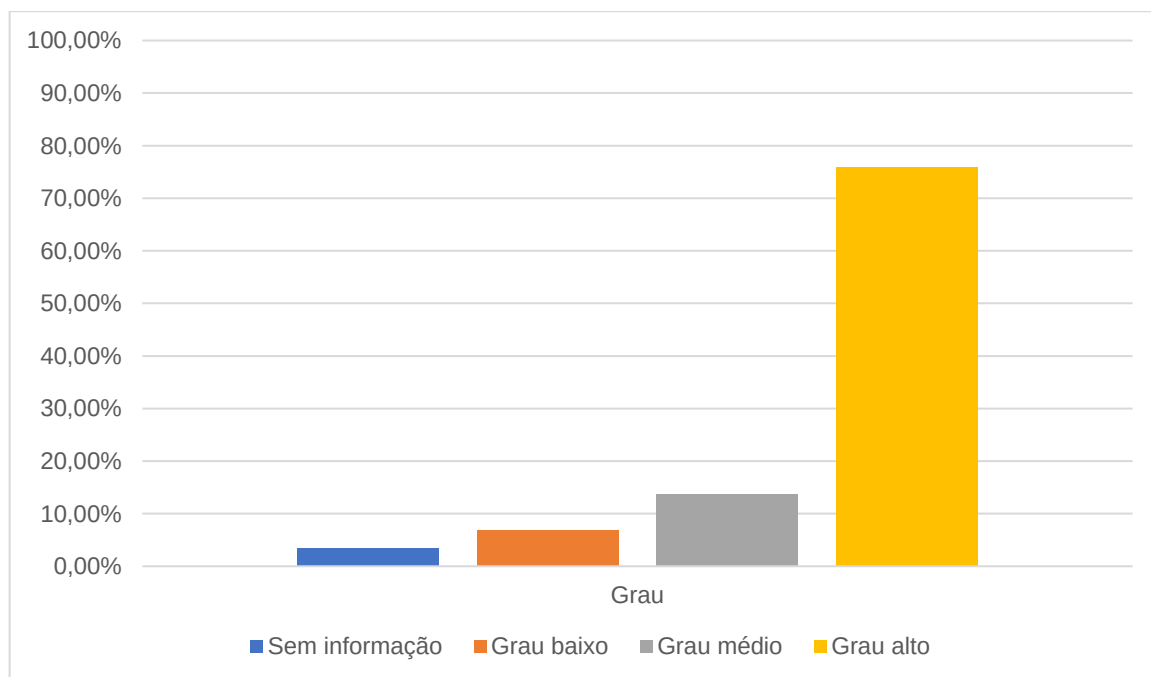


Gráfico 7 - Distribuição da amostra conforme o grau do linfoma

2.2.2. Estadiamento

Realizou-se o estadiamento dos cães em estudo, de acordo com o sistema de estadiamento clínico da OMS. A maioria dos cães apresentava-se, em consulta, no estágio III (n=24, 82,8%). A distribuição dos estágios encontra-se representada no Gráfico 8.

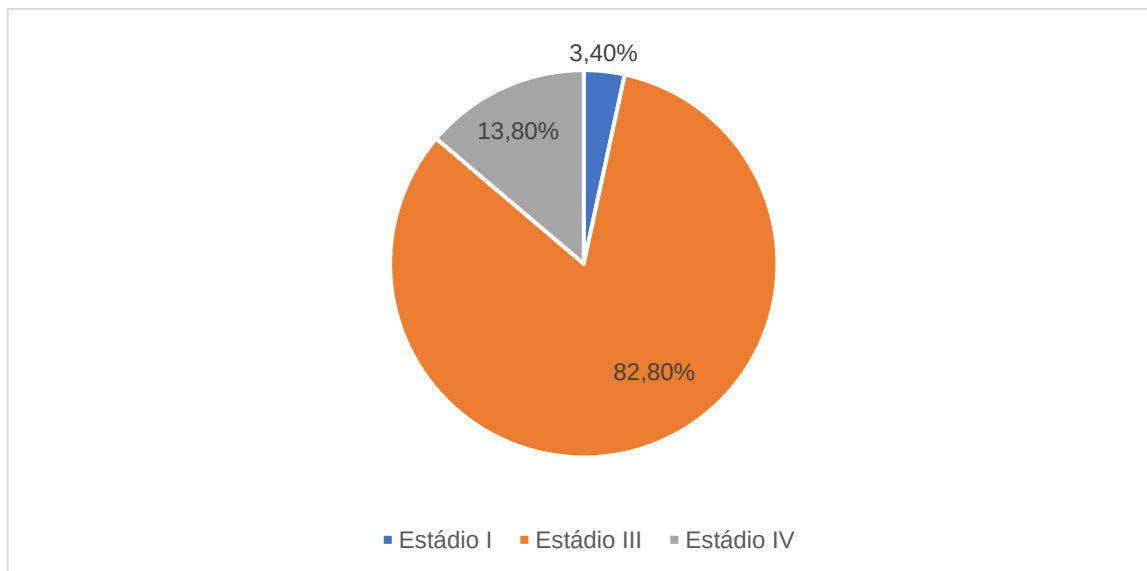


Gráfico 8 - Distribuição da amostra conforme o estágio OMS

Também se atribuiu um subestádio (*a* ou *b*) a estes cães, com o mais comum a ser o *b* (n=16, 55,2%), ou seja, cães que apresentavam sinais clínicos sistêmicos, com os restantes 13 cães (44,8%) a não apresentarem sinais sistêmicos.

2.3. Tratamento quimioterápico

2.3.1. Indução

Dos 29 cães no estudo, 15 (51,7%) realizaram prednisolona antes de iniciar o protocolo quimioterápico.

Relativamente ao protocolo, o CHOP foi o mais utilizado como primeira abordagem (n=27, 93,1%). Os restantes protocolos utilizados como primeira abordagem foram o LOP (n=1, 3,4%) e um protocolo constituído por lomustina, prednisona ou prednisolona (LP) (n=1, 3,4%).

Apenas 8 cães (27,6%) começaram um protocolo quimioterápico após a realização da imunofenotipagem, com os restantes 21 (72,3%) a iniciarem um protocolo antes de saberem o imunofenótipo do linfoma. Destes 21 cães, apenas 3 (14,3%) sofreram uma alteração do protocolo. Destes 3, 2 (66,6%) eram de imunofenótipo T.

Após a realização da imunofenotipagem de todos os cães, o CHOP continuou a ser o protocolo mais utilizado (n=25, 86,2%), seguido de um protocolo constituído por lomustina, vincristina, prednisona ou prednisolona (LVP) (n=2, 6,9%), LP (n=1, 3,4%) e um protocolo constituído por lomustina, ciclofosfamida, prednisona ou prednisolona (LCP) (n=1, 3,4%). A distribuição dos protocolos, agrupados em protocolos que utilizam doxorrubicina ou lomustina, encontra-se representada na Tabela 5.

Tabela 5 - Distribuição da amostra conforme a base do protocolo quimioterápico

Base do protocolo	Frequência	Percentagem (%)
Doxorrubicina	25	86,2
Lomustina	4	13,8
Total	29	100

2.3.2. Reindução e resgate

A maioria dos cães (n=19, 65,5%) não realizou um protocolo de resgate. Daqueles que o realizaram (n=10, 34,5%), a maioria foi submetida a lomustina e prednisolona (n=9, 90%), com apenas um paciente a ser submetido ao protocolo CHOP (n=1, 10%).

2.3.3. Efeitos secundários da quimioterapia

Quanto aos efeitos secundários da quimioterapia, a maioria dos cães (n=19, 65,5%) não demonstraram quaisquer sinais de efeitos adversos. Relativamente aos que apresentaram sinais (n=8, 27,6%), os mais comuns foram diarreia (n=4, 50%), anorexia (n=4, 50%), prostração severa (n=3, 66,6%) e emese (n=3, 66,6%). Não foi possível avaliar a presença de efeitos secundários em 2 cães (6,9%). A distribuição dos efeitos secundários à quimioterapia encontra-se representada na Tabela 6.

Tabela 6 - Distribuição da amostra conforme os efeitos secundários à quimioterapia

Efeito secundário	Frequência	Percentagem (%)
Sem efeitos secundários	19	65,5
Impossibilidade de avaliar	2	6,9
Anorexia	4	13,8
Pústulas	1	3,4
Diarreia	4	13,8

Emese	3	10,3
Febre	1	3,4
Hiporexia	1	3,4
Neutropenia (grave)	1	3,4
Perda de peso (grave)	1	3,4
Prostração (grave)	3	10,3

2.3.4. Hospitalização

Uma ligeira maioria dos cães (n=15, 51,7%) foi hospitalizada no decorrer do processo de tratamento oncológico.

2.3.5. Duração da primeira remissão

Relativamente aos cães que entraram em remissão, uma minoria entrou em remissão total (n=11, 37,9%). Esta remissão total foi definida como o período de tempo no qual um cão não apresentou progressão de doença e sintomas ou sinais clínicos associados ao linfoma, podendo também ser denominada de “intervalo livre de doença”. Dos que entraram em remissão, esta teve uma duração entre 97 e 259 dias, com uma média de 142 dias. Estes dados encontram-se representados na Tabela 7.

Tabela 7 - Média e mediana da amostra que atingiu uma primeira remissão total

Média				Mediana			
		Intervalo de confiança 95%				Intervalo de confiança 95%	
Estimado	Desvio padrão	Limite inferior	Limite superior	Estimado	Desvio padrão	Limite inferior	Limite superior
142,000	19,287	104,198	179,802	122,000	36,882	49,711	194,289

2.3.6. Tempo de sobrevida

Realizou-se o método e curva do tempo de sobrevida de Kaplan-Meier, de forma a observar a evolução de um cão, desde o diagnóstico de linfoma ou sintomatologia muito sugestiva, até à ocorrência do evento em estudo. O tempo médio de sobrevida nos cães em estudo foi de 261 dias, com um intervalo de confiança de 95% com limite inferior de 141 dias e um limite superior de 381 dias. O tempo mediano de sobrevida foi 167 dias, com limite inferior de 113 dias e limite superior de 221 dias. A curva de Kaplan-Meier do tempo de sobrevida encontra-se representada no Gráfico 9.

Relativamente ao número de cães que morreram, apenas 7 (24,1%) dos cães estudados não morreram no período em estudo, enquanto 20 (69%) morreram e 2 (6,9%) pararam de ser seguidos. Dos 20 cães que morreram, 17 (85%) foram submetidos a eutanásia, 2 (10%) morreram de causas não relacionadas com linfoma e 1 (5%) morreu de causa desconhecida.

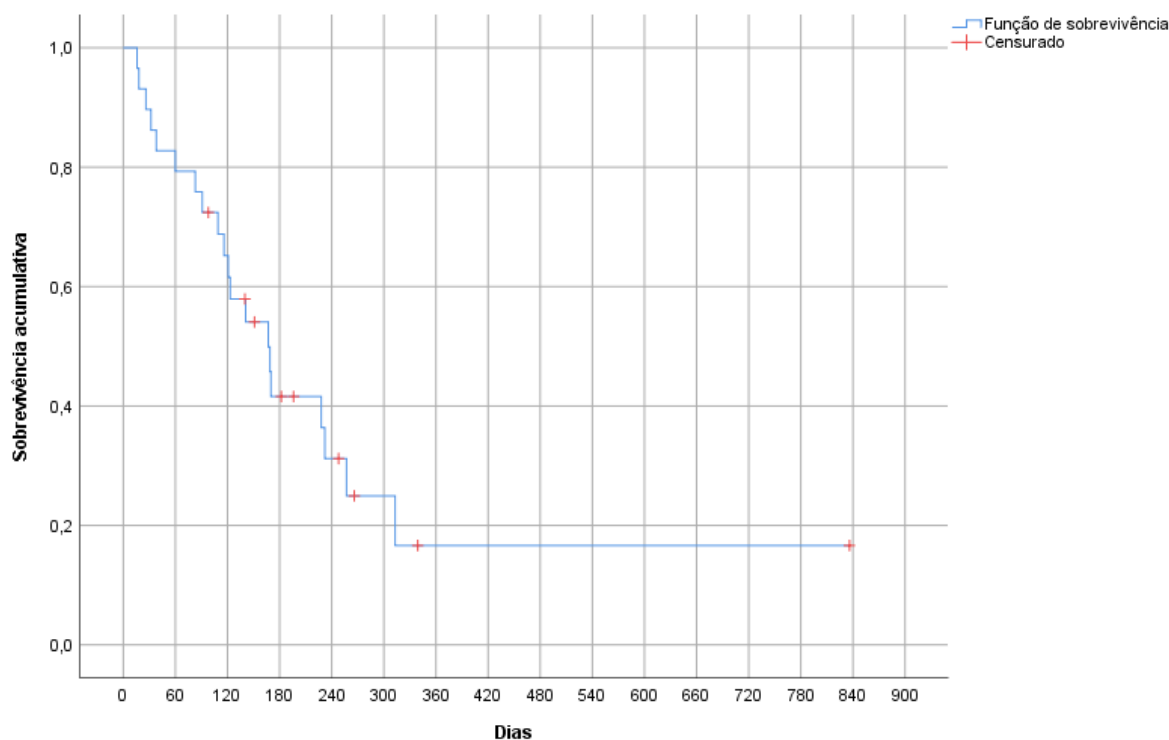


Gráfico 9 - Curva de Kaplan-Meier do tempo de sobrevida da amostra total de cães com linfoma

2.4. Análise do tempo de sobrevida

2.4.1. Imunofenótipo

Pretendeu-se verificar a influência do imunofenótipo no tempo de sobrevida.

Dos 24 cães de imunofenótipo B, ocorreu o evento em 16 (66,6%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 283,160 dias e mediano de 169 dias.

Dos 5 cães de imunofenótipo T, ocorreu o evento em 4 (80%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 140,400 dias e mediano de 121 dias (Gráfico 10).

Observando estes resultados estatísticos, é possível observar que, de forma geral, os cães com linfoma de imunofenótipo B apresentaram, em média, um tempo de sobrevida superior aos de imunofenótipo T.

No entanto, não se verificou uma diferença estatisticamente significativa, sendo p superior a 5% no teste Log Rank ($p=0,353$), Breslow ($p=0,505$) e Tarone-Ware ($p=0,437$).

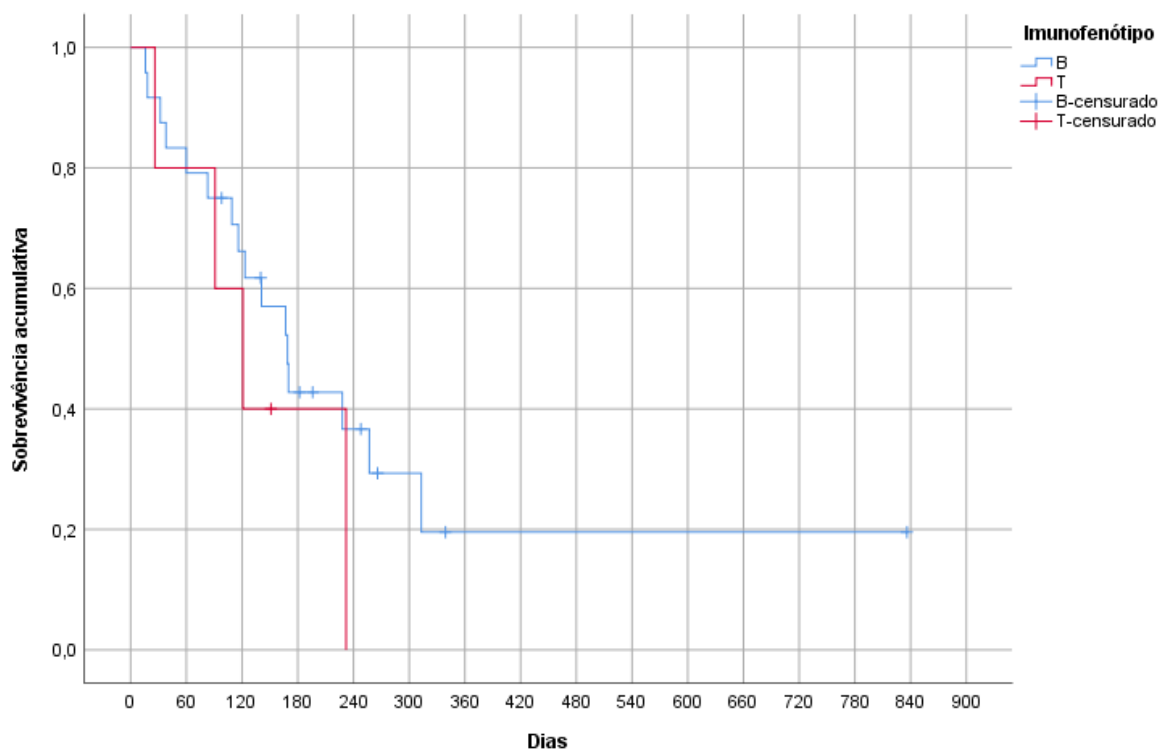


Gráfico 10 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães com imunofenótipo B e T

2.4.2. Subestádio

Pretendeu-se verificar a influência do subestádio OMS ao diagnóstico no tempo de sobrevida.

Dos 13 cães de subestádio *a*, ocorreu o evento em 8 (61,5%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 204,495 dias e mediano de 170 dias. Dos 5 cães de subestádio *b*, ocorreu o evento em 12 (75%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 211,082 dias e mediano de 121 dias (Gráfico 11).

Observando estes resultados estatísticos, é possível observar que, de forma geral, os cães de subestádio *a* e *b* apresentaram um tempo de sobrevida médio similar.

Não se verificou, portanto, uma diferença estatisticamente significativa, sendo p superior a 5% no teste Log Rank ($p=0,339$), Breslow ($p=0,273$) e Tarone-Ware ($p=0,310$).

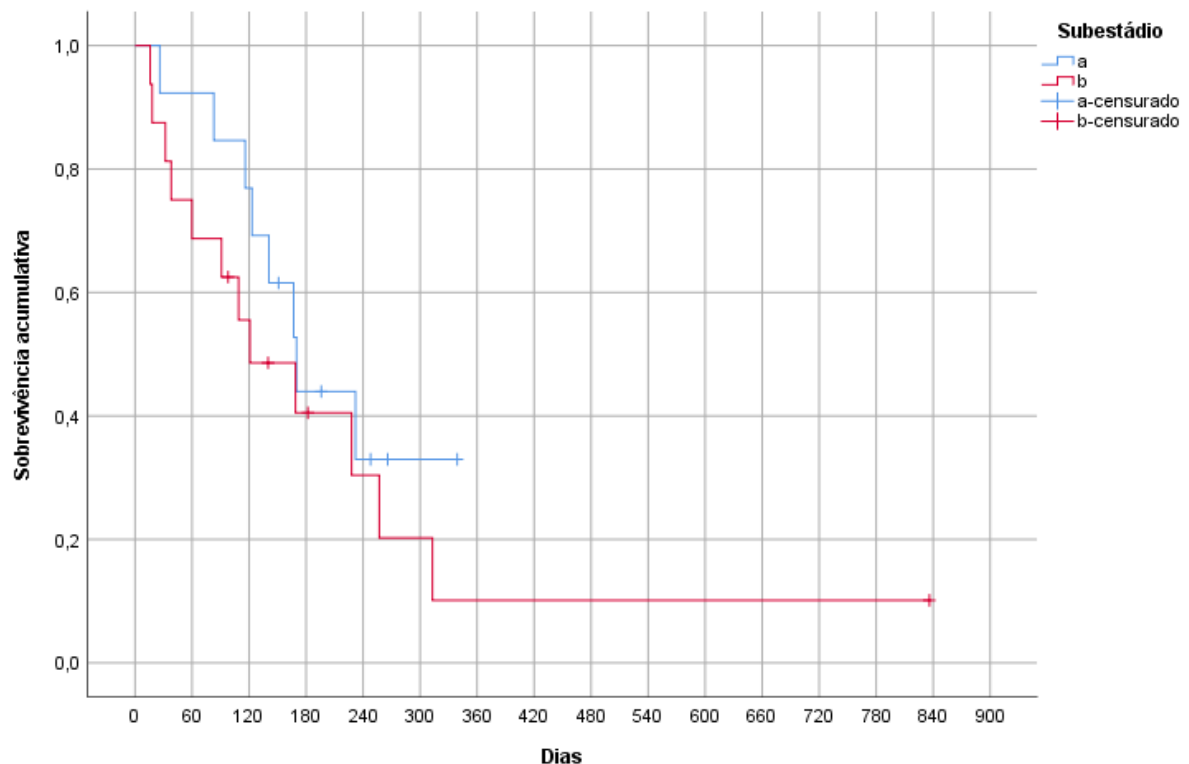


Gráfico 11 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães com subestádio *a* e *b*

2.4.3. Prednisolona

Pretendeu verificar-se a influência da utilização de prednisolona previamente ao início da quimioterapia no tempo de sobrevida.

Dos 15 cães que tomaram prednisolona previamente, ocorreu o evento em 10 (71,4%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 141,378 dias e mediano de 167 dias. Dos 14 cães que não tomaram prednisolona previamente, ocorreu o evento em 10 (66,6%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 292,683 dias e mediano de 228 dias (Gráfico 12).

Observando estes resultados estatísticos, é possível observar que, de forma geral, os cães de que tomaram prednisolona previamente à quimioterapia apresentaram, em média, um tempo de sobrevida inferior aos que não tomaram previamente.

No entanto, não se verificou uma diferença estatisticamente significativa, sendo p superior a 5% no teste Log Rank ($p=0,380$), Breslow ($p=0,252$) e Tarone-Ware ($p=0,297$).

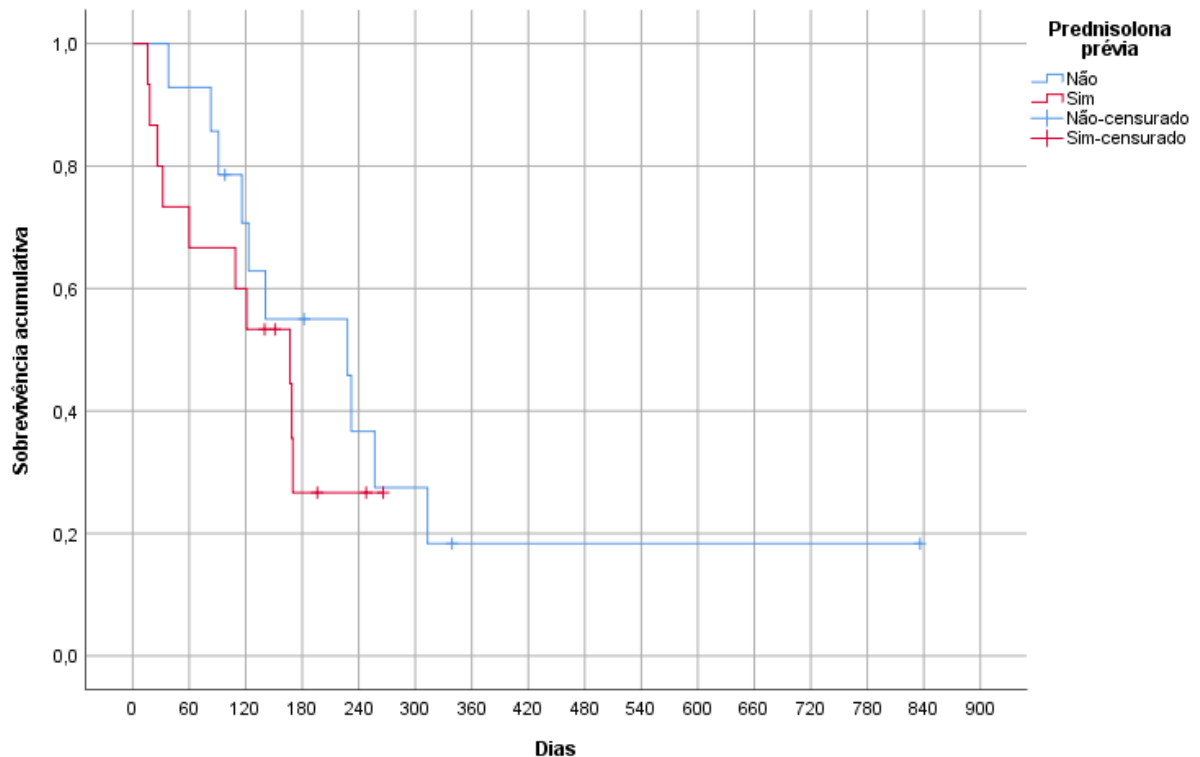


Gráfico 12 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães que tomaram prednisolona antes e após a quimioterapia

2.4.4. Anemia

Pretendeu-se verificar a influência da anemia ao diagnóstico no tempo de sobrevida.

Dos 5 cães que se apresentaram com anemia ao diagnóstico, ocorreu o evento em 4 (80%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 83,200 dias e mediano de 91 dias. Dos 16 cães que não se apresentaram com anemia ao diagnóstico, ocorreu o evento em 8 (66,6%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 287,741 dias e mediano de 170 dias (Gráfico 13).

Observando estes resultados estatísticos, é possível observar que, quando comparados os grupos, os que se apresentaram com anemia ao diagnóstico tiveram um tempo de sobrevida médio significativamente inferior, com uma diferença de 204,541 dias.

Verificou uma diferença estatisticamente significativa, sendo p inferior a 5% no teste Log Rank ($p=0,025$), Breslow ($p=0,033$) e Tarone-Ware ($p=0,029$).

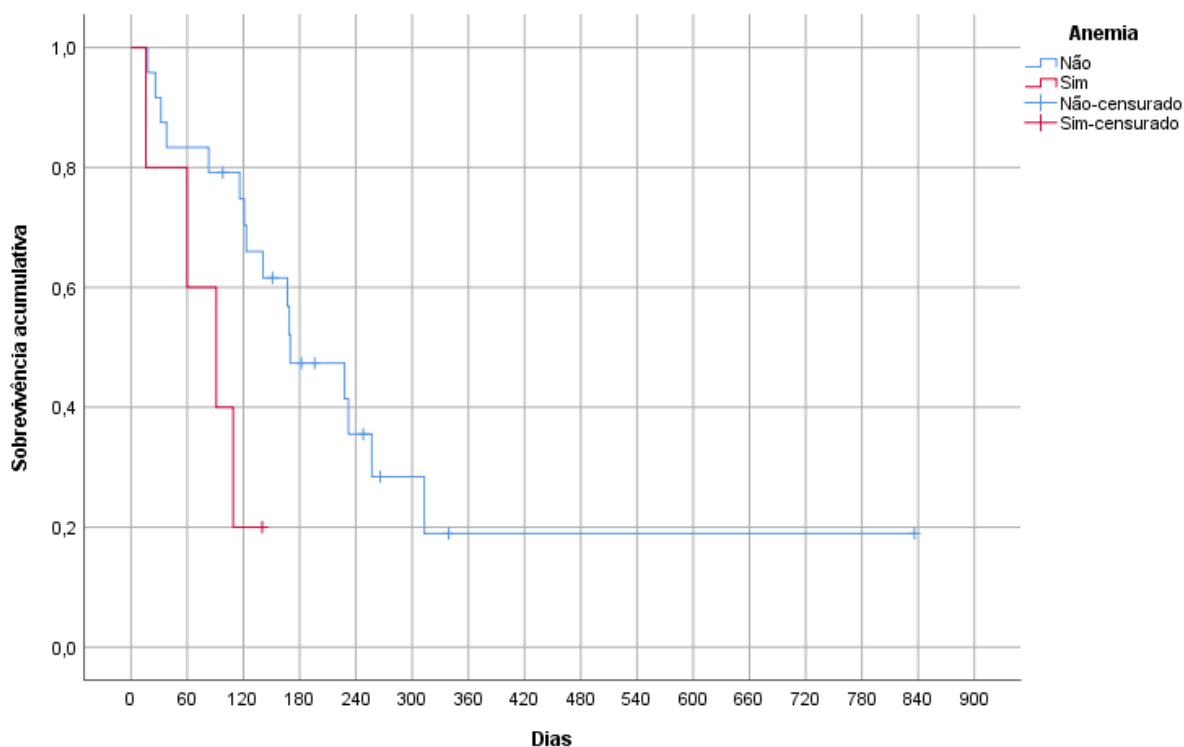


Gráfico 13 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães com e sem anemia ao diagnóstico

2.4.5. Trombocitopenia

Pretendeu-se verificar a influência da trombocitopenia ao diagnóstico no tempo de sobrevida.

Dos 6 cães que se apresentaram com trombocitopenia ao diagnóstico, ocorreu o evento em 5 (83,3%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 106 dias e mediano de 109 dias. Dos 23 cães que se apresentaram sem trombocitopenia ao diagnóstico, ocorreu o evento em 15 (65,2%). Estes cães apresentaram um tempo de sobrevida médio de 289,462 dias e mediano de 170 dias (Gráfico 14).

Observando estes resultados estatísticos, é possível observar que, quando comparados os grupos, os que se apresentaram com trombocitopenia ao diagnóstico tiveram um tempo de sobrevida médio ligeiramente inferior.

No entanto, não se verificou uma diferença estatisticamente significativa, sendo p superior a 5% no teste Log Rank ($p=0,089$), Breslow ($p=0,136$) e Tarone-Ware ($p=0,106$).

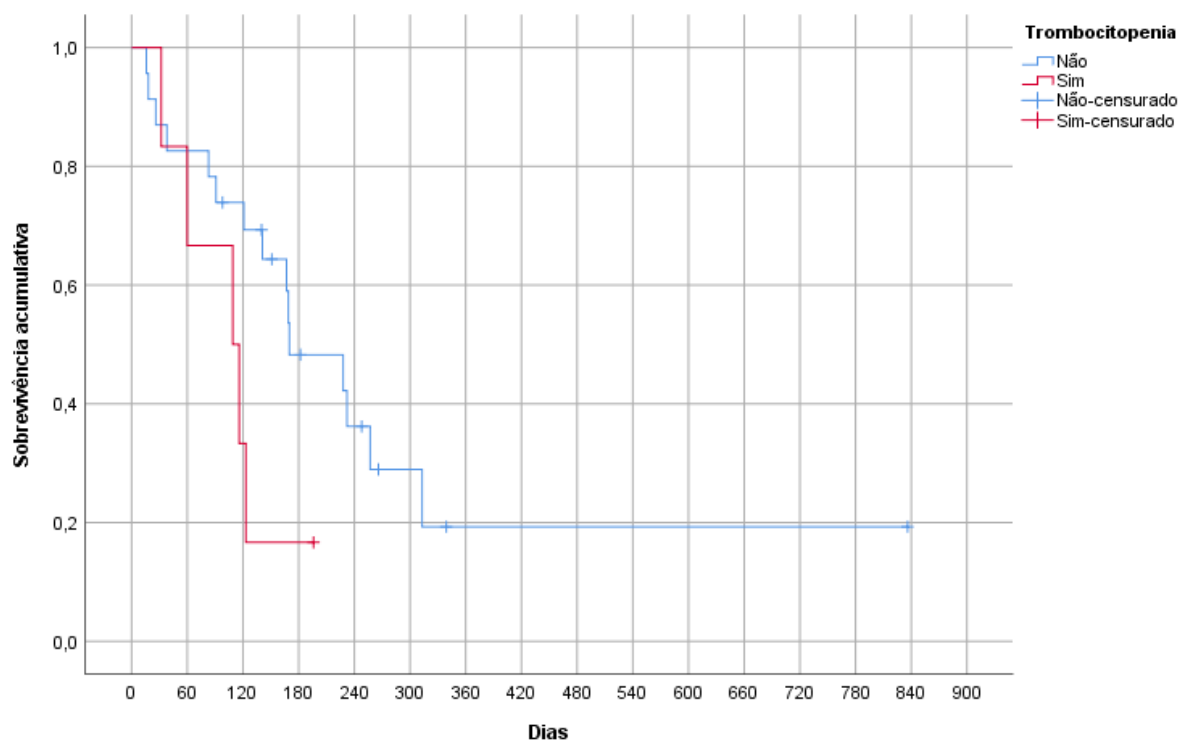


Gráfico 14 - Curva de Kaplan-Meier comparando o tempo de sobrevida em cães com e sem trombocitopenia ao diagnóstico

2.5. Análise correlacional

De forma a responder aos objetivos da tese e às hipóteses inicialmente formuladas, realizou-se uma análise correlacional. Para tal, recorreu-se ao teste correlacional de Pearson, com um nível de significância (p) de 5%.

2.5.1. Alteração do protocolo

Pretendeu-se verificar se uma correlação entre a alteração do protocolo quimioterápico, caso este tenha sido iniciado antes de se conhecer o imunofenótipo ($n=21$), e o número de cães que atingiu a remissão total. No entanto, não se verificou uma correlação estatisticamente significativa, sendo p superior a 5% ($p=0,258$).

2.5.2. Imunofenótipo

Pretendeu-se verificar uma correlação entre o imunofenótipo e o subestádio, o sexo, o estado reprodutivo, agrupado em machos castrados ($n=15$) e fêmeas esterilizadas ($n=14$),

e a raça (pura) (Tabela 8). No entanto, não se verificou uma correlação estatisticamente significativa, sendo p superior a 5% em todas as hipóteses.

Tabela 8 - Relação entre o imunofenótipo e várias hipóteses

	Imunofenótipo (p)
Sexo	0,580
Machos castrados	0,317
Fêmeas esterilizadas	0,930
Subestádio	0,471
Raça	0,257

2.5.3. Anemia

Pretendeu-se verificar se uma correlação entre anemia ao diagnóstico e o intervalo livre de doença e tempo de sobrevida. No entanto, não se verificou uma correlação estatisticamente significativa, sendo p superior a 5% em ambos ($p=1,00$ e $p=0,166$, respetivamente).

2.5.4. Prednisolona

Pretendeu-se verificar se uma correlação entre a utilização de prednisolona previamente à quimioterapia e o tempo de sobrevida. No entanto, não se verificou uma correlação estatisticamente significativa, sendo p superior a 5% ($p=0,104$).

2.5.5. Cálcio ionizado

Pretendeu-se verificar se uma correlação entre o iCa aumentado e várias variáveis, nomeadamente, o imunofenótipo, o ILD e o tempo de sobrevida. Nesta análise, verificou-se uma correlação estatisticamente significativa entre o cálcio ionizado aumentado e o imunofenótipo, sendo p inferior a 5% ($p=0,026$). Nas restantes correlações, nomeadamente, ILD e tempo de sobrevida, p foi superior a 5% ($p=0,265$ e $p=0,748$, respetivamente).

3. Discussão

O objetivo principal deste estudo retrospectivo foi a avaliação da influência do imunofenótipo na escolha do protocolo quimioterápico e o desenvolvimento clínico resultante.

Um objetivo secundário seria averiguar se era possível alcançar um melhor prognóstico ao alterar o protocolo. Apesar do protocolo CHOP ser o *standard* atual, com tempos de sobrevida superiores a outros protocolos, este continua a alcançar tempos de sobrevida inferiores em linfomas de tipo T (Beaver *et al.*, 2010; Marconato *et al.*, 2011; Rebhun *et al.*, 2011). Alguns clínicos sugerem a utilização de protocolos com base em agentes alquilantes para os linfomas de tipo T, o que se verificou em alguns casos no ARHV (Vail *et al.*, 2020).

Neste estudo, a média de idades ao diagnóstico foi aproximadamente 8,5 anos, ou seja, uma população, na sua maioria, adulta a sénior (Gráfico 1 e Gráfico 2). Estes dados estão de acordo com o que se encontra descrito na literatura, onde os cães de meia idade a idosos, entre os 6 e 9 anos, são os cães com maior predisposição para linfoma (Boerkamp *et al.*, 2014; Ernst *et al.*, 2016; Zandvliet, 2016).

Relativamente à raça, a maioria era de raça pura, com as raças mais frequentemente acometidas a serem o Labrador e o Boxer (Tabela 4). Ambas as raças têm predisposição para linfoma (Villamil *et al.*, 2009). No entanto, apesar de vários casos clínicos onde a mesma raça teve linfoma, não é possível determinar qualquer conclusão neste estudo sobre a predisposição de raças específicas para linfoma. Só com um número mais elevado de casos seria possível tirar conclusões. Outro fator que pode desviar os resultados da representação real é a opção, por parte dos tutores, de preferirem cães de raça, o que também pode justificar o número elevado de cães de raça pura.

À consulta inicial, a sintomatologia apresentada pelos cães foi principal razão para consulta veterinária, com o motivo mais comum a ser um aumento dos GL. Os restantes sintomas mais comuns foram a perda de peso, associada a hiporexia ou anorexia, e diarreia. Apesar de serem sintomas inespecíficos, estes encontram-se descritos em casos de linfoma (Zandvliet, 2016). Um estudo de Sánchez *et al.* (2019) identificou o aumento dos GL como o principal motivo para uma consulta veterinária, contabilizando 64% dos casos, valor superior ao obtido. O mesmo estudo refere a perda de peso como a segunda causa principal em 18,5% dos casos, um valor semelhante ao obtido no nosso estudo.

Relativamente aos sinais clínicos na primeira consulta, todos os cães apresentavam, no mínimo, um sinal clínico, sendo o mais comum a linfadenomegalia, estando presente na grande maioria dos nossos cães. Esta linfadenomegalia era, na sua maioria, generalizada, afetando com esta forma perto de 80% dos cães com linfadenomegalia. Gavazza *et al.* (2009) reportou no seu estudo que, em 114 casos de linfoma multicêntrico, 96,5% apresentaram linfadenomegalia generalizada na consulta inicial. Apesar de uma pequena diferença nos valores obtidos, o número limitado da amostra e o fato de nem todas as consultas serem de primeira opinião justificam este valor inferior. A percentagem de cães afetada por outros sinais

clínicos foi mais reduzida, com o segundo e terceiro sinais mais comuns a serem laboratoriais, nomeadamente a leucocitose e a monocitose, respetivamente (Gráfico 4). Relativamente à leucocitose, a percentagem obtida no presente estudo é muito semelhante à obtida por Gavazza *et al.* (2009), no qual cerca de 31,7% dos cães apresentava leucocitose.

Em relação ao cálcio ionizado, um fator de prognóstico forte de linfoma de imunofenótipo T, este não foi medido na maioria dos cães (Zandvliet, 2016). Dos que foram sujeitos a uma medição, apenas 1 apresentava o cálcio ionizado acima dos valores de referência. O imunofenótipo deste cão era T. De acordo com Vail *et al.* (2020), a hipercalcémia está frequentemente associada aos linfomas de imunofenótipo T. Contudo, com um número pequeno de casos onde o cálcio ionizado foi medido, numa amostra total por si já reduzida, não foi possível realizar uma análise estatística correlacional.

No exame ecográfico, a linfadenomegalia foi, novamente, o achado mais comum. Foi possível diagnosticar os casos de linfadenomegalia subclínica, aumentando assim a frequência de casos com linfadenomegalia, para a quase totalidade dos nossos cães. Este valor encontra-se muito próximo de um estudo de Nyman *et al.* (2005), onde, nos cães com linfoma, foi possível observar ecograficamente linfadenopatia em 99% dos casos, numa amostra de 93 cães.

Dos 28 casos, 17 apresentavam-se com GL específicos maiores, em relação a outros (que também já estavam acima do normal). Os GL ilíacos mediais foram os que tinham um aumento de dimensão superior aos restantes, com mais de 40% dos casos de linfadenomegalia mais específica a apresentar aumento destes linfonodos. No entanto, esta percentagem de envolvimento pode não ter qualquer significado clínico, tendo em conta que não existe um consenso relativamente às medidas dos GL ilíacos mediais nos cães, e porque deve-se ter em conta as características apresentadas na imagem ecográfica, além do tamanho, como a ecotextura, forma e rácio dos eixos (Citi *et al.*, 2020). Além disto, não foi possível encontrar um estudo que descreva as percentagens de GL com uma linfadenopatia superior aos restantes.

Além da linfadenomegalia, observou-se a presença de hepatomegalia e esplenomegalia, com ambas a serem observadas. Relativamente ao fígado, apenas aproximadamente um terço dos cães que realizaram ecografia apresentavam hepatomegalia. Com base nas imagens obtidas, apenas se suspeitou de 1 caso com infiltração hepática, mas, após citologia, foram confirmados 2 casos com infiltração hepática. Em um estudo de Sumping *et al.* (2022), com uma amostra de 57 cães com envolvimento hepático, a hepatomegalia encontrava-se presente em 43,8% dos casos, um valor próximo daquele por nós obtido. Nenhum destes casos apresentava lesões "em alvo" no parênquima hepático.

Determinou-se ainda a sensibilidade e especificidade da ecografia no diagnóstico de envolvimento hepático, sendo os valores de, respetivamente, 16% e 91%. Estes valores indicam que a ecografia é boa a identificar corretamente os casos negativos. Com estes resultados em conta, Sumping *et al.* (2022) recomenda que se devam continuar a obter amostras hepáticas sempre que possível, especialmente na presença de alterações ecográficas.

Sobre o baço, um pouco mais de metade dos cães em estudo apresentava esplenomegalia. Menos de um terço destes casos apresentava suspeita de infiltração, mas em apenas em menor número se confirmou infiltração. No mesmo estudo Sumping *et al.* (2022), em relação ao baço, 71 cães tinham envolvimento esplénico. Destes, 56,3% dos casos apresentava esplenomegalia, um valor muito semelhante ao obtido no presente estudo. A esplenomegalia foi ainda associada a infiltração esplénica. Além disso, nenhum dos cães desse estudo com envolvimento esplénico confirmado apresentava um baço normal à ecografia. Curiosamente, encontrou-se uma relação entre um parênquima esplénico em “favo de mel” e um linfoma de imunofenótipo B, em 79,5% dos casos. É importante realçar que não foi realizada citologia de forma regular ao fígado e ao baço, mesmo em casos suspeitos de infiltração, sendo provável a existência de um enviesamento dos resultados obtidos.

A forma de linfoma observada com mais frequência foi a forma multicêntrica, representando aproximadamente mais de 90% dos casos. As restantes formas observadas foram a alimentar e a mediastínica. Não constou qualquer caso de linfoma cutâneo na amostra estudada. Os resultados obtidos são compatíveis com a maioria da literatura publicada, onde mais de 80% dos cães se apresenta com a forma multicêntrica (Ponce *et al.*, 2010; Vezzali *et al.*, 2010).

Relativamente ao método de diagnóstico, o mais utilizado foi a PAAF, representando mais de 80% dos casos. Os restantes casos foram sujeitos a histopatologia. A PAAF é considerada o método de eleição no diagnóstico de linfoma, servindo como primeira linha no diagnóstico na maioria dos casos. A avaliação histopatológica fica reservada apenas para casos que necessitem de confirmação (Sözmen *et al.*, 2005; Vail *et al.*, 2020).

Quanto às características celulares, estas foram avaliadas em tamanho celular, grau e imunofenótipo. A maioria dos linfomas era de células grandes e de alto grau. De acordo com vários estudos, o tipo de linfoma mais comum é o difuso de células B grandes, de alto grau, com uma pequena percentagem dos casos de linfoma canino a serem de baixo grau (Thomas *et al.*, 2003; Vail *et al.*, 2020; Valli *et al.*, 2011, 2013; Vezzali *et al.*, 2010). Com isto em conta, os resultados obtidos são compatíveis com a literatura previamente referida. Em relação ao imunofenótipo, a larga maioria era de imunofenótipo B, havendo apenas 5 casos em 29 de

imunofenótipo T. Este resultado é compatível com o que se encontra descrito na literatura, onde a prevalência do imunofenótipo B é superior à do T (Ernst *et al.*, 2016).

Relativamente ao estadiamento, o estágio mais frequente foi o III, contabilizando a larga maioria dos casos. Juntamente com o estágio IV, o total dos dois estágios é mais de 95%, contabilizando assim quase a totalidade total dos casos. Apesar dos resultados serem compatíveis com a literatura, onde 80% dos cães se apresenta no estágio III e IV, o estadiamento neste estudo apresentou diversas limitações (Vail *et al.*, 2020). Para um estadiamento correto e compreensivo, e também um dos critérios de inclusão do estágio V, deve ser realizada uma citologia de medula, algo não realizado com frequência, e, aliado à situação socioeconómica descrita anteriormente, não foi um exame complementar realizado (Zandvliet, 2016). Além disso, a citologia de medula não é estritamente necessária para a abordagem terapêutica. Tendo isto em conta, os tutores optaram por não realizar este exame complementar. Esta limitação tornou impossível a colocação de qualquer caso no estágio V, podendo estas limitações também ser argumentos relativos a uma possível sub-representação noutros estudos por ausência de citologia medular. Outra limitação desta componente, agora relativamente ao estágio III e IV, foi a realização de citologia esplénica e hepática. O critério de inclusão do estágio IV é o envolvimento hepático, esplénico ou de ambos (Vail *et al.*, 2020; Zandvliet, 2016). Contudo, como previamente referido quando se discutiu a ecografia, não se realizaram citologias a estes dois órgãos de forma regular, não sendo então possível mudar o estágio de III para IV nesses casos. Apesar desta limitação, não existe uma diferença significativa na abordagem quimioterápica, em caso de infiltração de algum destes órgãos. Os valores analíticos hepáticos e as imagens ecográficas foram acompanhados ao longo do processo oncológico, de forma a avaliar uma possível suspeita e alterando a abordagem consoante as observações, caso necessário.

A distribuição do subestádio foi equilibrada, com o subestádio *a* e o *b* a representarem cada um perto de metade dos casos, mas, uma ligeira maioria dos casos já apresentava manifestações clínicas no momento do diagnóstico. Isto significa que, em alguns casos, o diagnóstico de linfoma foi, provavelmente, realizado tardiamente. Esta distribuição não se encontra de acordo com o descrito na literatura, onde a maioria dos cães se apresenta, em consulta, com uma linfadenomegalia indolor e sem outros sinais clínicos associados, ou seja, estágio *a* (Vail *et al.*, 2020). A diferença de resultados pode dever-se a diversos fatores. Novamente, a situação económica da população residente em Portugal não é mais confortável para a realização de exames de rotina ou consultas em centros veterinários de referência. Os exames de rotina são bastante importantes para um diagnóstico precoce de linfoma, sendo algo realizado de forma infrequente em Portugal. Por fim, além destes fatores, outro que pode ser influente é o fato do ARHV ser um hospital veterinário onde uma parte considerável de

casos, oncológicos e não oncológicos, acabam por ser referências ou segundas opiniões, prolongado assim um diagnóstico definitivo de linfoma ou tratamento.

Em adição ao previamente mencionado sobre o estadiamento, é importante salientar que a maioria dos cães que apareceu em consulta já se encontrava com sintomatologia associada. Uma parte significativa dos sintomas associados ao linfoma aparece numa fase avançada da doença, fazendo com que os sintomas sejam o motivo da consulta. Este fator acaba por enviesar os resultados e, assim, criar uma tendência nos resultados estatísticos relativos ao estadiamento e subestadiamento.

Sobre o tratamento quimioterápico, aproximadamente metade dos cães realizou prednisolona antes de iniciar um protocolo quimioterápico. Foi também realizada uma análise do tempo de sobrevida, comparando cães que tomaram prednisolona antes do protocolo com os que não tomaram. De acordo com os resultados, apesar de um tempo médio de sobrevida inferior nos cães que tomaram prednisolona antes, com uma diferença de aproximadamente 151 dias, p foi superior a 5%. De acordo com vários estudos, a utilização de prednisolona antes do início da quimioterapia resulta em tempos de sobrevida inferiores (Lautscham *et al.*, 2017; Marconato *et al.*, 2011). O resultado de p obtido no presente estudo deve-se, provavelmente, ao pequeno tamanho da amostra.

O protocolo quimioterápico mais utilizado na primeira abordagem terapêutica foi o CHOP, em mais de 90% dos casos. Nos restantes casos utilizaram-se protocolos que tinham, como base, a lomustina e a prednisolona. De acordo com Vail *et al.* (2020), o CHOP é o protocolo mais utilizado atualmente, tornando os nossos resultados compatíveis.

Em mais de 70% dos casos, o protocolo quimioterápico foi iniciado antes da realização da imunofenotipagem. Após o resultado da imunofenotipagem, alterou-se o protocolo em alguns cães, sendo que dois terços destes casos apresentavam imunofenótipo T. O novo protocolo teve como base a lomustina, um agente alquilante. De acordo com Vail *et al.* (2020), existem vários protocolos propostos para o tratamento de linfoma de células T, que costumam ter como base agentes alquilantes. No entanto, apesar de vários estudos sobre estes protocolos apresentarem melhorias na duração da remissão, os intervalos de confiança sobrepõem-se com os dados de protocolos CHOP.

Relativamente aos protocolos de reindução e resgate, apenas um pouco mais de um terço dos cães foram alvo de um. O protocolo mais utilizado, em cerca de 90% dos cães, foi a lomustina associada à prednisolona, com o outro protocolo utilizado a ser o CHOP. Estes resultados não são similares ao que se encontra descrito na literatura. O recomendado é a utilização do mesmo protocolo utilizado inicialmente, caso tenha sido realizado na sua totalidade e tenha ocorrido uma remissão total (Vail *et al.*, 2020). No presente estudo, o

protocolo a que se recorreu foi predominantemente um com lomustina. Isto pode-se dever às causas previamente mencionadas, relativamente ao fato do ARHV receber casos em fases avançadas, que muitas vezes acabam por não entrar numa remissão total. Nos cães em que não foi realizado qualquer protocolo de resgate, isto deveu-se a diversas razões, nomeadamente pois não entraram em remissão, morreram antes de se iniciar um protocolo de resgate ou por opção dos tutores.

Quanto aos efeitos secundários da quimioterapia, a maioria dos cães não apresentou sinais adversos. Nos afetados, o efeito mais comum foi a diarreia e hiporexia ou anorexia, seguidos de prostração severa e emese (Tabela 6). Os resultados deste estudo estão de acordo com vários estudos publicados, onde os efeitos adversos mais comuns foram hiporexia, emese e diarreia (Curran & Thamm, 2016; Tomiyasu, Takahashi, *et al.*, 2010)

Sensivelmente metade dos cães acabou por ser hospitalizado por diversas razões, pelo menos uma vez, durante o seu processo oncológico. Estes resultados são similares ao estudo de Tomiyasu, *et al.* (2010), onde apenas uma minoria dos cães desenvolveu efeitos adversos durante o plano terapêutico e que necessitaram de hospitalização.

Em relação à primeira remissão, menos de 40% dos casos entrou numa remissão total, com uma média de 142 dias (Tabela 7). De acordo com vários estudos, a taxa de resposta obtida não é compatível com diversos estudos. A maioria dos cães realizou o protocolo CHOP, que induz remissão em aproximadamente 80 a 95% dos cães (Vail *et al.*, 2020). Mesmo retirando-se a pequena percentagem de cães que não realizou um protocolo CHOP, a taxa de resposta continua a ser muito baixa quando comparada com os vários estudos. Pelo contrário, o tempo de remissão médio é relativamente comparável a outros estudos, como o de Hosoya *et al.* (2007), onde a duração da remissão registou uma média de 174 dias. Os resultados relativos à duração da primeira remissão estão, provavelmente, condicionados devido ao tamanho reduzido da amostra e diferença no tratamento, como, por exemplo, a utilização de prednisolona previamente ao tratamento.

Quanto à duração do tempo de sobrevida, o tempo médio obtido foi 261 dias e o mediano 167 dias. Ao comparar com a literatura, o tempo de sobrevida mediano encontra-se muito longe dos resultados publicados, onde o tempo mediano varia entre 10 a 12 meses em cães submetidos a um protocolo CHOP (Dobson *et al.*, 2001; Ponce *et al.*, 2004; Turek *et al.*, 2008; Vail *et al.*, 2020). Estes resultados estão, assim como a duração da remissão, muito provavelmente condicionados e enviesados, especialmente pelo fato de uma parte significativa dos casos, de uma amostra por si já pequena, serem referências onde o animal já se encontra numa fase mais avançada, afetando assim negativamente a componente estatística do tempo de sobrevida devido ao pior prognóstico do cão.

Relativamente à influência do imunofenótipo no tempo de sobrevida, a maioria dos cães era de imunofenótipo B, tendo dois terços dos cães falecido durante o estudo. O tempo de sobrevida médio destes cães foi aproximadamente 283 dias. Pelo contrário, dos cães de imunofenótipo T, onde 80% morreu durante o estudo, o tempo de sobrevida médio foi aproximadamente 140 dias. Apesar desta diferença algo marcante na duração de sobrevida, não se verificou uma diferença estatisticamente significativa na análise. De forma geral, o tempo de sobrevida em linfomas de imunofenótipo B é superior em relação aos de imunofenótipo T (Beaver *et al.*, 2010; Marconato *et al.*, 2011; Rebhun *et al.*, 2011; Ruslander *et al.*, 1997; Vail *et al.*, 1996). Os resultados obtidos são compatíveis com este estudo, com o tempo de sobrevida dos animais de imunofenótipo T a ser também menor em relação aos de imunofenótipo B. Como noutras variáveis neste estudo, o tamanho limitado da amostra volta a condicionar o valor real da significância estatística.

Relativamente à influência do subestádio no tempo de sobrevida, dos cães com subestádio *a* que morreram, estes apresentaram um tempo de sobrevida médio de aproximadamente 204 dias, similar ao obtido pelos cães de subestádio *b*, que foi aproximadamente 211 dias. Não foi verificada uma diferença estatisticamente significativa na análise. Vários estudos obtiveram um tempo de sobrevida significativamente inferior nos cães com subestádio *b*, considerando o subestádio como um forte fator de prognóstico (Greenlee *et al.*, 1990; Jagielski *et al.*, 2002; Teske, van Heerde, *et al.*, 1994; Vail, 2005; Vail *et al.*, 1996). Os resultados obtidos no presente estudo contrariam a literatura publicada podendo esta diferença estar relacionada com o tamanho da amostra e, possivelmente, devido à diferença de critérios entre estudos para a inclusão de cães no subestádio *b*. Por exemplo, Zandvliet (2016) considera a febre, perda de peso ou hipercalcemia como critérios para inclusão no subestádio *b*, enquanto outros estudos não referem, de forma concreta, os critérios de inclusão.

Relativamente à influência da anemia no tempo de sobrevida, os cães com anemia no momento do diagnóstico, um pouco menos de 20%, tiveram um tempo de sobrevida inferior, com uma diferença de aproximadamente 205 dias. Na análise estatística, obteve-se uma significância inferior a 5%, ou seja, existiu uma relação entre os animais com anemia ao diagnóstico e um tempo de sobrevida menor. De acordo com vários estudos, a anemia é um forte fator de prognóstico, estando correlacionado com um tempo de sobrevida inferior, tornando o resultado deste estudo compatível (Abbo & Lucroy, 2007; Davies *et al.*, 2018; Miller *et al.*, 2009).

Pelo contrário, a trombocitopenia, que afetava ligeiramente mais de 20% dos cães, não apresentou um resultado estatisticamente significativo, embora também tenha ocorrido

uma diferença significativa no tempo de sobrevida entre os cães com e sem trombocitopenia, traduzindo-se numa diferença de aproximadamente 183 dias no tempo de sobrevida médio. De acordo com a literatura, a trombocitopenia ainda se encontra em investigação (Vail *et al.*, 2020). Childress *et al.* (2018) reportou no seu estudo que a trombocitopenia esteve presente em aproximadamente 25% dos cães e foi fortemente associada a um pior prognóstico. Apesar de não se ter verificado uma diferença estatisticamente significativa no presente estudo, isto pode ter sido influenciado pelo tamanho reduzido da amostra.

Quanto à correlação entre a alteração do protocolo quimioterápico após resultado da imunofenotipagem e o número de cães que atingiu a remissão total, obteve-se uma significância superior a 5%. Isto significa que não existiu grande influência na frequência de cães que atingiu uma remissão total quando se alterou o protocolo após se conhecer o imunofenótipo. Na literatura publicada, até à data, não foi possível encontrar estudos desta correlação que sejam possíveis de comparar com o presente estudo. Tendo isto em conta, de acordo com o resultado deste estudo, não existe correlação entre a alteração do protocolo e aumento da taxa de remissão total.

Relativamente às restantes variáveis, pretendeu-se correlacionar o imunofenótipo com o sexo, subestádio, fêmeas esterilizadas e machos castrados. Apesar de um maior registo do imunofenótipo B em todas as variáveis mencionadas, não foi possível verificar uma associação estatisticamente significativa entre estas variáveis e o imunofenótipo. Isto deve-se, provavelmente, ao tamanho reduzido da amostra, pois apenas 5 cães eram de imunofenótipo T. Não foi possível encontrar até à data estudos que estudassem estas correlações, não sendo possível comparar estes resultados. Contudo, o tamanho da amostra não permite extrapolar grandes conclusões relativamente a estas conclusões, sendo necessário um estudo com uma amostra maior.

Pretendeu-se verificar a existência de uma possível associação entre o cálcio ionizado aumentado ao diagnóstico com o imunofenótipo, o ILD e o tempo de sobrevida. Destas 3 variáveis, apenas uma apresentou uma associação estatisticamente significativa, o imunofenótipo. O consenso atual é que os linfomas T estão mais comumente associados a hipercalcémia, o que é compatível com o resultado de uma das variáveis estudadas (Ernst *et al.*, 2016). Relativamente às restantes variáveis, não foram encontrados estudos relativos à sua associação com um cálcio ionizado sérico aumentado. No entanto, é natural que possa existir uma correlação entre o cálcio ionizado aumentado e o tempo de sobrevida, pois esta afeção encontra-se habitualmente associada a linfomas de tipo T, que têm tempos de sobrevida inferior face aos de tipo B (Beaver *et al.*, 2010; Ernst *et al.*, 2016; Marconato *et al.*, 2011; Rebhun *et al.*, 2011; Ruslander *et al.*, 1997; Vail *et al.*, 1996).

Esta tese consiste num estudo retrospectivo e, devido à sua natureza, onde a base de dados depende da recolha e anotação dos clínicos, não foi possível realizar um tratamento estatístico sem restrições, prejudicando os resultados. De forma a uniformizar a recolha de informações clínicas relevantes, criou-se um protocolo recomendado para a consulta inicial, estadiamento e seguimento (Apêndice I a VII). Além desta limitação, o tamanho da amostra revelou ser o principal entrave a um tratamento estatístico mais fidedigno e extenso. Apesar da amostra consistir em 29 casos, o que no contexto da medicina veterinária não é, de todo, péssimo, a falta de informações específicas em certos casos e o conjunto de variáveis possíveis e relações entre si acaba por reduzir ainda mais a amostra no estudo de certas hipóteses, tornando assim a amostra do presente estudo insuficiente.

Assim, o estudo apresenta diversas limitações. Primeiramente, a natureza deste estudo, que é retrospectivo. Neste tipo de estudos, o ideal é realizar um estudo prospetivo e com um grupo de controlo aleatório, algo que não se verificou neste estudo. Outra limitação é a amostra. Apesar de ser uma limitação comum em estudos veterinários, este estudo não teve uma amostra grande devido aos critérios de inclusão, que por si não eram muito limitantes. No entanto, apesar destas limitações previamente referidas, a principal limitação deste estudo foi o aspeto socioeconómico. O tempo de estudo foi 5 anos, desde 2018 até 2023. Isto significa que parte dos casos ocorreram durante um período de pandemia que agravou a situação económica de um país que, por si só, apresenta uma população com limitações financeiras e baixa literacia financeira. Além disto, também ocorreu outro evento, uma inflação de larga escala, que, infelizmente, alterou a forma como os tutores decidiam abordar situações clínicas dispendiosas. Outra limitação influente foi o centro veterinário. O estudo foi realizado no ARHV, um centro veterinário de referência, com diversas especialidades, mas que não é, por vezes, o primeiro recurso a casos oncológicos.

Os critérios de inclusão definidos da amostra foram pensados de forma a obter resultados estatisticamente significativos e com valor clínico. A principal forma de obter este tipo de resultados foi adicionando um critério de 4 sessões de quimioterapia realizadas, no mínimo. Esta regra de inclusão serviu para não incluir os casos que chegaram ao ARHV numa fase muito avançada, de segunda opinião, e que tenham realizado sessões de quimioterapia suficientes para se considerar que ocorreu um impacto da quimioterapia.

Apesar das limitações mencionadas, o estudo foi adaptado da melhor forma possível aos dados disponíveis. No futuro, caso surja oportunidade para tal, seria extremamente interessante realizar um estudo prospetivo com uma amostra de tamanho considerável e, dessa forma, conseguir responder de forma mais completa aos objetivos pretendidos.

4. Conclusão

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do imunofenótipo na escolha do protocolo terapêutico e *outcome* clínico de cães com linfoma canino.

A maioria dos linfomas neste estudo era de imunofenótipo B. Os cães com linfoma de imunofenótipo B apresentaram, em média, um tempo de sobrevida superior aos de imunofenótipo T, ainda que não estatisticamente significativo.

A maioria dos cães iniciou um protocolo quimioterápico antes de se saber o imunofenótipo do linfoma. Apenas 8 cães começaram um protocolo quimioterápico após a realização da imunofenotipagem. O CHOP foi o tratamento mais utilizado como primeira abordagem em mais de 90% dos casos.

Apenas em 3 cães foi realizada uma alteração ao protocolo depois de se saber o imunofenótipo. Destes 3, 2 eram de imunofenótipo T, não sendo, no entanto, a correlação estatisticamente significativa provavelmente pelo pequeno número de casos.

Foi obtida uma correlação estatisticamente significativa entre o imunofenótipo e cálcio ionizado aumentado no momento do diagnóstico.

Este trabalho teve como inovação a averiguação da utilidade do imunofenótipo na escolha do protocolo terapêutico. Até à data, não existem estudos que demonstrem um possível impacto positivo ou negativo na alteração do protocolo, após conhecimento do imunofenótipo. Além disso, o CHOP continua a ser o protocolo *standard* no tratamento de linfoma, independentemente do imunofenótipo. Isto significa que, sem estudos prospetivos e com uma amostra significativa, que avaliem a eficiência de outros protocolos face a imunofenótipos específicos, nomeadamente o T, a imunofenotipagem irá continuar a servir sobretudo como uma ferramenta de prognóstico no desenvolvimento do processo oncológico, e não como uma ferramenta propriamente útil no tratamento. O autor desta dissertação espera que este trabalho sirva como uma base inicial e de inspiração para futuras investigações deste tema, quer pelo próprio autor, como por outros médicos veterinários ou estudantes de medicina veterinária. Um estudo prospetivo, com grupo de controlo, uma amostra alargada e com um seguimento completo e detalhado, seria importante para colmatar as limitações encontradas no decorrer deste trabalho.

5. Referências bibliográficas

- Abbo, A. H., & Lucroy, M. D. (2007). Assessment of anemia as an independent predictor of response to chemotherapy and survival in dogs with lymphoma: 96 cases (1993–2006). *J Am Vet Med Assoc*, 231(12), 1836–1842. <https://doi.org/10.2460/javma.231.12.1836>
- Affolter, V. K., Gross, T. L., & Moore, P. F. (2009). Indolent cutaneous T-cell lymphoma presenting as cutaneous lymphocytosis in dogs. *Vet Dermatol*, 20(5–6), 577–585. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00833.x>
- Allerton, F. (2020). *BSAVA Small Animal Formulary Part A: Canine and Feline* (10.^a ed.). British Small Animal Veterinary Association.
- Alves, M., Morris, J. S., McAulay, K. A., Jarrett, R. F., Waugh, E. M., Gallagher, A., Bell, A. J., & Henriques, J. (2015). Gammaherpesviruses and canine lymphoma: No evidence for direct involvement in commonly occurring lymphomas. *J Gen Virol*, 96(7), 1863–1872. <https://doi.org/10.1099/vir.0.000106>
- Aratana Therapeutics. (2015). *Annual 10-K report*. <https://www.sec.gov/Archives/edgar/data/1509190/000150919016000061/petx-20151231x10k.htm>
- Aratana Therapeutics. (2014, janeiro 28). Aratana Therapeutics Announces Conditional Approval of Second Canine-Specific Antibody Therapy [Aratana Therapeutics Announces Conditional Approval of Second Canine-Specific Antibody Therapy]. <https://aratana.investorroom.com/2014-01-28-Aratana-Therapeutics-Announces-Conditional-Approval-of-Second-Canine-Specific-Antibody-Therapy>
- Aresu, L., Aricò, A., Comazzi, S., Gelain, M. E., Riondato, F., Mortarino, M., Morello, E., Stefanello, D., & Castagnaro, M. (2014). VEGF and MMP-9: Biomarkers for canine lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 12(1), 29–36. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2012.00328.x>
- Argyle, D. J., Brearley, M. J., & Turek, M. M. (2008). *Decision Making in Small Animal Oncology* (1.^a ed.). Wiley-Blackwell.
- Aricò, A., Giantin, M., Gelain, M. E., Riondato, F., Comazzi, S., Rütgen, B. C., Essler, S. E., Dacasto, M., Castagnaro, M., & Aresu, L. (2013). The role of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinases in canine lymphoma: In vivo and in vitro study. *BMC Vet Res*, 9(1), 94. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-94>
- Avery, A. (2009). Molecular Diagnostics of Hematologic Malignancies. *Top Companion Anim Med*, 24(3), 144–150. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2009.03.005>

- Beaver, L. M., Strottnner, G., & Klein, M. K. (2010). Response rate after administration of a single dose of doxorubicin in dogs with B-cell or T-cell lymphoma: 41 cases (2006–2008). *J Am Vet Med Assoc*, 237(9), 1052–1055. <https://doi.org/10.2460/javma.237.9.1052>
- Berlato, D., Schrempp, D., Van Den Steen, N., & Murphy, S. (2012). Radiotherapy in the management of localized mucocutaneous oral lymphoma in dogs: 14 cases. *Vet Comp Oncol*, 10(1), 16–23. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00270.x>
- Blackwood, L., German, A. J., Stell, A. J., & O'Neill, T. (2004). Multicentric lymphoma in a dog after cyclosporine therapy. *J Small Anim Pract*, 45(5), 259–262. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2004.tb00233.x>
- Blackwood, L., Sullivan, M., & Lawson, H. (1997). Radiographic abnormalities in canine multicentric lymphoma: A review of 84 cases. *J Small Anim Pract*, 38(2), 62–69. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1997.tb02989.x>
- Boerkamp, K. M., Teske, E., Boon, L. R., Grinwis, G. C., Van Den Bossche, L., & Rutteman, G. R. (2014). Estimated incidence rate and distribution of tumours in 4,653 cases of archival submissions derived from the Dutch golden retriever population. *BMC Vet Res*, 10(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-34>
- Brodsky, E. M., Maudlin, G. N., Lachowicz, J. L., & Post, G. S. (2009). Asparaginase and MOPP Treatment of Dogs with Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 23(3), 578–584. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0289.x>
- Brown, P. M., Tzannes, S., Nguyen, S., White, J., & Langova, V. (2018). LOPP chemotherapy as a first-line treatment for dogs with T-cell lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 16(1), 108–113. <https://doi.org/10.1111/vco.12318>
- Bush, W. W., Throop, J. L., McManus, P. M., Kapatkin, A. S., Vite, C. H., & Van Winkle, T. J. (2003). Intravascular Lymphoma Involving the Central and Peripheral Nervous Systems in a Dog. *J Am Anim Hosp Assoc*, 39(1), 90–96. <https://doi.org/10.5326/0390090>
- Cartwright, R., Brincker, H., Carli, P. M., Clayden, D., Coebergh, J. W., Jack, A., McNally, R., Morgan, G., De Sanjose, S., Tumino, R., & Vornanen, M. (1999). The rise in incidence of lymphomas in Europe 1985–1992. *Eur J Cancer*, 35(4), 627–633. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(98\)00401-8](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(98)00401-8)
- Cawley, J. R., Wright, Z. M., Meleo, K., Post, G. S., Clifford, C. A., Vickery, K. R., Vail, D. M., Bergman, P. J., & Thamm, D. H. (2020). Concurrent use of rabacfosadine and L-

- asparaginase for relapsed or refractory multicentric lymphoma in dogs. *J Vet Intern Med*, 34(2), 882–889. <https://doi.org/10.1111/jvim.15723>
- Chen, W., Liu, I., Tomiyasu, H., Lee, J., Cheng, C., Liao, A. T., Liu, B., Liu, C., & Lin, C. (2019). Imatinib enhances the anti-tumour effect of doxorubicin in canine B-cell lymphoma cell line. *Vet J*, 254, 105398. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.105398>
- Childress, M. O., Ramos-Vara, J. A., & Ruple, A. (2016). A randomized controlled trial of the effect of prednisone omission from a multidrug chemotherapy protocol on treatment outcome in dogs with peripheral nodal lymphomas. *J Am Vet Med Assoc*, 249(9), 1067–1078. <https://doi.org/10.2460/javma.249.9.1067>
- Childress, M. O., Ramos-Vara, J. A., & Ruple, A. (2018). Retrospective analysis of factors affecting clinical outcome following CHOP-based chemotherapy in dogs with primary nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 16(1), E159–E168. <https://doi.org/10.1111/vco.12364>
- Choi, S.-I., Nam, Y.-L., Kim, J.-K., Park, H.-J., Song, K.-H., & Seo, K. W. (2021). Retrospective evaluation of toceranib phosphate (Palladia) for treatment of different tumor types in 31 dogs. *Korean J Vet Res*, 61(1), e10. <https://doi.org/10.14405/kjvr.2021.61.e10>
- Citi, S., Oranges, M., Arrighi, E., Meucci, V., Della Santa, D., & Tommaso, M. (2020). Sonographic Evaluation of Medial Iliac Lymph Nodes-to-Aorta Ratio in Dogs. *Vet Sci*, 7(1), 22. <https://doi.org/10.3390/vetsci7010022>
- Cockey, J. R., & Leifer, C. A. (2023). Racing CARs to veterinary immuno-oncology. *Front Vet Sci*, 10, 1130182. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1130182>
- Comazzi, S., & Gelain, M. E. (2011). Use of flow cytometric immunophenotyping to refine the cytological diagnosis of canine lymphoma. *Vet J*, 188(2), 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.011>
- Couto, C. G., Rutgers, H. C., Sherding, R. G., & Rojko, J. (1989). Gastrointestinal Lymphoma in 20 Dogs. *J Vet Intern Med*, 3(2), 73–78. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1989.tb03082.x>
- Couto, K. M., Moore, P. F., Zwingenberger, A. L., Willcox, J. L., & Skorupski, K. A. (2018). Clinical characteristics and outcome in dogs with small cell T-cell intestinal lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 16(3), 337–343. <https://doi.org/10.1111/vco.12384>
- Coyle, K. A., & Steinberg, H. (2004). Characterization of Lymphocytes in Canine Gastrointestinal Lymphoma. *Vet Pathol*, 41(2), 141–146. <https://doi.org/10.1354/vp.41-2-141>

- Crabtree, A. C., Spangler, E., Beard, D., & Smith, A. (2010). DIAGNOSTIC ACCURACY OF GRAY-SCALE ULTRASONOGRAPHY FOR THE DETECTION OF HEPATIC AND SPLENIC LYMPHOMA IN DOGS. *Vet Radiol Ultrasound*, 51(6), 661–664. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2010.01725.x>
- Curran, K., & Thamm, D. H. (2016). Retrospective analysis for treatment of naïve canine multicentric lymphoma with a 15-week, maintenance-free CHOP protocol: Fifteen-week CHOP protocol for canine lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 14, 147–155. <https://doi.org/10.1111/vco.12163>
- Davies, O., Szladovits, B., Polton, G., Garden, O. A., Leo, C., & Lara-Garcia, A. (2018). Prognostic significance of clinical presentation, induction and rescue treatment in 42 cases of canine centroblastic diffuse large B-cell multicentric lymphoma in the United Kingdom. *Vet Comp Oncol*, 16(2), 276–287. <https://doi.org/10.1111/vco.12378>
- Day, M. J. (1996). Serial monitoring of clinical, haematological and immunological parameters in canine autoimmune haemolytic anaemia. *J Small Anim Pract*, 37(11), 523–534. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1996.tb02313.x>
- Day, M. J. (1997). Review of thymic pathology in 30 cats and 36 dogs. *J Small Anim Pract*, 38(9), 393–403. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1997.tb03492.x>
- Dias, J. N. R., André, A. S., Aguiar, S. I., Gil, S., Tavares, L., & Aires-da-Silva, F. (2021). Immunotherapeutic Strategies for Canine Lymphoma: Changing the Odds Against Non-Hodgkin Lymphoma. *Front Vet Sci*, 8, 621758. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.621758>
- Dobson, J. M., Blackwood, L. B., McInnes, E. F., Bostock, D. E., Nicholls, P., Hoather, T. M., & Tom, B. D. M. (2001). Prognostic variables in canine multicentric lymphosarcoma. *J Small Anim Pract*, 42(8), 377–384. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2001.tb02485.x>
- Dobson, J. M., & Lascelles, B. D. X. (2011). *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3.^a ed.). British Small Animal Veterinary Associatio.
- Dobson, J. M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., & Wood, J. L. N. (2002). Canine neoplasia in the UK: Estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J Small Anim Pract*, 43(6), 240–246. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00066.x>
- Durno, A. S., Webb, J. A., Gauthier, M. J., & Bienzle, D. (2011). Polycythemia and Inappropriate Erythropoietin Concentrations in Two Dogs with Renal T-cell Lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc*, 47(2), 122–128. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-5614>

- Edwards, D. S., Henley, W. E., Harding, E. F., Dobson, J. M., & Wood, J. L. N. (2003). Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs. *Vet Comp Oncol*, 1(4), 200–206. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5810.2003.00025.x>
- Elliott, J., & Baines, S. (2019). A Retrospective Study of Multi-agent Chemotherapy including either Cyclophosphamide or Lomustine as Initial Therapy for Canine High-grade T-cell Lymphoma (2011-2017). *Aust Vet J*, 97(9), 308–315. <https://doi.org/10.1111/avj.12847>
- Elliott, J. W., Cripps, P., Marrington, A. M., Grant, I. A., & Blackwood, L. (2013). Epirubicin as part of a multi-agent chemotherapy protocol for canine lymphoma: Epirubicin chemotherapy CEOP canine lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 11(3), 185–198. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00311.x>
- Ernst, T., Kessler, M., Lautscham, E., Willimzig, L., & Neiger, R. (2016). Das multizentrische Lymphom bei 411 Hunden – eine epidemiologische Studie. *Tierarztl Prax Ausg K*, 44(04), 245–251. <https://doi.org/10.15654/TPK-150338>
- Eschalièr, A., Lavarenne, J., Burtin, C., Renoux, M., Chapuy, E., & Rodriguez, M. (1988). Study of histamine release induced by acute administration of antitumor agents in dogs. *Cancer Chemother Pharmacol*, 21(3). <https://doi.org/10.1007/BF00262779>
- Euler, H., Einarsson, R., Olsson, U., Lagerstedt, A.-S., & Eriksson, S. (2004). Serum Thymidine Kinase Activity in Dogs with Malignant Lymphoma: A Potent Marker for Prognosis and Monitoring the Disease. *J Vet Intern Med*, 18(5), 696–702. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02608.x>
- Evans, J., Levesque, D., & Shelton, G. D. (2004). Canine Inflammatory Myopathies: A Clinicopathologic Review of 200 Cases. *J Vet Intern Med*, 18(1), 679–691.
- Fahey, C. E., Milner, R. J., Barabas, K., Lurie, D., Kow, K., Parfitt, S., Lyles, S., & Clemente, M. (2011). Evaluation of the University of Florida lomustine, vincristine, procarbazine, and prednisone chemotherapy protocol for the treatment of relapsed lymphoma in dogs: 33 cases (2003–2009). *J Am Vet Med Assoc*, 239(2), 209–215. <https://doi.org/10.2460/javma.239.2.209>
- Felsenfeld, A. J., & Levine, B. S. (2006). Milk Alkali Syndrome and the Dynamics of Calcium Homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol*, 1(4), 641–654. <https://doi.org/10.2215/CJN.01451005>
- Ferraresso, S., Bresolin, S., Aricò, A., Comazzi, S., Gelain, M. E., Riondato, F., Bargelloni, L., Marconato, L., Kronnie, G. te, & Aresu, L. (2014). Epigenetic silencing of TFPI-2 in

- canine diffuse large B-cell lymphoma. *PLoS One*, 9(4), e92707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092707>
- Flood-Knapik, K. E., Durham, A. C., Gregor, T. P., Sánchez, M. D., Durney, M. E., & Sorenmo, K. U. (2013). Clinical, histopathological and immunohistochemical characterization of canine indolent lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 11(4), 272–286. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00317.x>
- Flory, A. B., Rassnick, K. M., Erb, H. N., Garrett, L. D., Northrup, N. C., Selting, K. A., Phillips, B. S., Locke, J. E., & Chretien, J. D. (2011). Evaluation of factors associated with second remission in dogs with lymphoma undergoing retreatment with a cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone chemotherapy protocol: 95 cases (2000–2007). *J Am Vet Med Assoc*, 238(4), 501–506. <https://doi.org/10.2460/javma.238.4.501>
- Fontaine, J., Bovens, C., Bettenay, S., & Mueller, R. S. (2009). Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: A review. *Vet Comp Oncol*, 7(1), 1–14. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2008.00176.x>
- Fontaine, J., Heimann, M., & Day, M. J. (2010). Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: A review of 30 cases: Epitheliotropic T-cell lymphoma in dogs. *Vet Dermatol*, 21(3), 267–275. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00793.x>
- Fonti, N., Parisi, F., Aytaş, Ç., Degl’Innocenti, S., & Cantile, C. (2023). Neuropathology of Central and Peripheral Nervous System Lymphoma in Dogs and Cats: A Study of 92 Cases and Review of the Literature. *Animals*, 13(5), 862. <https://doi.org/10.3390/ani13050862>
- Fosmire, S. P., Thomas, R., Jubala, C. M., Wojcieszyn, J. W., Valli, V. E. O., Getzy, D. M., Smith, T. L., Gardner, L. A., Ritt, M. G., Bell, J. S., Freeman, K. P., Greenfield, B. E., Lana, S. E., Kisseberth, W. C., Helfand, S. C., Cutter, G. R., Breen, M., & Modiano, J. F. (2007). Inactivation of the p16 Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor in High-Grade Canine Non-Hodgkin’s T-Cell Lymphoma. *Vet Pathol*, 44(4), 467–478. <https://doi.org/10.1354/vp.44-4-467>
- Foster, A. P., Evans, E., Kerlin, R. L., & Vail, D. M. (1997). Cutaneous T-Cell Lymphoma With Sézary Syndrome in a Dog. *Vet Clin Pathol*, 26(4), 188–192. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.1997.tb00735.x>
- Foster, A. P., Sturgess, C. P., Gould, D. J., Iwasaki, T., & Day, M. J. (2000). Pemphigus foliaceus in association with systemic lupus erythematosus, and subsequent lymphoma in a cocker spaniel. *J Small Anim Pract*, 41(6), 266–270. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2000.tb03938.x>

- Fournel-Fleury, C., Magnol, J. P., Bricaire, P., Marchal, T., Chabanne, L., Delverdier, A., Bryon, P. A., & Felman, P. (1997). Cytohistological and Immunological Classification of Canine Malignant Lymphomas" Comparison with Human Non-Hodgkin's Lymphomas. *J Comp Pathol*, 117(1), 35–39.
- Fournel-Fleury, C., Ponce, F., Felman, P., Blavier, A., Bonnefont, C., Chabanne, L., Marchal, T., Cadore, J. L., Goy-Thollot, I., Ledieu, D., Ghernati, I., & Magnol, J. P. (2002). Canine T-cell Lymphomas: A Morphological, Immunological, and Clinical Study of 46 New Cases. *Vet Pathol*, 39(1), 92–109. <https://doi.org/10.1354/vp.39-1-92>
- Fournier, Q., Serra, J. -C., Handel, I., & Lawrence, J. (2018). Impact of Pretreatment Neutrophil Count on Chemotherapy Administration and Toxicity in Dogs with Lymphoma Treated with CHOP Chemotherapy. *J Vet Intern Med*, 32(1), 384–393. <https://doi.org/10.1111/jvim.14895>
- Frances, M., Lane, A. E., & Lenard, Z. M. (2013). Sonographic features of gastrointestinal lymphoma in 15 dogs. *J Small Anim Pract*, 54(9), 468–474. <https://doi.org/10.1111/jsap.12117>
- Frantz, A. M., Sarver, A. L., Ito, D., Phang, T. L., Karimpour-Fard, A., Scott, M. C., Valli, V. E. O., Lindblad-Toh, K., Burgess, K. E., Husbands, B. D., Henson, M. S., Borgatti, A., Kisseberth, W. C., Hunter, L. E., Breen, M., O'Brien, T. D., & Modiano, J. F. (2013). Molecular Profiling Reveals Prognostically Significant Subtypes of Canine Lymphoma. *Vet Pathol*, 50(4), 693–703. <https://doi.org/10.1177/0300985812465325>
- Freedman, A. S., Jacobson, C. A., Ng, A., & Aster, J. C. (2019). Non-Hodgkin Lymphoma. In V. T. DeVita Jr., T. S. Lawrence, & S. A. Rosenberg, *DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology* (11.^a ed., pp. 2858–2921). Wolters Kluwer.
- Fujiwara-Igarashi, A., Goto-Koshino, Y., Sato, M., Maeda, S., Igarashi, H., Takahashi, M., Fujino, Y., Ohno, K., & Tsujimoto, H. (2014). Prognostic significance of the expression levels of the p16, p15, and p14 genes in dogs with high-grade lymphoma. *Vet J*, 199(2), 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.11.004>
- Gardner, H. L., Rippy, S. B., Bear, M. D., Cronin, K. L., Heeb, H., Burr, H., Cannon, C. M., Penmetsa, K. V., Viswanadha, S., Vakkalanka, S., & London, C. A. (2018). Phase I/II evaluation of RV1001, a novel PI3K δ inhibitor, in spontaneous canine lymphoma. *PLoS One*, 13(4), e0195357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195357>
- Gardner, H., London, C., Krick, E., & Kessler, M. (2016). Targeted therapies for canine and feline cancer. *Vet focus*, 26(3), 1–51.

- Garrett, 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(6), 704–709. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2002.tb02411.x>
- Gavazza, A., Lubas, G., Valori, E., & Gugliucci, B. (2008). Retrospective survey of malignant lymphoma cases in the dog: Clinical, therapeutical and prognostic features. *Vet Res Commun*, 32(S1), 291–293. <https://doi.org/10.1007/s11259-008-9131-1>
- Gavazza, A., Presciuttini, S., Barale, R., Lubas, G., & Gugliucci, B. (2001). Association between canine malignant lymphoma, living in industrial areas, and use of chemicals by dog owners. *J Vet Intern Med*, 15(3), 190–195.
- Gavazza, A., Rossi, G., Lubas, G., Cerquetella, M., Minamoto, Y., & Suchodolski, J. S. (2018). Faecal microbiota in dogs with multicentric lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 16(1). <https://doi.org/10.1111/vco.12367>
- Gavazza, A., Sacchini, F., Lubas, G., Gugliucci, B., & Valori, E. (2009). Clinical, laboratory, diagnostic and prognostic aspects of canine lymphoma: A retrospective study. *Comp Clin Pathol*, 18(3), 291–299. <https://doi.org/10.1007/s00580-008-0799-y>
- George, R., Smith, A., Schleis, S., Brawner, W., Almond, G., Kent, M., Wypij, J., Borrego, J., Moore, A., Keyerleber, M., & Kraiza, S. (2016). OUTCOME OF DOGS WITH INTRANASAL LYMPHOMA TREATED WITH VARIOUS RADIATION AND CHEMOTHERAPY PROTOCOLS: 24 CASES. *Vet Radiol Ultrasound*, 57(3), 306–312. <https://doi.org/10.1111/vru.12318>
- Giannasi, C., Tappin, S., & Foale, R. (2016). *Evaluation of lomustine for the treatment of canine T-cell lymphoma*. BSAVA Congress Proceedings 2016, Birmingham, UK.
- Giantin, M., Aresu, L., Aricò, A., Gelain, M. E., Riondato, F., Comazzi, S., & Dacasto, M. (2013). Evaluation of tyrosine-kinase receptor c-kit mutations, mRNA and protein expression in canine lymphoma: Might c-kit represent a therapeutic target? *Vet Immunol Immunopathol*, 154(3–4), 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.05.014>
- Gieger, T. (2011). Alimentary Lymphoma in Cats and Dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 41(2), 419–432. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.02.001>
- Ginn, J., Sacco, J., Wong, Y. Y., Motsinger-Reif, A., Chun, R., & Trepanier, L. A. (2014). Positive association between a glutathione-S-transferase polymorphism and lymphoma in dogs. *Vet Comp Oncol*, 12(3), 227–236. <https://doi.org/10.1111/vco.12000>

- Giraudel, J. M., Pagès, J.-P., & Guelfi, J.-F. (2002). Monoclonal Gammopathies in the Dog: A Retrospective Study of 18 Cases (1986–1999) and Literature Review. *J Am Anim Hosp Assoc*, 38(2), 135–147. <https://doi.org/10.5326/0380135>
- Goodman, I. H., Moore, A. S., & Frimberger, A. E. (2016). Treatment of canine non-indolent T cell lymphoma using the VELCAP-TSC protocol: A retrospective evaluation of 70 dogs (2003–2013). *Vet J*, 211, 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.03.003>
- Greenberg, C. B., Boria, P. A., Borgatti-Jeffreys, A., Raskin, R. E., & Lucroy, M. D. (2007). Phase II Clinical Trial of Combination Chemotherapy With Dexamethasone for Lymphoma in Dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 43(1), 27–32. <https://doi.org/10.5326/0430027>
- Greenlee, P. G., Filippa, D. A., Quimby, F. W., Patnaik, A. K., Calvano, S. E., Matus, R. E., Kimmel, M., Hurvitz, A. I., & Lieberman, P. H. (1990). Lymphomas in dogs a morphologic, immunologic, and clinical study. *Cancer*, 66(3), 480–490. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19900801\)66:3<480::AID-CNCR2820660314>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19900801)66:3<480::AID-CNCR2820660314>3.0.CO;2-X)
- Grindem, C. B., Breitschwerdt, E. B., Corbett, W. T., Page, R. L., & Jans, H. E. (1994). Thrombocytopenia Associated With Neoplasia in Dogs. *J Vet Intern Med*, 8(6), 400–405. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1994.tb03258.x>
- Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J., & Affolter, V. K. (2005). Lymphocytic tumors. In T. L. Gross, P. J. Ihrke, E. J. Walder, & V. K. Affolter, *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis* (2.^a ed., pp. 866–899). Blackwell Science.
- Gustafson, D. L., & Bailey, D. B. (2020). Cancer Chemotherapy. In D. M. Vail, D. H. Thamm, & J. M. Liptak, *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (6.^a ed., pp. 182–208). Elsevier.
- Hahn, K. A., Richardson, R. C., Hahn, E. A., & Chrisman, C. L. (1994). Diagnostic and Prognostic Importance of Chromosomal Aberrations Identified in 61 Dogs with Lymphosarcoma. *Vet Pathol*, 31(5), 528–540. <https://doi.org/10.1177/030098589403100504>
- Hall, J., Weir, S., & Ladlow, J. (2016). Treatment of canine aural haematoma by UK veterinarians: Treatment of canine aural haematoma. *J Small Anim Pract*, 57(7), 360–364. <https://doi.org/10.1111/jsap.12524>

- Hanan, S., Jagarlamudi, K. K., Liya, W., Ellen, H., & Staffan, E. (2012). Quaternary structures of recombinant, cellular, and serum forms of Thymidine Kinase 1 from dogs and humans. *BMC Biochem*, 13(1), 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2091-13-12>
- Hayes, H. M., Tarone, R. E., Cantor, K. P., Jessen, C. R., McCurnin, D. M., & Richardson, R. C. (1991). Case-Control Study of Canine Malignant Lymphoma: Positive Association With Dog Owner's Use of 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid Herbicides. *J Natl Cancer Inst*, 83(17), 1226–1231. <https://doi.org/10.1093/jnci/83.17.1226>
- Heidemann, S. R. (2021). Cancer: A Disease of Cellular Proliferation, Life Span, and Death. In B. G. Klein, *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology* (6.^a ed., pp. 29–50). Elsevier.
- Hifumi, T., Miyoshi, N., Kawaguchi, H., Nomura, K., & Yasuda, N. (2010). Immunohistochemical Detection of Proteins Associated with Multidrug Resistance to Anti-Cancer Drugs in Canine and Feline Primary Pulmonary Carcinoma. *J Vet Med Sci*, 72(5), 665–668. <https://doi.org/10.1292/jvms.09-0519>
- Hosoya, K., Kisseberth, W. C., Lord, L. K., Alvarez, F. J., Lara-Garcia, A., Kosarek, C. E., London, C. A., & Couto, C. G. (2007). Comparison of COAP and UW-19 Protocols for Dogs with Multicentric Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 21(6), 1355–1363. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb01959.x>
- Howlander, N., Noone, A. M., Krapcho, M., Neyman, N., Aminou, R., Waldron, W., Altekruse, S. F., Kosary, C. L., Ruhl, J., Tatalovich, Z., Cho, H., Mariotto, A., Eisner, M. P., Lewis, D. R., Chen, H. S., Feuer, E. J., & Cronin, K. A. (2012). *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2009 (Vintage 2009 Populations)*. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2009 (Vintage 2009 Populations). https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2009_pops09/
- Hughes, K. L., Labadie, J. D., Yoshimoto, J. A., Dossey, J. J., Burnett, R. C., & Avery, A. C. (2018). Increased frequency of CD45 negative T cells (T zone cells) in older Golden retriever dogs. *Vet Comp Oncol*, 16(1). <https://doi.org/10.1111/vco.12343>
- Impellizeri, J. A., Howell, K., McKeever, K. P., & Crow, S. E. (2006). The role of rituximab in the treatment of canine lymphoma: An ex vivo evaluation. *Vet J*, 171(3), 556–558. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.03.005>
- Ito, D., Childress, M., Mason, N., Winter, A., O'Brien, T., Henson, M., Borgatti, A., Lewellen, M., Krick, E., Stewart, J., Lahrman, S., Rajwa, B., Scott, M. C., Seelig, D., Koopmeiners, J., Ruetz, S., & Modiano, J. (2017). A double blinded, placebo-controlled pilot study to examine reduction of CD34+/CD117+/CD133+ lymphoma progenitor cells and duration

- of remission induced by neoadjuvant valsopodar in dogs with large B-cell lymphoma. *F1000Res*, 4, 42. <https://doi.org/10.12688/f1000research.6055.3>
- Ito, D., Endicott, M. M., Jubala, C. M., Helm, K. M., Burnett, R. C., Husbands, B. D., Borgatti, A., Henson, M. S., Burgess, K. E., Bell, J. S., Kisseberth, W. C., Valli, V. E., Cutter, G. R., Avery, A. C., Hahn, K. A., O'Brien, T. D., & Modiano, J. F. (2011). A Tumor-Related Lymphoid Progenitor Population Supports Hierarchical Tumor Organization in Canine B-Cell Lymphoma: Canine B-Cell Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 25(4), 890–896. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0756.x>
- Jagielski, D., Chapuis, T., Lebruneau, J., & Hermine, O. (2011). *Positive response in the treatment of epitheliotropic T-cell lymphoma (mycosis fungoides) with masitinib*. Proceedings of the Annual Congress of the European Society of Veterinary Oncology, Glasgow, UK.
- Jagielski, D., Lechowski, R., Hoffmann-Jagielska, M., & Winiarczyk, S. (2002). A Retrospective Study of the Incidence and Prognostic Factors of Multicentric Lymphoma in Dogs (1998-2000). *J Vet Med Sci*, 49(8), 419–424. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2002.00458.x>
- Jeffreys, A. B., Knapp, D. W., Carlton, W. W., Thomas, R. M., Bonney, P. L., deGortari, A., & Lucroy, M. D. (2005). Influence of Asparaginase on a Combination Chemotherapy Protocol for Canine Multicentric Lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc*, 41(4), 221–226. <https://doi.org/10.5326/0410221>
- Jr, J. H. R., Bright, P., Tamarkin, L., Simpson, B. W., Troy, G. C., Hueston, W., & Ward, D. L. (2002). Endostatin Concentrations in Healthy Dogs and Dogs with Selected Neoplasms. *J Vet Intern Med*, 16(5), 565–569. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2002.tb02388.x>
- Karai, E., Szabényi, K., Windt, T., Fehér, S., Szendi, E., Dékay, V., Vajdovich, P., Szakács, G., & Füredi, A. (2020). Celecoxib Prevents Doxorubicin-Induced Multidrug Resistance in Canine and Mouse Lymphoma Cell Lines. *Cancers*, 12(5), 1117. <https://doi.org/10.3390/cancers12051117>
- Keller, E. T. (1992). Immune-mediated disease as a risk factor for canine lymphoma. *Cancer*, 70(9), 2334–2337. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19921101\)70:9<2334::AID-CNCR2820700920>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19921101)70:9<2334::AID-CNCR2820700920>3.0.CO;2-7)
- Keller, E. T., MacEwen, E. G., Rosenthal, R. C., Helfand, S. C., & Fox, L. E. (1993). Evaluation of Prognostic Factors and Sequential Combination Chemotherapy With Doxorubicin for

- Canine Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 7(5), 289–295. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1993.tb01021.x>
- Keller, S. M., Vernau, W., & Moore, P. F. (2016). Clonality Testing in Veterinary Medicine: A Review With Diagnostic Guidelines. *Vet Pathol*, 53(4), 711–725. <https://doi.org/10.1177/0300985815626576>
- Kitchell, B. E. (2005). *Practical chemotherapy—An overview*. Proceedings of the 30th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association, Cidade do México, México.
- Kol, A., Marks, S. L., Skorupski, K. A., Kass, P. H., Guerrero, T., Gosselin, R. C., & Borjesson, D. L. (2015). Serial haemostatic monitoring of dogs with multicentric lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 13(3), 255–266. <https://doi.org/10.1111/vco.12041>
- Kövé, G., & Tost, H. (1993). Effects of hypercalcemia on kidney function in anesthetized dogs. *Acta Physiol Hung*, 81(4), 371–393.
- Kubota, A., Kano, R., Mizuno, T., Hisasue, M., Moore, P. F., Watari, T., Tsujimoto, H., & Hasegawa, A. (2002). Parathyroid Hormone-Related Protein (PTHrP) Produced by Dog Lymphoma Cells. *J Vet Med Sci*, 64(9), 835–837. <https://doi.org/10.1292/jvms.64.835>
- Lage, H. (2008). An overview of cancer multidrug resistance: A still unsolved problem. *Cell Mol Life Sci*, 65(20), 3145–3167. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8111-5>
- 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. *J Vet Intern Med*, 20(2), 329–334. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02864.x>
- Lana, S., Plaza, S., Hampe, K., Burnett, R., & Avery, A. C. (2006). Diagnosis of Mediastinal Masses in Dogs by Flow Cytometry. *J Vet Intern Med*, 20(5), 1161–1165. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb00716.x>
- Lancellotti, B. A., Angus, J. C., Edginton, H. D., & Rosenkrantz, W. S. (2020). Age- and breed-matched retrospective cohort study of malignancies and benign skin masses in 660 dogs with allergic dermatitis treated long-term with versus without oclacitinib. *J Am Vet Med Assoc*, 257(5), 507–516. <https://doi.org/10.2460/javma.257.5.507>
- Lane, J., Price, J., Moore, A., Dandrieux, J. R. S., Clifford, C., Curran, K., Choy, K., & Cannon, C. (2018). Low-grade gastrointestinal lymphoma in dogs: 20 cases (2010 to 2016): Canine low grade gastrointestinal lymphoma. *J Small Anim Pract*, 59(3), 147–153. <https://doi.org/10.1111/jsap.12769>

- Langner, K. F., Joetzke, A. E., Nerschbach, V., Eberle, N., Schuberth, H.-J., Koy, M., Nolte, I., & Betz, D. (2014). Detection of clonal antigen receptor gene rearrangement in dogs with lymphoma by real-time polymerase chain reaction and melting curve analysis. *BMC Vet Res*, 10(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-1>
- Lanza, M. R., Musciano, A. R., Dubielzig, R. D., & Durham, A. C. (2018). Clinical and pathological classification of canine intraocular lymphoma. *Vet Ophthalmol*, 21(2), 167–173. <https://doi.org/10.1111/vop.12492>
- LaRue, M. K., Taylor, A. R., Back, A. R., Lindley, S. E., Boudreaux, B. L., Almond, G. T., Shores, A., Brawner, W. R., & Smith, A. N. (2018). Central nervous system lymphoma in 18 dogs (2001 to 2015): Canine CNS lymphoma. *J Small Anim Pract*, 59(9), 547–552. <https://doi.org/10.1111/jsap.12868>
- Lautscham, E. M., Kessler, M., Ernst, T., Willimzig, L., & Neiger, R. (2017). Comparison of a CHOP-LAsp-based protocol with and without maintenance for canine multicentric lymphoma. *Vet Rec*, 180(12), 303–303. <https://doi.org/10.1136/vr.104077>
- Legendre, A. M. (2007). Treatment of Dogs with Lymphoma: A Work in Progress. *J Vet Intern Med*, 21(6), 1166–1167. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb01932.x>
- Lin, K.-T., & Wang, L.-H. (2016). New dimension of glucocorticoids in cancer treatment. *Steroids*, 111, 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.02.019>
- Liu, G., Chen, T., Zhang, X., Ma, X., & Shi, H. (2022). Small molecule inhibitors targeting the cancers. *MedComm (2020)*, 3(4). <https://doi.org/10.1002/mco2.181>
- Lobetti, R. G. (2009). Lymphoma in 3 related Rottweilers from a single household. *80*(2), 103–105.
- London, C. A., Bernabe, L. F., Barnard, S., Kisseberth, W. C., Borgatti, A., Henson, M., Wilson, H., Jensen, K., Ito, D., Modiano, J. F., Bear, M. D., Pennell, M. L., Saint-Martin, J.-R., McCauley, D., Kauffman, M., & Shacham, S. (2014). Preclinical Evaluation of the Novel, Orally Bioavailable Selective Inhibitor of Nuclear Export (SINE) KPT-335 in Spontaneous Canine Cancer: Results of a Phase I Study. *PLoS One*, 9(2), e87585. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087585>
- London, C. A., Malpas, P. B., Wood-Follis, S. L., Boucher, J. F., Rusk, A. W., Rosenberg, M. P., Henry, C. J., Mitchener, K. L., Klein, M. K., Hintermeister, J. G., Bergman, P. J., Couto, G. C., Mauldin, G. N., & Michels, G. M. (2009). Multi-center, Placebo-controlled, Double-blind, Randomized Study of Oral Toceranib Phosphate (SU11654), a Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, for the Treatment of Dogs with Recurrent (Either Local or

- Distant) Mast Cell Tumor Following Surgical Excision. *Clin Cancer Res*, 15(11), 3856–3865. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1860>
- Lurie, D. M., Gordon, I. K., Théon, A. P., Rodriguez, C. O., Suter, S. E., & Kent, M. S. (2009). Sequential Low-Dose Rate Half-Body Irradiation and Chemotherapy for the Treatment of Canine Multicentric Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 23(5), 1064–1070. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0353.x>
- Lurie, D. M., Lucroy, M. D., Griffey, S. M., Simonson, E., & Madewell, B. R. (2004). T-cell-derived malignant lymphoma in the boxer breed. *Vet Comp Oncol*, 2(3), 171–175. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5810.2004.00047.x>
- Lurie, D. M., Milner, R. J., Suter, S. E., & Vernau, W. (2008). Immunophenotypic and cytomorphologic subclassification of T-cell lymphoma in the boxer breed. *Vet Immunol Immunopathol*, 125(1–2), 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.05.009>
- MacDonald, V. S., Thamm, D. H., Kurzman, I. D., Turek, M. M., & Vail, D. M. (2005). Does L-Asparaginase Influence Efficacy or Toxicity When Added to a Standard CHOP Protocol for Dogs with Lymphoma? *J Vet Intern Med*, 19(5), 732–736. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02753.x>
- MacEwen, E. G., Hayes, A. A., Matus, R. E., & Kurzman, I. (1987). Evaluation of some prognostic factors for advanced multicentric lymphosarcoma in the dog: 147 cases (1978-1981). *J Am Vet Med Assoc*, 190(5), 564–568.
- Magnol, J. P., Ghernati, I., Marchal, T., Chabanne, L., Delverdier, A., & Fournel, C. (1996). [Clinical, morphologic and immunophenotypic data based on 10 cases of canine mucocutaneous epidermotropic T-lymphoma (analogous to Mycosis Fungoides). Important of an animal model of spontaneous pathology]. *Bull Acad Natl Med*, 180(2), 449–462.
- Marchetti, V., Benetti, C., Citi, S., & Taccini, V. (2005). Paraneoplastic hypereosinophilia in a dog with intestinal T-cell lymphoma. *Vet Clin Pathol*, 34(3).
- Marconato, L., Frayssinet, P., Rouquet, N., Comazzi, S., Leone, V. F., Laganga, P., Rossi, F., Vignoli, M., Pezzoli, L., & Aresu, L. (2014). Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blinded Chemoimmunotherapy Clinical Trial in a Pet Dog Model of Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Clin Cancer Res*, 20(3), 668–677. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-2283>
- Marconato, L., Gelain, M. E., & Comazzi, S. (2013). The dog as a possible animal model for human non-Hodgkin lymphoma: A review. *Hematol Oncol*, 31(1), 1–9. <https://doi.org/10.1002/hon.2017>

- Marconato, L., Leo, C., Girelli, R., Salvi, S., Abramo, F., Bettini, G., Comazzi, S., Nardi, P., Albanese, F., & Zini, E. (2009). Association between Waste Management and Cancer in Companion Animals. *J Vet Intern Med*, 23(3), 564–569. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0278.x>
- Marconato, L., Stefanello, D., Valenti, P., Bonfanti, U., Comazzi, S., Roccabianca, P., Caniatti, M., Romanelli, G., Massari, F., & Zini, E. (2011). Predictors of long-term survival in dogs with high-grade multicentric lymphoma. *J Am Vet Med Assoc*, 238(4), 480–485. <https://doi.org/10.2460/javma.238.4.480>
- Martini, V., Melzi, E., Comazzi, S., & Gelain, M. E. (2015). Peripheral blood abnormalities and bone marrow infiltration in canine large B-cell lymphoma: Is there a link? *Vet Comp Oncol*, 13(2), 117–123. <https://doi.org/10.1111/vco.12024>
- Martins, J. L. P. (2018). *Avaliação da utilização de imunoterapia com APAVAC® em cães e gatos com cancro—Estudo retrospectivo de 20 casos* [Dissertação de Mestrado]. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Massa, K. L., Gilger, B. C., Miller, T. L., & Davidson, M. G. (2002). Causes of uveitis in dogs: 102 cases (1989-2000). *Vet Ophthalmol*, 5(2), 93–98. <https://doi.org/10.1046/j.1463-5224.2002.00217.x>
- Mayayo-Peralta, I., Zwart, W., & Prekovic, S. (2021). Duality of glucocorticoid action in cancer: Tumor-suppressor or oncogene? *Endocr Relat Cancer*, 28(6), R157–R171. <https://doi.org/10.1530/ERC-20-0489>
- McCaw, D. L., Chan, A. S., Stegner, A. L., Mooney, B., Bryan, J. N., Turnquist, S. E., Henry, C. J., Alexander, H., & Alexander, S. (2007). Proteomics of Canine Lymphoma Identifies Potential Cancer-Specific Protein Markers. *Clin Cancer Res*, 13(8), 2496–2503. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2699>
- McDonough, S. P., Van Winkle, T. J., Valentine, B. A., vanGessel, Y. A., & Summers, B. A. (2002). Clinicopathological and Immunophenotypical Features of Canine Intravascular Lymphoma (Malignant Angioendotheliomatosis). *J Comp Pathol*, 126(4), 277–288. <https://doi.org/10.1053/jcpa.2002.0553>
- McKnight, J. A. (2003). Principles of chemotherapy. *Clin Tech Small Anim Pract*, 18(2), 67–72. <https://doi.org/10.1053/svms.2003.36617>
- Mealey, K. L., & Burke, N. S. (2023). Assessment of verdinexor as a canine P-glycoprotein substrate. *J Vet Pharmacol Ther*, 46(4), 264–267. <https://doi.org/10.1111/jvp.13123>

- Merlo, D. F., Rossi, L., Pellegrino, C., Ceppi, M., Cardellino, U., Capurro, C., Ratto, A., Sambucco, P. L., Sestito, V., Tanara, G., & Bocchini, V. (2008). Cancer Incidence in Pet Dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *J Vet Intern Med*, 22(4), 976–984. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x>
- Miller, A. G., Morley, P. S., Rao, S., Avery, A. C., Lana, S. E., & Olver, C. S. (2009). Anemia Is Associated with Decreased Survival Time in Dogs with Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 23(1), 116–122. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0210.x>
- Milman, G., Smith, K. C., & Erles, K. (2011). Serological detection of Epstein-Barr virus infection in dogs and cats. *Vet Microbiol*, 150(1–2), 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.12.013>
- Mirkes, E. M., Alexandrakis, I., Slater, K., Tuli, R., & Gorban, A. N. (2014). Computational diagnosis and risk evaluation for canine lymphoma. *Comput Biol Med*, 53, 279–290. <https://doi.org/10.1016/j.compbimed.2014.08.006>
- Mizuno, T., Kato, Y., Kaneko, M. K., Sakai, Y., Shiga, T., Kato, M., Tsukui, T., Takemoto, H., Tokimasa, A., Baba, K., Nemoto, Y., Sakai, O., & Igase, M. (2020). Generation of a canine anti-canine CD20 antibody for canine lymphoma treatment. *Sci Rep*, 10(1), 11476. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68470-9>
- Modiano, J. F., Breen, M., Burnett, R. C., Parker, H. G., Inusah, S., Thomas, R., Avery, P. R., Lindblad-Toh, K., Ostrander, E. A., Cutter, G. C., & Avery, A. C. (2005). Distinct B-Cell and T-Cell Lymphoproliferative Disease Prevalence among Dog Breeds Indicates Heritable Risk. *Cancer Res*, 65(13), 5654–5661. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-4613>
- Moore, A. S. (2016). Treatment of T cell lymphoma in dogs. *Vet Rec*, 179(11), 277–277. <https://doi.org/10.1136/vr.103456>
- Moore, A. S., London, C. A., Wood, C. A., Williams, L. E., Cotter, S. M., L’Heureux, D. A., & Frimberger, A. E. (1999). Lomustine (CCNU) for the Treatment of Resistant Lymphoma in Dogs. *J Vet Intern Med*, 13(5), 395–398. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1999.tb01452.x>
- Moore, E. L., Vernau, W., Rebhun, R. B., Skorupski, K. A., & Burton, J. H. (2018). Patient characteristics, prognostic factors and outcome of dogs with high-grade primary mediastinal lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 16(1). <https://doi.org/10.1111/vco.12331>
- Moore, P. F., Affolter, V. K., & Keller, S. M. (2013). Canine inflamed nonepitheliotropic cutaneous T-cell lymphoma: A diagnostic conundrum: Canine inflamed T-cell

- lymphoma. *Vet Dermatol*, 24(1), 204-e45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01106.x>
- Musser, M. L., Clifford, C. A., Bergman, P. J., Treml, L. S., McAnulty, L. C. C., McNiel, E. A., & Johannes, C. M. (2022). Randomised trial evaluating chemotherapy alone or chemotherapy and a novel monoclonal antibody for canine T-cell lymphoma: A multicentre US study. *Vet Rec Open*, 9(1). <https://doi.org/10.1002/vro2.49>
- Mutsaers, A. J., Glickman, N. W., DeNicola, D. B., Widmer, W. R., Bonney, P. L., Hahn, K. A., & Knapp, D. W. (2002). Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 220(12), 1813–1817. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.220.1813>
- Neel, J. A., Snyder, L., & Grindem, C. B. (2012). Thrombocytosis: A retrospective study of 165 dogs. *Vet Clin Pathol*, 41(2), 216–222. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2012.00416.x>
- Nyman, H. T., Kristensen, A. T., Skovgaard, I. M., & McEvoy, F. J. (2005). CHARACTERIZATION OF NORMAL AND ABNORMAL CANINE SUPERFICIAL LYMPH NODES USING GRAY-SCALE B-MODE, COLOR FLOW MAPPING, POWER, AND SPECTRAL DOPPLER ULTRASONOGRAPHY: A MULTIVARIATE STUDY. *Vet Radiol Ultrasound*, 46(5), 404–410. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2005.00074.x>
- Nyman, H. T., Lee, M. H., McEvoy, F. J., Nielsen, O. L., Martinussen, T., & Kristensen, A. T. (2006). Comparison of B-mode and Doppler ultrasonographic findings with histologic features of benign and malignant superficial lymph nodes in dogs. *Am J Vet Res*, 67(6), 978–984. <https://doi.org/10.2460/ajvr.67.6.978>
- O'Connor, C. M., Sheppard, S., Hartline, C. A., Huls, H., Johnson, M., Palla, S. L., Maiti, S., Ma, W., Davis, R. E., Craig, S., Lee, D. A., Champlin, R., Wilson, H., & Cooper, L. J. N. (2012). Adoptive T-cell therapy improves treatment of canine non-Hodgkin lymphoma post chemotherapy. *Sci Rep*, 2(1), 249. <https://doi.org/10.1038/srep00249>
- Ogilvie, G. K., Hensel, P., Kitchell, B. E., Dubreuil, P., & Ahn, A. (2011). Masitinib—A targeted therapy with applications in veterinary oncology and inflammatory diseases. *CABI Reviews*, 2011, 1–11. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20116021>
- Ozaki, K., Yamagami, T., Nomura, K., & Narama, I. (2006). T-Cell Lymphoma with Eosinophilic Infiltration Involving the Intestinal Tract in 11 Dogs. *Vet Pathol*, 43(3), 339–344. <https://doi.org/10.1354/vp.43-3-339>

- Panjwani, M. K., Smith, J. B., Schutsky, K., Gnanandarajah, J., O'Connor, C. M., Powell, D. J., & Mason, N. J. (2016). Feasibility and Safety of RNA-transfected CD20-specific Chimeric Antigen Receptor T Cells in Dogs with Spontaneous B Cell Lymphoma. *Mol Ther*, 24(9), 1602–1614. <https://doi.org/10.1038/mt.2016.146>
- Papich, M. G. (2016). *Saunders Handbook of Veterinary Drugs* (4.^a ed.). Elsevier.
- Pastor, M., Chalvet-Monfray, K., Marchal, T., Keck, G., Magnol, J. P., Fournel-Fleury, C., & Ponce, F. (2009). Genetic and Environmental Risk Indicators in Canine Non-Hodgkin's Lymphomas: Breed Associations and Geographic Distribution of 608 Cases Diagnosed throughout France over 1 Year. *J Vet Intern Med*, 23(2), 301–310. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0255.x>
- Penninck, D., Smyers, B., Webster, C. R. L., Rand, W., & Moore, A. S. (2003). DIAGNOSTIC VALUE OF ULTRASONOGRAPHY IN DIFFERENTIATING ENTERITIS FROM INTESTINAL NEOPLASIA IN DOGS. *Vet Radiol Ultrasound*, 44(5), 570–575. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2003.tb00509.x>
- Perry, J. A., Thamm, D. H., Eickhoff, J., Avery, A. C., & Dow, S. W. (2011). Increased monocyte chemotactic protein-1 concentration and monocyte count independently associate with a poor prognosis in dogs with lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 9(1), 55–64. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2010.00235.x>
- Piek, C. J., Putteman, G. R., & Teske, E. (1999). Evaluation of the results of a L-asparaginase-based continuous chemotherapy protocol versus a short doxorubicin-based induction chemotherapy protocol in dogs with malignant lymphoma. *Vet Quart*, 21(2), 44–49. <https://doi.org/10.1080/01652176.1999.9694990>
- Pinello, K. C., Santos, M., Leite-Martins, L., Niza-Ribeiro, J., & De Matos, A. J. (2017). Immunocytochemical study of canine lymphomas and its correlation with exposure to tobacco smoke. *Vet World*, 10(11), 1307–1313. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1307-1313>
- Ponce, F., Magnol, J.-P., Ledieu, D., Marchal, T., Turinelli, V., Chalvet-Monfray, K., & Fournel-Fleury, C. (2004). Prognostic significance of morphological subtypes in canine malignant lymphomas during chemotherapy. *Vet J*, 167(2), 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.10.009>
- Ponce, F., Marchal, T., Magnol, J. P., Turinelli, V., Ledieu, D., Bonnefont, C., Pastor, M., Delignette, M. L., & Fournel-Fleury, C. (2010). A Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in France With a Focus on Comparative Similarities

- Between Canine and Human Lymphoma Morphology. *Vet Pathol*, 47(3), 414–433. <https://doi.org/10.1177/0300985810363902>
- Postorino, N. C., Susaneck, S. J., Withrow, S. J., Macy, D. W., & Harris, C. (1989). Single agent therapy with adriamycin for canine lymphosarcoma. *J Am Anim Hosp Assoc*, 25, 221–225.
- Price, G. S., Page, R. L., Fischer, B. M., Levine, J. F., & Gerig, T. M. (1991). Efficacy and Toxicity of Doxorubicin/Cyclophosphamide Maintenance Therapy in Dogs with Multicentric Lymphosarcoma. *J Vet Intern Med*, 5(5), 259–262. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1991.tb03131.x>
- Purzycka, K., Peters, L. M., Desmas, I., Davies, O., Chang, Y., & Lara-Garcia, A. (2020). Clinicopathological characteristics and prognostic factors for canine multicentric non-indolent T-cell lymphoma: 107 cases. *Vet Comp Oncol*, 18(4), 656–663. <https://doi.org/10.1111/vco.12589>
- Raskin, R. E., & Krehbiel, J. D. (1989). Prevalence of leukemic blood and bone marrow in dogs with multicentric lymphoma. *J Am Vet Med Assoc*, 194(10), 1427–1429.
- Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Kamstock, D. A., LeBlanc, C. J., Berger, E. P., Flory, A. B., Kiselow, M. A., Intile, J. L., Malone, E. K., Regan, R. C., Musser, M. L., Yanda, N., & Johannes, C. M. (2021). Survival time for dogs with previously untreated, peripheral nodal, intermediate- or large-cell lymphoma treated with prednisone alone: The Canine Lymphoma Steroid Only trial. *Javma*, 259(1), 62–71. <https://doi.org/10.2460/javma.259.1.62>
- Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Malone, E. K., Intile, J. L., Kiselow, M. A., Flory, A. B., Barlow, L. L., Balkman, C. E., Barnard, S. M., & Waite, A. H. (2010). Comparison between I-CHOP and an I-CHOP protocol with interposed treatments of CCNU and MOPP (I-CHOP-CCNU-MOPP) for lymphoma in dogs. *Vet Comp Oncol*, 8(4), 243–253. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2010.00224.x>
- Ratcliffe, L., Mian, S., Slater, K., King, H., Napolitano, M., Aucoin, D., & Mobasheri, A. (2009). Proteomic identification and profiling of canine lymphoma patients*. *Vet Comp Oncol*, 7(2), 92–105. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2008.00165.x>
- Rebhun, R. B., Kent, M. S., Borroffka, S. A. E. B., Frazier, S., Skorupski, K., & Rodriguez, C. O. (2011). CHOP chemotherapy for the treatment of canine multicentric T-cell lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 9(1), 38–44. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2010.00230.x>

- Reeve, E. J., Mapletoft, E. K., Schiborra, F., Maddox, T. W., Lamb, C. R., & Warren-Smith, C. M. R. (2020). Mediastinal lymphoma in dogs is homogeneous compared to thymic epithelial neoplasia and is more likely to envelop the cranial vena cava in CT images. *Vet Radiol Ultrasound*, 61(1), 25–32. <https://doi.org/10.1111/vru.12812>
- Regan, R. C., Kaplan, M. S. W., & Bailey, D. B. (2013). Diagnostic evaluation and treatment recommendations for dogs with substage-a high-grade multicentric lymphoma: Results of a survey of veterinarians: Survey of recommendations for dogs with lymphoma. *Vet Comp Oncol*, 11(4), 287–295. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2012.00318.x>
- Reif, J. S., Lower, K. S., & Ogilvie, G. K. (1995). Residential Exposure to Magnetic Fields and Risk of Canine Lymphoma. *Am J Epidemiol*, 141(4), 352–359. <https://doi.org/10.1093/aje/141.4.352>
- Reiser, H., Wang, J., Chong, L., Watkins, W. J., Ray, A. S., Shibata, R., Birkus, G., Cihlar, T., Wu, S., Li, B., Liu, X., Henne, I. N., Wolfgang, G. H. I., Desai, M., Rhodes, G. R., Fridland, A., Lee, W. A., Plunkett, W., Vail, D., ... Tumas, D. B. (2008). GS-9219—A Novel Acyclic Nucleotide Analogue with Potent Antineoplastic Activity in Dogs with Spontaneous Non-Hodgkin's Lymphoma. *Clin Cancer Res*, 14(9), 2824–2832. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-2061>
- Rosenberg, M. P., Matus, R. E., & Patnaik, A. K. (1991). Prognostic Factors in Dogs with Lymphoma and Associated Hypercalcemia. *J Vet Intern Med*, 5(5), 268–271. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1991.tb03133.x>
- Rosol, T. J., Nagode, L. A., Couto, C. G., Hammer, A. S., Chew, D. J., Peterson, J. L., Ayl, R. D., Steinmeyer, C. L., & Capen, C. C. (1992). Parathyroid hormone (PTH)-related protein, PTH, and 1,25-dihydroxyvitamin D in dogs with cancer-associated hypercalcemia. *Endocrinology*, 131(3), 1157–1164.
- Ruslander, D. A., Gebhard, D. H., Tompkins, M. B., Grindem, C. B., & Page, R. L. (1997). Immunophenotypic characterization of canine lymphoproliferative disorders. *In Vivo*, 11(2), 169–172. <https://doi.org/PMID: 9179611>
- Saba, C. F., Clifford, C., Burgess, K., Phillips, B., Vail, D., Wright, Z., Curran, K., Fan, T., Elmslie, R., Post, G., & Thamm, D. (2020). Rabacfosadine for naïve canine intermediate to large cell lymphoma: Efficacy and adverse event profile across three prospective clinical trials. *Vet Comp Oncol*, 18(4), 763–769. <https://doi.org/10.1111/vco.12605>
- Saba, C. F., Vickery, K. R., Clifford, C. A., Burgess, K. E., Phillips, B., Vail, D. M., Wright, Z. M., Morges, M. A., Fan, T. M., & Thamm, D. H. (2018). Rabacfosadine for relapsed canine

- B-cell lymphoma: Efficacy and adverse event profiles of 2 different doses. *Vet Comp Oncol*, 16(1), E76–E82. <https://doi.org/10.1111/vco.12337>
- Sadowski, A. R., Gardner, H. L., Borgatti, A., Wilson, H., Vail, D. M., Lachowicz, J., Manley, C., Turner, A., Klein, M. K., Waite, A., Sahara, A., & London, C. A. (2018). Phase II study of the oral selective inhibitor of nuclear export (SINE) KPT-335 (verdinexor) in dogs with lymphoma. *BMC Vet Res*, 14(1), 250. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1587-9>
- Sánchez, D., Sánchez-Verin, R., Corona, H., Gutiérrez, A., Núñez-Ochoa, L., Paredes, J., & Cesarman-Maus, G. (2019). Canine lymphoma: Pathological and clinical characteristics of patients treated at a referral hospital. *Vet Méx OA*, 6(2). <https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2019.2.495>
- Santoro, D., Marsella, R., & Hernandez, J. (2007). Investigation on the association between atopic dermatitis and the development of mycosis fungoides in dogs: A retrospective case-control study. *Vet Dermatol*, 18(2), 101–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2007.00582.x>
- Seelig, D., Avery, A., Ehrhart, E., & Linden, M. (2016). The Comparative Diagnostic Features of Canine and Human Lymphoma. *Vet Sci*, 3(2), 11. <https://doi.org/10.3390/vetsci3020011>
- Seelig, D. M., Perry, J. A., Zaks, K., Avery, A. C., & Avery, P. R. (2011). Monoclonal immunoglobulin protein production in two dogs with secretory B-cell lymphoma with Mott cell differentiation. *J Am Vet Med Assoc*, 239(11), 1477–1482. <https://doi.org/10.2460/javma.239.11.1477>
- Serres, F., Meyer, C., Tierny, D., Hidalgo, A., & Haelewyn, C. (2010). *Masitinib for maintenance chemotherapy of 2 dogs with T cell multicentric lymphoma*. Proceedings of the European Society of Veterinary Oncology Spring Congress, Turin, Italy.
- Simon, D., Moreno, S. N., Hirschberger, J., Moritz, A., Kohn, B., Neumann, S., Jurina, K., Scharvogel, S., Schwedes, C., Reinacher, M., Beyerbach, M., & Nolte, I. (2008). Efficacy of a continuous, multiagent chemotherapeutic protocol versus a short-term single-agent protocol in dogs with lymphoma. *J Am Vet Med Assoc*, 232(6), 879–885. <https://doi.org/10.2460/javma.232.6.879>
- Sisó, S., Marco-Salazar, P., Moore, P. F., Sturges, B. K., Vernau, W., Wisner, E. R., Bollen, A. W., Dickinson, P. J., & Higgins, R. J. (2017). Canine Nervous System Lymphoma Subtypes Display Characteristic Neuroanatomical Patterns. *Vet Pathol*, 54(1), 53–60. <https://doi.org/10.1177/0300985816658101>

- Smith, L. K., & Cidlowski, J. A. (2010). Glucocorticoid-Induced Apoptosis of Healthy and Malignant Lymphocytes. *In Progress in Brain Research* (Vol. 182, pp. 1–30). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(10\)82001-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(10)82001-1)
- Sogame, N., Risbon, R., & Burgess, K. E. (2018). Intestinal lymphoma in dogs: 84 cases (1997–2012). *J Am Vet Med Assoc*, 252(4), 440–447. <https://doi.org/10.2460/javma.252.4.440>
- Sorenmo, K., Overley, B., Krick, E., Ferrara, T., LaBlanc, A., & Shofer, F. (2010). Outcome and toxicity associated with a dose-intensified, maintenance-free CHOP-based chemotherapy protocol in canine lymphoma: 130 cases. *Vet Comp Oncol*, 8(3), 196–208. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2010.00222.x>
- Sözmen, M., Tasca, S., Carli, E., Lorenzi, D. 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(4), 323–329. <https://doi.org/10.1177/104063870501700404>
- Starrak, G. S., Berry, C. R., Page, R. L., Johnson, J. L., & Thrall, D. E. (1997). CORRELATION BETWEEN THORACIC RADIOGRAPHIC CHANGES AND REMISSION/SURVIVAL DURATION IN 270 DOGS WITH LYMPHOSARCOMA. *Vet Radiol Ultrasound*, 38(6), 411–418. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.1997.tb00863.x>
- Steinberg, H., Dubielzig, R. R., Thomson, J., & Dzata, G. (1995). Primary Gastrointestinal Lymphosarcoma with Epitheliotropism in Three Shar-Pei and One Boxer Dog. *Vet Pathol*, 32(4), 423–426. <https://doi.org/10.1177/030098589503200413>
- Sueiro, F. A. R., Alessi, A. C., & Vassallo, J. (2004). Canine Lymphomas: A Morphological and Immunohistochemical Study of 55 Cases, with Observations on p53 Immunoexpression. *J Comp Pathol*, 131(2–3), 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.04.002>
- Sumping, J. C., Maddox, T. W., Killick, D., & Mortier, J. R. (2022). Diagnostic accuracy of ultrasonography to detect hepatic and splenic lymphomatous infiltration in dogs and cats. *J of Small Animal Practice*, 63(2), 113–119. <https://doi.org/10.1111/jsap.13438>
- Takashima-Uebelhoe, B. B., Barber, L. G., Zagarins, S. E., Procter-Gray, E., Gollenberg, A. L., Moore, A. S., & Bertone-Johnson, E. R. (2012). Household chemical exposures and the risk of canine malignant lymphoma, a model for human non-Hodgkin's lymphoma. *Environ Res*, 112, 171–176. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.12.003>

- Teske, E. (1994). Canine malignant lymphoma: A review and comparison with human non-hodgkin's lymphoma. *Vet Quart*, 16(4), 209–219. <https://doi.org/10.1080/01652176.1994.9694451>
- Teske, E., De Vos, J. P., Egberink, H. F., & Vos, J. H. (1994). Clustering in canine malignant lymphoma. *Vet Quart*, 16(2), 134–136. <https://doi.org/10.1080/01652176.1994.9694435>
- Teske, E., & Van Heerde, P. (1996). Diagnostic value and reproducibility of fine-needle aspiration cytology in canine malignant lymphoma. *Vet Quart*, 18(3), 112–115. <https://doi.org/10.1080/01652176.1996.9694630>
- Teske, E., van Heerde, P., Rutteman, G. R., Kurzman, I. D., Moore, P. F., & MacEwen, E. G. (1994). Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 205(12), 1722–1728. <https://doi.org/PMID: 7744644>
- Thalheim, L., Williams, L. E., Borst, L. B., Fogle, J. E., & Suter, S. E. (2013). Lymphoma Immunophenotype of Dogs Determined by Immunohistochemistry, Flow Cytometry, and Polymerase Chain Reaction for Antigen Receptor Rearrangements. *J Vet Intern Med*, 27(6), 1509–1516. <https://doi.org/10.1111/jvim.12185>
- Thamm, D. H. (2019). Novel Treatments for Lymphoma. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 49(5), 903–915. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.04.004>
- Thamm, D. H., Grunerud, K. K., Rose, B. J., Vail, D. M., & Bailey, S. M. (2013). DNA Repair Deficiency as a Susceptibility Marker for Spontaneous Lymphoma in Golden Retriever Dogs: A Case-Control Study. *PLoS One*, 8(7), e69192. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069192>
- Thamm, D. H., Vail, D. M., Post, G. S., Fan, T. M., Phillips, B. S., Axiak-Bechtel, S., Elmslie, R. S., Klein, M. K., & Ruslander, D. A. (2017). Alternating Rabacfosadine/Doxorubicin: Efficacy and Tolerability in Naïve Canine Multicentric Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 31(3), 872–878. <https://doi.org/10.1111/jvim.14700>
- Thomas, R., Fiegler, H., Ostrander, E. A., Galibert, F., Carter, N. P., & Breen, M. (2003). A canine cancer-gene microarray for CGH analysis of tumors. *Cytogenet Genome Res*, 102(1–4), 254–260. <https://doi.org/10.1159/000075758>
- Thomas, R., Seiser, E. L., Motsinger-Reif, A., Borst, L., Valli, V. E., Kelley, K., Suter, S. E., Argyle, D., Burgess, K., Bell, J., Lindblad-Toh, K., Modiano, J. F., & Breen, M. (2011). Refining tumor-associated aneuploidy through «genomic recoding» of recurrent DNA

- copy number aberrations in 150 canine non-Hodgkin lymphomas. *Leuk Lymphoma*, 52(7), 1321–1335. <https://doi.org/10.3109/10428194.2011.559802>
- Thomas, R., Wang, H. J., Tsai, P.-C., Langford, C. F., Fosmire, S. P., Jubala, C. M., Getzy, D. M., Cutter, G. R., Modiano, J. F., & Breen, M. (2009). Influence of genetic background on tumor karyotypes: Evidence for breed-associated cytogenetic aberrations in canine appendicular osteosarcoma. *Chromosome Res*, 17(3), 365–377. <https://doi.org/10.1007/s10577-009-9028-z>
- Tomiyasu, H., Goto-Koshino, Y., Takahashi, M., Fujino, Y., Ohno, K., & Tsujimoto, H. (2010). Quantitative Analysis of mRNA for 10 Different Drug Resistance Factors in Dogs with Lymphoma. *J Vet Med Sci*, 72(9), 1165–1172. <https://doi.org/10.1292/jvms.09-0575>
- Tomiyasu, H., Takahashi, M., Fujino, Y., Ohno, K., & Tsujimoto, H. (2010). Gastrointestinal and Hematologic Adverse Events after Administration of Vincristine, Cyclophosphamide, and Doxorubicin in Dogs with Lymphoma that Underwent a Combination Multidrug Chemotherapy Protocol. *J Vet Med Sci*, 72(11), 1391–1397. <https://doi.org/10.1292/jvms.10-0176>
- Torres De La Riva, G., Hart, B. L., Farver, T. B., Oberbauer, A. M., Messam, L. L. McV., Willits, N., & Hart, L. A. (2013). Neutering Dogs: Effects on Joint Disorders and Cancers in Golden Retrievers. *PLoS One*, 8(2), e55937. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055937>
- Turek, M. M., Saba, C., Paoloni, M. C., & Argyle, D. J. (2008). Canine Lymphoma and Leukemia. In D. J. Argyle, M. J. Brearley, & M. M. Turek, *Decision Making in Small Animal Oncology* (1.^a ed., pp. 171–196). Wiley-Blackwell.
- Vail, D. M. (2005). Hematopoietic Tumors. In S. J. Ettinger & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (6.^a ed., Vol. 2, pp. 732–747). Elsevier.
- Vail, D. M., Kisseberth, W. C., Obradovich, J. E., Moore, F. M., London, C. A., MacEwen, E. G., & Ritter, M. A. (1996). Assessment of potential doubling time (Tpot), argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNOR), and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as predictors of therapy response in canine non-Hodgkin's lymphoma. *Exp Hematol*, 24(7), 807–815.
- Vail, D. M., Michels, G. M., Khanna, C., Selting, K. A., London, C. A., & Veterinary Cooperative Oncology Group. (2010). Response evaluation criteria for peripheral nodal lymphoma in dogs (v1.0)-a veterinary cooperative oncology group (VCOG) consensus document. *Vet Comp Oncol*, 8(1), 28–37. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2009.00200.x>

- Vail, D. M., Pinkerton, M. E., & Young, K. M. (2020). Hematopoietic Tumors. *In* D. M. Vail, D. H. Thamm, & J. M. Liptak, *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (6.^a ed., pp. 688–772). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-59496-7.00033-5>
- Vail, D. M., Thamm, D. H., Reiser, H., Ray, A. S., Wolfgang, G. H. I., Watkins, W. J., Babusis, D., Henne, I. N., Hawkins, M. J., Kurzman, I. D., Jeraj, R., Vanderhoek, M., Plaza, S., Anderson, C., Wessel, M. A., Robat, C., Lawrence, J., & Tumas, D. B. (2009). Assessment of GS-9219 in a Pet Dog Model of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Clin Cancer Res*, 15(10), 3503–3510. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-3113>
- 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*, 210(4), 512–516.
- Valli, V. E., Bienzle, D., & Meuten, D. J. (2017). Tumors of the Hemolymphatic System. *In* D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5.^a ed., pp. 203–321). John Wiley & Sons.
- Valli, V. E., Kass, P. H., Myint, M. S., & Scott, F. (2013). Canine Lymphomas: Association of Classification Type, Disease Stage, Tumor Subtype, Mitotic Rate, and Treatment With Survival. *Vet Pathol*, 50(5), 738–748. <https://doi.org/10.1177/0300985813478210>
- Valli, V. E., Myint, M. S., Barthel, A., Bienzle, D., Caswell, J., Colbatzky, F., Durham, A., Ehrhart, E. J., Johnson, Y., Jones, C., Kiupel, M., Labelle, P., Lester, S., Miller, M., Moore, P., Moroff, S., Roccabianca, P., Ramos-Vara, J., Ross, A., ... Vernau, W. (2011). Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. *Vet Pathol*, 48(1), 198–211. <https://doi.org/10.1177/0300985810379428>
- Van Stee, L. L., Boston, S. E., Singh, A., Romanelli, G., Rubio-Guzman, A., & Scase, T. J. (2015). Outcome and Prognostic Factors for Canine Splenic Lymphoma Treated by Splenectomy (1995-2011): Outcome of Canine Splenic Lymphoma Following Splenectomy. *Vet Surg*, 44(8), 976–982. <https://doi.org/10.1111/vsu.12405>
- Vaughan, A., Johnson, J. L., & Williams, L. E. (2007). Impact of Chemotherapeutic Dose Intensity and Hematologic Toxicity on First Remission Duration in Dogs with Lymphoma Treated with a Chemoradiotherapy Protocol. *J Vet Intern Med*, 21(6), 1332–1339. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb01956.x>
- Veldhoen, N., Stewart, J., Brown, R., & Milner, J. (1998). Mutations of the p53 gene in canine lymphoma and evidence for germ line p53 mutations in the dog. *Oncogene*, 16(2), 249–255. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1201489>

- Vezzali, E., Parodi, A. L., Marcato, P. S., & Bettini, G. (2010). Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. *Vet Comp Oncol*, 8(1), 38–49. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2009.00201.x>
- 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 Epidemiol*, 2009, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2009/591753>
- Warry, E., Hansen, R. J., Gustafson, D. L., & Lana, S. E. (2011). Pharmacokinetics of Cyclophosphamide after Oral and Intravenous Administration to Dogs with Lymphoma: Pharmacokinetics of Cyclophosphamide in the Dog. *J Vet Intern Med*, 25(4), 903–908. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0730.x>
- Wiedemann, A. L., Charney, S. C., Barger, A. M., Schaeffer, D. J., & Kitchell, B. E. (2005). Assessment of corticosteroid-induced alkaline phosphatase as a prognostic indicator in canine lymphoma. *J Small Anim Pract*, 46(4), 185–190. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2005.tb00309.x>
- Williams, L. E., Johnson, J. L., Hauck, M. L., Ruslander, D. M., Price, G. S., & Thrall, D. E. (2004). Chemotherapy Followed by Half-Body Radiation Therapy for Canine Lymphoma. *J Vet Intern Med*, 18(5), 703–709. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02609.x>
- Winkler, S., Reimann-Berg, N., Escobar, H. M., Loeschke, S., Eberle, N., Höinghaus, R., Nolte, I., & Bullerdiek, J. (2006). Polysomy 13 in a canine prostate carcinoma underlining its significance in the development of prostate cancer. *Cancer Genet Cytogenet*, 169(2), 154–158. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2006.03.015>
- Wolfesberger, B., Tonar, Z., Fuchs-Baumgartinger, A., Walter, I., Skalicky, M., Witter, K., Thalhammer, J. G., Pagitz, M., & Kleiter, M. (2012). Angiogenic markers in canine lymphoma tissues do not predict survival times in chemotherapy treated dogs. *Res Vet Sci*, 92(3), 444–450. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.04.018>
- Yamazaki, H., Miura, N., Lai, Y.-C., Takahashi, M., Goto-Koshino, Y., Yasuyuki, M., Nakaichi, M., Tsujimoto, H., Setoguchi, A., & Endo, Y. (2017). Effects of toceranib phosphate (Palladia) monotherapy on multidrug resistant lymphoma in dogs. *J Vet Med Sci*, 79(7), 1225–1229. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0457>
- Yohn, S. E., Hawkins, E. C., Morrison, W. B., Reams, R. Y., DeNicola, D. B., & Blevins, W. E. (1994). Confirmation of a pulmonary component of multicentric lymphosarcoma with bronchoalveolar lavage in two dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 204(1), 97–101.

- Zamani-Ahmadmahmudi, M., Aghasharif, S., & Ilbeigi, K. (2016). Prognostic efficacy of the human B-cell lymphoma prognostic genes in predicting disease-free survival (DFS) in the canine counterpart. *BMC Vet Res*, 13(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0919-x>
- Zandvliet, M. (2016). Canine lymphoma: A review. *Vet Quart*, 36(2), 76–104. <https://doi.org/10.1080/01652176.2016.1152633>
- Zandvliet, M., Rutteman, G. R., & Teske, E. (2013). Prednisolone inclusion in a first-line multidrug cytostatic protocol for the treatment of canine lymphoma does not affect therapy results. *Vet J*, 197(3), 656–661. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.04.022>
- Zandvliet, M., Teske, E., Chapuis, T., Fink-Gremmels, J., & Schrickx, J. A. (2013). Masitinib reverses doxorubicin resistance in canine lymphoid cells by inhibiting the function of P-glycoprotein. *J Vet Pharmacol Ther*, 36(6), 583–587. <https://doi.org/10.1111/jvp.12039>
- Zandvliet, M., Teske, E., Schrickx, J. A., & Mol, J. A. (2015). A longitudinal study of ABC transporter expression in canine multicentric lymphoma. *Vet J*, 205(2), 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.11.002>
- Zhao, D., Yamaguchi, R., Tateyama, S., Yamazaki, Y., & Ogawa, H. (1993). Bilateral Renal Lymphosarcoma in a Dog. *J Vet Med Sci*, 55(4), 657–659. <https://doi.org/10.1292/jvms.55.657>
- Zink, M. C., Farhooody, P., Elser, S. E., Ruffini, L. D., Gibbons, T. A., & Rieger, R. H. (2014). Evaluation of the risk and age of onset of cancer and behavioral disorders in gonadectomized Vizslas. *J Am Vet Med Assoc*, 244(3), 309–319. <https://doi.org/10.2460/javma.244.3.309>

Apêndice I

Consulta inicial - Anamnese

Nome: _____	Tutor: _____
ID do cão: _____	Data: ____ / ____ / ____
Raça: _____	MV responsável: _____
Idade: _____	Referência: Sim Não
Sexo e estado reprodutivo: ME FE MNE FNE	Opinião: 1ª 2ª

Motivo da consulta e historial:

--

Sintomatologia / Sinais clínicos:

Linfadenopatia	Sim	Não
Pirexia	Sim	Não
Perda de peso	Sim	Não
Hiporexia / Anorexia	Sim	Não
Emese	Sim	Não
Diarreia	Sim	Não
Tosse ou dificuldade na respiração	Sim	Não
Letargia	Sim	Não
Poliúria / Polidipsia	Sim	Não
Lesões / Achados dermatológicas	Sim	Não
Outros / comentários		

Gânglios linfáticos superficiais:

	Esquerdo						Direito					
	Tamanho			Consistência			Tamanho			Consistência		
Submandibular	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole
Pré-escapular	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole
Axilar	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole
Inguinal	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole
Poplíteo	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole	Aumentado	Normal		Firme	Médio	Mole

Apêndice II

Consulta inicial - Estadiamento

Nome: _____	Tutor: _____
ID do cão: _____	Data: ____ / ____ / ____
Raça: _____	MV responsável: _____
Idade: _____	Referência: Sim Não
Sexo e estado reprodutivo: ME FE MNE FNE	Opinião: 1ª 2ª

Análises Clínicas:

Hemograma		Valor	Comentários
Anemia	Sim Não		
Leucocitose	Sim Não		
Leucopenia	Sim Não		
Linfocitose	Sim Não		
Linfopenia	Sim Não		
Neutrofilia	Sim Não		
Neutropenia	Sim Não		
Monocitose	Sim Não		
Monocitopenia	Sim Não		
Eosinofilia	Sim Não		
Eosinopenia	Sim Não		
Basofilia	Sim Não		
Trombocitose	Sim Não		
Trombocitopenia	Sim Não		
Bioquímicas		Valor	Comentários
GLU	▲ Normal ▼		
CREA	▲ Normal ▼		
BUN	▲ Normal ▼		
CREA/BUN	▲ Normal ▼		
PT	▲ Normal ▼		
ALB	▲ Normal ▼		
GLOB	▲ Normal ▼		
ALB/GLOB	▲ Normal ▼		
ALT	▲ Normal ▼		
ALKP	▲ Normal ▼		
iCal	▲ Normal ▼		
Outras analíticas realizadas			

Apêndice III

Radiografia: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não

Observações	
-------------	--

Ecografia: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não

Observações	
-------------	--

Ecografia dos gânglios linfáticos: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não

Gânglio linfático	Tamanho (cm)	Formato	Ecogenicidade	Vascularização	PAAF

Tomografia Computorizada / Ressonância Magnética: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não

Observações	
-------------	--

Apêndice IV

Citologia / Histopatologia: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não

PAAF: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não

Histopatologia: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não

Amostra(s): _____

Tamanho celular: ☐ Pequenas ☐ Médias ☐ Grandes ☐ Sem informações

Grau: ☐ Baixo ☐ Médio ☐ Alto ☐ Sem informações

Imunofenotipagem: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não ☐ Não vai fazer Qual: _____

Infiltração esplênica: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não ☐ Não vai fazer

Infiltração hepática: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não ☐ Não vai fazer

Observações	
-------------	--

Estadiamento segundo OMS: _____

Estadio: ☐ I ☐ II ☐ III ☐ IV ☐ V ☐ Desconhecido

Subestadio: ☐ a (sem sinais sistêmicos) ☐ b (sinais sistêmicos) ☐ Desconhecido

Protocolo escolhido: _____

Observações

Apêndice V

Acompanhamento | Sessão nº ____

Nome: _____	Tutor: _____
ID do cão: _____	Data: ____ / ____ / ____
Raça: _____	MV responsável: _____
Idade: _____	Protocolo quimioterápico: _____
Sexo e estado reprodutivo: ME FE MNE FNE	Protocolo alterado: Sim Não

Análises Clínicas:

Hemograma		Valor	Comentários
Anemia	Sim Não		
Leucocitose	Sim Não		
Leucopenia	Sim Não		
Linfocitose	Sim Não		
Linfopenia	Sim Não		
Neutrofilia	Sim Não		
Neutropenia	Sim Não		
Monocitose	Sim Não		
Monocitopenia	Sim Não		
Eosinofilia	Sim Não		
Eosinopenia	Sim Não		
Basofilia	Sim Não		
Trombocitose	Sim Não		
Trombocitopenia	Sim Não		
Bioquímicas		Valor	Comentários
GLU	▲ Normal ▼		
CREA	▲ Normal ▼		
BUN	▲ Normal ▼		
CREA/BUN	▲ Normal ▼		
PT	▲ Normal ▼		
ALB	▲ Normal ▼		
GLOB	▲ Normal ▼		
ALB/GLOB	▲ Normal ▼		
ALT	▲ Normal ▼		
ALKP	▲ Normal ▼		
iCaI	▲ Normal ▼		
Outras analíticas realizadas			

Apêndice VI

Protocolo quimioterápico: _____

Fármaco e dose a administrar nesta sessão: _____

Observações	
-------------	--

Efeitos secundários à quimioterapia: ☐ Sim ☐ Não

Observações	
-------------	--

Observações e comentários: ☐ Sim ☐ Não

Observações	
-------------	--

Apêndice VII

Alterações à radiografia: ☐ Sim ☐ Não

Observações	
-------------	--

Alterações à ecografia: ☐ Sim ☐ Não

Observações	
-------------	--

Ecografia dos gânglios linfáticos: ☐ Sim ☐ Não

Gânglio linfático	Tamanho (cm)	Formato	Ecogenicidade	Vascularização

Alterações à tomografia Computorizada / Ressonância Magnética: ☐ Sim ☐ Por fazer ☐ Não

Observações	
-------------	--