

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO TÉCNICO-CIENTÍFICO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**ESTUDO RETROSPECTIVO DE CÃES COM LINFOMA QUE REALIZARAM
QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA NOS ANOS DE 2012 A 2014**

Monalisa Rosa dos Santos

Porto Alegre
2015/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO TÉCNICO-CIENTÍFICO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Estudo retrospectivo de cães com linfoma que realizaram quimioterapia antineoplásica
nos anos de 2012 a 2014**

Autor: Monalisa Rosa dos Santos

**Monografia apresentada a faculdade de
veterinária como requisito parcial para
obtenção da graduação em medicina
veterinária**

Orientador: Luciana Sonne

Co-orientador: Luciane Cristina Vieira

PORTO ALEGRE

2015/2

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a toda minha família, em especial ao meu pai, Paulo e minha mãe, Claudia, por todo apoio e incentivo nestes anos de estudos.

Ao meu namorado, Felipe pela ajuda e incentivo na elaboração deste trabalho e durante todo o período de faculdade.

A minha cadela Nenê, que já se foi e minhas duas companheiras atuais Moa e Preta, por terem me ensinado o verdadeiro amor incondicional.

A toda equipe do Oncovet UFRGS, em especial as médicas veterinárias Luciane Vieira (co-orientadora deste trabalho) e Luciana Oliveira pela oportunidade de estágio durante três anos de minha graduação e pela possibilidade de realizar este trabalho no setor.

A minha orientadora Luciana Sonne pela ajuda na realização e correção deste trabalho.

Ao residente Ronaldo pela ajuda, apoio e interesse por este trabalho.

Aos funcionários do SAME por toda ajuda e paciência na obtenção das fichas.

Ao mestrando do EPILAB, Waldemir, pela ajuda com a estatística e interesse pelo trabalho.

Ao meu amigo Matheus, por me ajudar corrigindo a tradução do resumo em inglês.

Aos professores da Faculdade de Veterinária da UFRGS pelos ensinamentos passados nestes cinco anos e meio de curso.

RESUMO

O linfoma é uma neoplasia maligna de grande ocorrência em cães. Com o objetivo de analisar as características do linfoma em cães que realizaram quimioterapia no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, foi realizado um estudo retrospectivo dos anos de 2012 a 2014. A análise dos dados foi feita com base nos prontuários clínicos dos pacientes e registros de quimioterapia do Setor de Oncologia. Ao todo, 37 cães realizaram quimioterapia para linfoma neste período. Destes, 16 (43,2%) eram fêmeas e 21 (56,8%) eram machos. A média de idade encontrada foi de 7,65 anos. Em relação ao tipo racial, 29,7% dos cães eram sem raça definida e as demais raças acometidas foram Poodles (16,2%), Labradores (13,5%), Rottweilers (8,1%), Boxers (5,4%), Yorkshire Terrier (5,4%), Fila Brasileiro (2,7%), Pug (2,7%), Cocker Spaniel (2,7%), Bull Terrier (2,7%), Schotish Terrier (2,7%), Borzói (2,7%), Buldogue Francês (2,7%) e Bernese Mountain (2,7%). A forma anatômica mais observada foi a multicêntrica (86,5%), seguida pela esplênica (2,7%), cutânea (2,7%), mediastinal (2,7%), alimentar (2,7%) e hepática (2,7%). Quanto ao diagnóstico, 21 (56,8%) cães possuíam diagnóstico citológico, 4 (10,8%) possuíam histologia e 4 (10,8%) possuíam ambos, nos restantes dos pacientes esse dado não foi informado na ficha clínica. Os protocolos iniciais utilizados foram o de Wisconsin-Madison (56,8%), COP (32,4%), vincristina, ciclofosfamida, metotrexato e prednisona (8,1%) e doxorubicina (2,7%). O tempo médio de sobrevida dos pacientes tratados com quimioterapia foi de 12,9 meses no geral, sendo de 25,5 meses para cães ainda vivos, até outubro de 2015, e de 5,7 meses para cães que vieram a óbito até outubro de 2015. Com os resultados obtidos foi possível analisar as características destes cães e compará-las ao obtidos em outros estudos. Concluiu-se que o linfoma acomete cães a partir da meia idade, a forma mais comum encontrada nestes cães foi a multicêntrica, a média de sobrevida foi de 12,9 meses. Embora as raças encontradas no estudo possam apresentar uma propensão ao linfoma, entretanto outros estudos de prevalência devem ser realizados no hospital para uma análise mais detalhada.

Palavras-chave: Oncologia. Neoplasias. Hematopoiético. Linfócitos.

ABSTRACT

The lymphoma is a malignant neoplasm with high occurrence in dogs. We performed a retrospective study between 2012 to 2014 to analyze the characteristics of lymphoma in dogs that did chemotherapy on Veterinary Clinical Hospital of Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Data analysis was based on clinical records of patients and records of oncology department. Altogether, 37 dogs realized chemotherapy for lymphoma in this period. Of these 16 (43.2%) were female and 21 (56.8%) were male. The mean age was 7.65 years. Regarding the racial type, 29.7% of the dogs were mixed breed and others affected breed were Poodle (16.2%), Labrador (13.5%), Rottweilers (8.1%), Boxers (5.4%), Yorkshire Terrier (5.4%), Brazilian Fila (2.7%), Pug (2.7%), Cocker Spaniel (2.7%), Bull Terrier (2.7%), Scottish Terrier (2.7%), Borzoi (2.7%), French Bulldog (2.7%) e Bernese Mountain (2.7%). The most frequently observed anatomical form was multicentric (86.5%), followed by the spleen (2.7%), cutaneous (2.7%), alimentary (2.7%) and hepatic (2.7%). Regarding diagnosis, 21 (56.8%) of dogs had cytological diagnosis, 4 (10.8%) had histology and 4 (10.8%) had both; in the remaining patients this finding was not reported in the medical records. The initial protocols were used are Wisconsin-Madison (56.8%), COP (32.4%), vincristine, cyclophosphamide, methotrexate and prednisone (8.1%) and doxorubicin (2.7%). The median survival time of the patients treated with chemotherapy was 12.9 months overall, being that 25.5 months for the dogs still alive, to October 2015, and 5.7 months for dogs that died to October 2015. With these results was possible to analyze characteristics of these dogs and to compare with other studies. It was conclude that lymphoma affects dogs from middle age, the most common was multicentric; the median survival was 12.9 months. Although the breeds found in the study may present a propensity to lymphoma; however, other prevalence studies should be performed in the hospital.

Key words: *Oncology. Neoplasm. Hematopoietic. Lymphocytes.*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NCI: *National Cancer Institute*

REAL: *Revised European American Lymphoma*

ex.: exemplo

µL: microlitros

UI: unidade internacional

Kg: quilograma

IM: intramuscular

mg: miligramas

m²: metros quadrados

IV: intravenoso

VO: via oral

PCR: reação em cadeia da polimerase

OMS: Organização Mundial da Saúde

ONCOVET: Setor de Oncologia Veterinária

HCV: Hospital de Clínicas Veterinárias

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação clínica da Organização Mundial da Saúde para linfoma em cães.....	21
Quadro 2 - Esquema terapêutico do protocolo da Universidade de Wisconsin-Madison.....	24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	LINFOMA CANINO	10
2.1	Epidemiologia	10
2.2	Etiologia	10
2.3	Classificação	11
2.3.1	Classificação anatômica.....	11
2.3.2	Classificação histopatológica.....	13
2.3.3	Classificação imunofenotípica.....	14
2.4	Sinais clínicos	14
2.5	Diagnóstico	17
2.5.1	Exame físico.....	17
2.5.2	Patologia clínica.....	18
2.5.3	Exames de imagem.....	18
2.5.4	Citologia e histologia.....	19
2.5.5	Imunofenotipagem.....	20
2.6	Estadiamento	21
2.7	Tratamento	22
2.7.1	Quimioterapia.....	22
2.7.2	Cirurgia.....	25
2.7.3	Radioterapia.....	26
2.8	Prognóstico	26
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4	RESULTADOS	29
5	DISCUSSÃO	30
6	CONCLUSÃO	33
	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

As neoplasias representam um novo crescimento celular, originado de tecidos normais, que sofreram alterações genéticas. Tornam-se não responsivas a padrões de crescimento normais e se expandem além de seus limites anatômicos. Tumores são sinônimos de neoplasias malignas ou benignas, porém o termo “câncer” se refere apenas a neoplasias malignas (KUSEWITT, 2013).

Nos últimos anos, houve um grande avanço da medicina veterinária no tratamento e prevenção de doenças, o que contribuiu para uma maior longevidade dos animais de companhia (ANTUNES; MORENO; GRUMADAS, 2008; GARCIA *et. al.*, 2009 *apud* BERNO e MENDES, 2009). Com maior expectativa de vida dos cães, ocorreu um aumento concomitante dos casos de neoplasias (ANTUNES; MORENO; GRUMADAS, 2008; BERNO e MENDES, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). No Rio Grande do Sul, as neoplasias são uma das principais causas de morte em cães, ficando atrás apenas de doenças infecciosas e parasitárias (FIGHERA *et. al.*, 2008).

Os linfomas ou linfossarcomas são neoplasias malignas de tecidos linfoides que se originam principalmente na medula óssea, timo, baço, fígado e linfonodos (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; COUTO, 2009). São as principais neoplasias hematopoiéticas que acometem cães (80 - 90%) (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013) e uma das principais causas de morte e eutanásia no Rio Grande do Sul (FIGHERA *et. al.*, 2008).

A incidência anual, segundo alguns autores, varia de 6 a 33 casos em 100.000 cães expostos ao risco (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Acomete principalmente cães de meia idade ou mais velhos, entre 6 a 12 anos e não apresenta predileção por sexo (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; COUTO, 2008).

A etiologia é multifatorial, mas há alguns fatores predisponentes como exposição a herbicidas, solventes, fármacos imunossupressores e poluição (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; COUTO, 2009; ZANINI *et. al.*, 2013). Fatores genéticos também estão relacionados, sendo algumas raças mais predispostas como Boxer, Bulldog Inglês, Cocker Spaniel, Golden Retriever e Rottweiler (COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

O linfoma apresenta diferentes formas anatômicas: multicêntrica, mediastinal, alimentar, cutâneo e extranodal (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Para Couto (2009), o linfoma cutâneo está descrito dentro do extranodal. Os sinais clínicos variam conforme a localização anatômica do tumor, podendo

causar linfonomegalia, anorexia, vômitos, diarreia, lesões de pele, febre, entre outros sinais sistêmicos (CARDOSO *et. al.*, 2004a; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Inicialmente o histórico e os sinais clínicos sugerem a existência da neoplasia (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Hemograma, bioquímica sérica e exames de imagem são realizados como auxiliares do diagnóstico (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). A confirmação pode ser feita através do exame citológico e/ou histopatológico, mas segundo Couto (2009) 90% dos casos podem ser identificados através da citologia, sendo este um exame mais acessível para ser realizado nos pacientes.

O tratamento de escolha para os linfomas é a quimioterapia antineoplásica, pois são considerados tumores sistêmicos (TESKE, 1994; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; COUTO, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A definição do protocolo mais adequado para cada caso depende de fatores como localização anatômica do tumor, estado geral do paciente e disponibilidade do proprietário (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A cirurgia e/ou a radioterapia podem ser utilizadas para tratar linfomas que estão restritos a um único sítio anatômico, antes ou durante a quimioterapia (COUTO, 2009). O tratamento visa uma diminuição dos sinais clínicos e aumento da sobrevida (MADEWELL, 1975 *apud* NEUWALD, 2013).

Para Vail, Pinkerton e Young. (2013), o tempo médio de sobrevida utilizando tratamento quimioterápico, dependendo do protocolo, é de 6 a 12 meses. Couto (2009) afirma que cães não tratados possuem um tempo médio de sobrevida de 4 a 8 semanas.

Tendo em vista os aspectos abordados anteriormente, este trabalho tem por objetivo estudar os casos de cães diagnosticados com linfoma e tratados com quimioterapia antineoplásica no Setor de Oncologia do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2 LINFOMA CANINO

Os linfomas, neoplasia malignas de células linfoides, possuem origem principal em órgãos sólidos, como linfonodos, timo, fígado e baço, podendo se desenvolver em qualquer órgão devido a intensa migração de linfócitos pelos diferentes tecidos do organismo (CARDOSO *et. al.*, 2003; COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Conforme a terminologia humana, os linfomas caninos são classificados como “não-Hodgkin”, levando em conta seu comportamento biológico, epidemiológico, morfológico e fenotípico (FOURNEL-FLEURY *et.al.*, 2002; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

2.1 Epidemiologia

Os linfomas representam a terceira neoplasia maligna mais comum em cães, sendo a principal do sistema hematopoiético (DORN *et. al.*, 1967 *apud* NEUWALD *et. al.*, 2014; KELLER *et. al.*, 1993). A incidência anual é difícil de ser avaliada, porém a estimativa é de 13 a 24 cães para cada 100 mil (TESKE, 1994). Para idades específicas, a estimativa é de 1,5 cães para 100 mil com menos de 1 ano e 84 em 100 mil, para cães entre 10 e 11 anos (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Cães de qualquer idade podem ser afetados pelo linfoma, porém a maior parte dos cães acometidos é de meia idade a idosos (6 a 12 anos) (CARDOSO *et. al.*, 2003; COUTO, 2009). Apesar de controversas, a maioria dos autores afirma não haver predisposição quanto ao gênero para o aparecimento da doença (ALMEIDA, 2012; FOURNEL-FLEURY *et. al.*, 2002; TESKE, 1994).

A predisposição racial possui algumas divergências na literatura pelo fato de os levantamentos epidemiológicos serem isolados e dispersos geograficamente (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Entretanto, há uma incidência elevada nas raças Golden Retriever, Boxer, Cocker Spaniel, Poodle, Pastor Alemão, Labrador, Rottweiler e baixa em Dachshunds e Pomeranias (COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

2.2 Etiologia

A etiologia do linfoma é considerada multifatorial (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Diferentes fatores de riscos são associados, como genéticos, ambientais e imunológicos (KIMURA, 2012).

Componentes genéticos são evidentes, pois a neoplasia é mais prevalente em certas raças, como já citado anteriormente, bem como descendentes de uma mesma linhagem (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Anormalidades cromossômicas foram observadas em alguns estudos realizados em cães com linfoma. As principais alterações ocorreram nos cromossomos 13 e 31 e em menor quantidade no cromossomo 14 (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Em humanos com linfoma, as anormalidades cromossômicas são bem definidas; em cães, por outro lado, faltam estudos sobre o assunto (THOMAS *et. al.*, 2001).

Diversos fatores relacionados ao ambiente podem ser um risco ao desenvolvimento do linfoma canino (MORENO e BRACARENSE, 2007; ZANINI, 2013). A fumaça de cigarros não foi relacionada como possível causadora de linfoma em cães, como é em gatos (ZANINI, 2013). A exposição a certos herbicidas, como o ácido 2,4-diclorofenoacético (2,4-D) pode ser um potencial risco (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; MORENO e BRACARENSE, 2007; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Zanini (2013) relaciona a poluição ambiental de grandes cidades como um fator de risco, pois seu potencial tóxico pode causar alterações celulares.

Disfunções do sistema imunológico causadas por doenças autoimunes, doenças inflamatórias crônicas ou uso de medicamentos como, as ciclosporinas, já foram apontadas como causadoras de linfoma (ALMEIDA, 2012; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Causas infecciosas não foram relacionadas ao desenvolvimento desta neoplasia em cães, como ocorre em outras espécies, como gatos e bovinos (ALMEIDA, 2012; STRANDSTROM *et. al.*, 1979 *apud* NEUWALD, 2013).

2.3 Classificação

A classificação do linfoma nos cães tem sido adaptada a partir das classificações humanas (TESKE, 1994; PARODI, 2001). Para tal fim, são considerados a localização anatômica, caráter histopatológico e características imunofenotípicas do tumor (JACOBS; MUSSICK; VALLI, 2002).

2.3.1 Classificação anatômica

As formas anatômicas mais comuns em cães, na ordem decrescente de prevalência, são a multicêntrica, gastrointestinal, mediastinal e cutânea. Outras formas encontradas são as extranodais, que podem envolver o globo ocular, rins, bexiga, sistema nervoso, medula espinhal, coração e cavidade nasal (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

A forma multicêntrica caracteriza-se por linfonomegalia regional ou generalizada, com ou sem envolvimento hepático e esplênico (COUTO, 2009). Segundo Vail, Pinkerton e Young (2013), 84% dos cães com linfoma apresentam esta classificação anatômica. O aumento dos linfonodos é indolor e os cães podem apresentar perda de peso, letargia, apatia, dor e febre, mas a maioria permanece assintomática (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; NEUWALD, 2013).

O linfoma alimentar representa 5% a 7% dos linfomas em cães e ocorre mais em machos do que fêmeas. A forma primária deste tipo de linfoma é focal e afeta a parede e o lúmen intestinal, podendo causar ulceração na mucosa. O fígado e os linfonodos regionais são afetados secundariamente. Os pacientes podem apresentar vômitos, diarreia, emagrecimento, perda de peso e anorexia (COUTO, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

O linfoma mediastinal tem o envolvimento dos linfonodos mediastinais e/ou timo e ocorre em 5% dos casos (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Os pacientes podem apresentar dispneia e abafamento dos sons cardíacos (CARDOSO *et. al.*, 2004a). A presença de hipercalcemia é comum em cães com este tipo de linfoma e está relacionada a mau prognóstico (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

A forma cutânea do linfoma representa de 3% a 8% desta neoplasia no cão (ALMEIDA, 2012). Pode se apresentar de forma solitária ou generalizada, e é classificada como epiteliotrópica (micose fungoide) quando afeta a epiderme, ou não epiteliotrópica, quando afeta a derme (CARDOSO *et. al.*, 2004a; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). As lesões possuem formas variáveis e podem mimetizar qualquer lesão de pele (COUTO, 2009). A forma epiteliotrópica, em casos raros e agressivos, pode causar a chamada síndrome de Sézary, quando há células neoplásicas na circulação periférica (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Existe ainda a forma extranodal do linfoma, que pode ocorrer em qualquer órgão como o sistema nervoso central, rins, olhos, nasofaringe, ossos, testículos, vesícula urinária, entre outros (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Couto (2009) considera o linfoma cutâneo como um tipo de extranodal.

A ocorrência ocular do linfoma normalmente está associada a forma multicêntrica da doença (COUTO, 2009). Pode haver infiltração e espessamento da íris, diferentes graus de uveíte, hifema, hipópio e glaucoma (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Os linfomas no sistema nervoso central podem ser primários ou secundários a uma forma multicêntrica. É comum esta apresentação ser resultante de uma recidiva em cães tratados com quimioterapia para linfoma multicêntrico por muitos anos, pois a maioria das drogas não atravessa a barreira hematoencefálica. (COUTO, 2009).

O linfoma hepato-esplênico é uma forma atípica desta neoplasia e relativamente incomum. É marcado pela falta de linfonodopatia periférica significativa e há infiltração de linfócitos malignos no baço, fígado e medula óssea (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

2.3.2 Classificação histopatológica

Tumores linfoides são um grupo heterogêneo de neoplasias, que variam conforme sua morfologia, apresentação clínica, prognóstico e tratamento. Por estes motivos, diversos sistemas de classificação dos linfomas foram criados ao longo dos anos (PARODI, 2001). O *National Cancer Institute (NCI) Working Formulation* e o sistema atualizado de Kiel foram adaptados dos humanos para os cães com sucesso. A Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou um esquema de classificação baseada no sistema *Revised European American Lymphoma (REAL)* para definir categorias histológicas para tumores linfoides e hematopoiéticos (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

A *Word Formulation* classifica os linfomas quanto ao seu padrão tecidual (difuso ou folicular) e quanto ao tipo celular (pequeno clivado, grande e imunoblástico) (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Há também a classificação quanto ao grau de malignidade em baixo, médio e alto (PARODI, 2001).

O sistema atualizado de Kiel diferencia os linfomas de acordo com a morfologia celular (centroblástico, centrocítico ou imunoblástico) e conforme o imunofenótipo (células B, células T) (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Neste sistema também há a classificação quanto ao grau de malignidade (baixo, médio e alto grau) (PARODI, 2001).

O linfoma de baixo grau é composto por células imaturas e com baixo grau de mitose, já o de alto grau é formado por células imaturas e com baixo, médio ou alto grau de mitose (JACOBS; MUSSICK; VALLI, 2002). Os de baixo grau possuem progressão lenta e estão relacionados com maior tempo de sobrevida, porém respondem pouco ao tratamento; e os de

alto grau possuem uma rápida progressão, mas são mais responsivos a quimioterapia (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

No sistema REAL a classificação é feita combinando a morfologia celular, o imunofenótipo (células B ou células T), características genéticas e apresentações clínicas. O sistema da Organização Mundial da Saúde engloba todas as neoplasias oriundas do sistema hematopoiético. As bases para esta classificação são as mesmas do sistema REAL (PARODI, 2001).

2.3.3 Classificação imunofenotípica

A classificação imunofenotípica diferencia os linfomas em células B, células T, mistos ou células nulas (não reativo para células B, nem para células T). Esta diferenciação é realizada através do exame de imuno-histoquímica em diversos laboratórios de patologia. São desenvolvidos anticorpos monoclonais para marcarem tipos de linfócitos caninos (CANIATTI *et. al.*, 1996; MACHADO *et. al.*, 2015; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Em cães, 60% a 80% dos linfomas são originados de células B, 10% a 38% de células T, origem mista representam 22% e células nulas menos de 5% (JACOBS; MUSSICK; VALLI, 2002; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Algumas raças possuem predisposição para desenvolverem linfomas a partir de um tipo celular. Cocker Spaniels e Dobermans são mais suscetíveis a desenvolverem linfomas de células B, Boxers são mais propensos a desenvolverem linfomas de células T, já os Golden Retrievers aparentemente possuem igual propensão para desenvolverem linfomas de células T ou B (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Os cães com linfomas de origem em linfócitos T apresentam menor taxa de resposta completa a quimioterapia e menor tempo de remissão e sobrevida comparados aos cães com linfomas de origem em células B. Linfomas de células T estão associados com o surgimento de hipercalcemia e são o principal tipo celular na apresentação cutânea. Por estes motivos, a avaliação do imunofenótipo é importante para o estabelecimento do prognóstico e expectativa de resposta a quimioterapia (CANIATTI *et. al.*, 1996; MACHADO *et. al.*, 2015; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

2.4 Sinais Clínicos

Os sinais clínicos variam conforme a classificação anatômica. Os linfomas multicêntricos apresentam aumento dos linfonodos, inicialmente mandibulares, pré-escapulares e axilares com posterior evolução para linfonodomegalia generalizada. Podem apresentar sinais inespecíficos como letargia, apatia, perda de peso, hiporexia, anorexia, dor, desconforto, efusão torácica e ascite, mas na grande maioria são assintomáticos. O aumento dos linfonodos é indolor e pode levar a formação de edemas em um ou mais membros, causando dificuldade de locomoção, ou ainda causar edema generalizado. É comum o envolvimento da medula óssea e a ocorrência de hepatoesplenomegalia, que pode ser detectada através da palpação. A infiltração pulmonar é observada em 27% a 34% dos casos de linfomas multicêntricos e pode ser detectada através da radiografia torácica (CARDOSO *et. al.*, 2004a; COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; JACOBS *et. al.*, 2002; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Na forma mediastinal há um aumento de estruturas craniais ao mediastino e/ou timo (CARDOSO *et. al.*, 2004a; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). É comum os cães apresentarem dispneia, tosse e regurgitação de início recente, resultantes da efusão pleural ou formação neoplásica no mediastino (COUTO, 2009, DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Poliúria e polidipsia são observadas com frequência devido a hipercalcemia. Cães com este tipo de linfoma comumente apresentam síndrome da veia cava cranial secundária a compressão tumoral, em que há edema na cabeça, pescoço e membros anteriores (CARDOSO *et. al.*, 2004a; COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; JACOBS; MUSSICK; VALLI, 2002; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

No linfoma alimentar, os principais sinais clínicos são hiporexia, anorexia, perda de peso, má absorção, esteatorreia, diarreia, melena e vômito (CARDOSO *et. al.*, 2004a; COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; JACOBS; MUSSICK; VALLI, 2002; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Em certos casos, podem haver sinais compatíveis com obstrução intestinal ou peritonite, o que dificulta o diagnóstico (COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Podem estar envolvidos linfonodos mesentéricos, baço e fígado (CARDOSO *et. al.*, 2004a; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

O linfoma cutâneo se apresenta de forma generalizada ou multifocal (CARDOSO *et. al.*, 2004a; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). As lesões são variáveis, mimetizando qualquer lesão de pele, primária ou secundária (COUTO, 2009). As lesões se iniciam com eritema, descamação, despigmentação e alopecia e evoluem para formação de placas, nódulos e ulcerações (CARDOSO *et. al.*, 2004a; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Também podem ocorrer dermatite esfoliativa com hipopigmentação focal, alopecia e seborreia (CARDOSO *et. al.*, 2004a; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). O prurido varia de ausente

a intenso, mas sua ocorrência é comum. Também podem ser afetadas junções muco-cutâneas, incluindo a cavidade oral (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

O linfoma epiteliotrópico de células T (micose fungoide) possui três estágios clínicos. Inicialmente, há descamação, alopecia e prurido. Com a progressão da doença, a pele se torna mais eritematosa, espessa, ulcerada e exsudativa. No estágio final há proliferação de placas e nódulos com ulceração progressiva (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A micose fungoide é uma formação dermoepidérmica circular, elevada, eritematosa, em forma de anel, que contém pele normal no centro (COUTO, 2009). Esta lesão apresenta curso crônico, e, frequentemente os pacientes possuem histórico de dermatite fúngica não responsiva ao tratamento (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). O envolvimento oral pode ocorrer como múltiplas placas eritematosas ou nódulos associados aos lábios e gengiva. Também pode ocorrer envolvimento extra cutâneo de linfonodos, baço, fígado e medula óssea. O linfoma cutâneo não epiteliotrópico pode ser simples ou múltiplo, afetar a derme ou o subcutâneo e se apresentar sob a forma de nódulos ou placas. (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Os sinais clínicos de linfomas extranodais variam conforme o órgão afetado. Cães com linfoma cardíaco apresentam intolerância ao exercício, tosse e arritmias. Quando há localização no sistema nervoso central ocorrem convulsões, paralisias e paresias. No linfoma ocular são observados fotofobia, blefaroespasma, epífora, hifema, hipópio, formações oculares, infiltração da terceira pálpebra, infiltração do nervo ótico, uveíte anterior, glaucoma, envolvimento coriorretinal e deslocamento da retina. O linfoma renal nos cães é raro e os sinais estão associados a insuficiência renal, podendo os rins estarem aumentados de tamanho (CARDOSO *et. al.*, 2004a; COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Ocasionalmente os animais são avaliados clinicamente por causa de sinais de uma síndrome paraneoplásica (COUTO, 2009). Estas síndromes são sinais distantes do tumor ou de suas metástases e que não são causadas por formação, obstrução ou efeito da neoplasia, podendo envolver vários sistemas do organismo (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). As encontradas em cães com linfoma foram hipercalcemia, gamopatias monoclonais ou policlonais, citopenias imunes, polineuropatias, febre e hipoglicemia (COUTO, 2009; JACOBS; MUSSICK; VALLI, 2002; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

No linfoma, a hipercalcemia é a única síndrome paraneoplásica de relevância clínica, causando sinais como anorexia, perda de peso, fraqueza muscular, letargia, poliúria, polidipsia, podendo resultar em alterações no sistema nervoso central e coma (COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Há diversos

mecanismos moleculares subjacentes a hipercalcemia, mas na maioria dos casos, acredita-se que se deva a produção de uma proteína semelhante ao paratormônio, chamada PTHrp, pelas células neoplásicas (COUTO, 2009).

Os linfomas mimetizam diversas patologias, e por este motivo, diferentes doenças devem ser consideradas no seu diagnóstico diferencial. O diagnóstico diferencial para a linfonodopatia vai depender da história clínica, tamanho, consistência e localização dos linfonodos afetados (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Outras doenças que causam linfonodomegalia podem ser de origem infecciosa (ex: erliquiose, leishmaniose, toxoplasmose), imunomediada (ex: lúpus e pênfigo) ou metástases de outras neoplasias. Nos linfomas mediastinais ou multicêntricos que causam efusão pleural, é preciso realizar diagnóstico diferencial para insuficiência cardíaca, hemotórax, quilotórax ou piotórax, além de outras neoplasias como mesotelioma e timoma. Para diagnóstico diferencial de linfoma gastrointestinal há as enterites com infiltrado linfocítico-plasmocitário, corpos estranhos, gastrites ou úlceras e neoplasias do trato gastrointestinal. No diagnóstico diferencial de linfoma cutâneo estão as dermatites fúngicas e bacterianas (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

2.5 Diagnóstico

O diagnóstico para cães com suspeita de linfomas inclui o exame físico, perfil sanguíneo completo e perfil de bioquímica sérica, exames de imagem para avaliação dos órgãos internos. A coleta de material e envio para citologia ou biópsia, é essencial para o fechamento do diagnóstico (CARDOSO *et. al.*, 2003; NEUWALD, 2013, VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

2.5.1 Exame físico

O exame físico inclui a palpação de todos os linfonodos palpáveis, incluindo o exame retal. Segundo Vail, Pinkerton e Young (2013), uma proporção significativa dos cães terá pólipos retais de agregados neoplásicos linfoides. A inspeção da mucosa deve ser feita para identificar palidez, icterícia, petéquias ou ulcerações. A palpação abdominal revela o aumento de órgãos internos e linfonodos mesentéricos e espessamento da parede intestinal. Massas no mediastino e/ou efusão pleural podem ser suspeitadas através da ausculta cardiopulmonar. O exame oftalmológico inclui o exame de fundo de olho, o qual revela anormalidades em um terço a metade dos cães com linfoma (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

2.5.2 Patologia clínica

Várias alterações inespecíficas podem ser detectadas. Normalmente hemograma e bioquímica sérica não são diagnósticos definitivos (COUTO, 2009). Entretanto, todos os casos suspeitos de linfomas requerem uma avaliação hematológica de rotina para auxiliar na determinação do estágio da doença, comparar futuras análises e para determinar o grau de mielossupressão causado pelo tratamento (CARDOSO *et. al.*, 2004b; MORRIS e DOBSON, 2007 *apud* NEUWALD, 2013).

No hemograma, a principal anormalidade hematológica encontrada é a anemia não regenerativa, normalmente normocítica, normocrômica e de caráter crônico (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Outras alterações hematológicas presentes com frequência são a leucocitose, neutrofilia (com ou sem desvio a esquerda), monocitose, células linfóides anormais em sangue periférico, trombocitopenia e citopenias isoladas associadas a reações leucocitárias. A linfocitose é rara e quando presente é de baixa magnitude (<10.000 a 12.000/ μ L) (COUTO, 2009). Estas anormalidades hematológicas resultam do comprometimento da medula óssea pelo linfoma, que leva a uma hematopoiese reduzida ou pode ser resultante de sequestro esplênico ou anormalidades imunomediadas (CARDOSO *et. al.*, 2004b; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

O perfil bioquímico de pacientes com linfoma está frequentemente alterado. O aumento da atividade das enzimas hepáticas permite inferir um possível comprometimento do fígado (CARDOSO *et. al.*, 2004b; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). A hipercalcemia ocorre em 20% a 40% dos casos de linfoma e principalmente nos de células T (COUTO, 2009). A função renal anormal, normalmente acompanha a hipercalcemia. Outras alterações observadas são hipoalbuminemia, hiperproteinemia e gamopatias monoclonais (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

2.5.3 Exames de imagem

A radiografia e ultrassonografia são importantes para avaliações torácicas e abdominais, determinar a extensão do envolvimento interno, estadiamento clínico e para diagnóstico diferencial de linfoma (BLACKWOOD; SULLIVAN; LAWSON, 1997; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Outras modalidades diagnósticas, menos exploradas em veterinária são a tomografia computadorizada, ressonância magnética e tomografia por emissão de pósitrons (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Assim como todas as radiografias em pacientes oncológicos, deve-se fazer três projeções torácicas nos pacientes com linfoma (ventro-dorsal, latero-lateral direita e latero-lateral esquerda) (BRYAN, 2010 *apud* ALMEIDA, 2012). As anormalidades radiográficas variam conforme a localização do linfoma, mas em geral estão associadas a linfonodomegalia e aumento de órgãos, como fígado, baço e rins (COUTO, 2009). Embora muitos cães apresentem múltiplas anormalidades, grande parte dos animais pode apresentar uma única alteração ou não possuir alterações radiológicas (BLACKWOOD; SULLIVAN; LAWSON, 1997).

As principais alterações radiográficas observadas no tórax de cães com linfoma multicêntrico incluem linfonodopatia esternal ou traqueobrônquica, ou ambas; infiltrado pulmonar intersticial, broncoalveolar ou misto e efusão pleural (COUTO, 2009). Aproximadamente 60% a 70% dos cães com linfomas multicêntricos possuem anormalidades em radiografias torácicas, sendo que um terço tem evidências de infiltração pulmonar e dois terços possuem linfonodopatia torácica e alargamento do mediastino anterior (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A linfonodopatia mediastinal anterior está presente em 20% dos casos de linfomas em cães (BLACKWOOD; SULLIVAN; LAWSON, 1997; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Nos linfomas mediastinais, as alterações radiográficas são normalmente limitadas ao achado de uma formação mediastinal anterior com ou sem efusão pleural (COUTO, 2009).

A ultrassonografia abdominal constitui uma ferramenta inestimável para avaliação de cães e gatos com linfoma abdominal confirmado ou com suspeita. A alteração na ecogenicidade de órgãos parenquimatosos (como fígado, rins e baço) normalmente se refere a mudanças na textura do órgão, secundárias a infiltração neoplásica. O aumento de estruturas ou órgãos linfoides pode ser facilmente detectado por esta técnica. As anormalidades comumente encontradas são hepatomegalia, esplenomegalia, alterações na ecogenicidade do fígado ou baço, espessamento intestinal, linfonodopatia, massas esplênicas e efusão (COUTO, 2009). A biópsia ou punção aspirativa por agulha fina guiadas pelo ultrassom, também podem ser realizadas (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

2.5.4 Citologia e histologia

A avaliação morfológica dos tecidos e células que constituem o tumor é essencial para o diagnóstico do linfoma (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Por este motivo, antes de

instituir o tratamento baseado nos sinais clínicos e no exame físico, é preciso confirmar o diagnóstico através de citologia ou histologia (COUTO, 2009).

A citologia é de grande importância para o diagnóstico do linfoma (JACOBS; MUSSICK; VALLI, 2002). A análise citológica é realizada a partir de amostras, obtidas através do método de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) (COUTO, 2009). É um procedimento minimamente invasivo, oferece diagnóstico quase imediato, com baixo índice de falso-negativo e é de fácil realização (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). O líquido ascítico ou de efusão torácica e o cérebro-espinhal, também podem ser avaliados pela citologia (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Segundo Couto (2009), 90% dos casos de linfomas em cães podem ser diagnosticados por este método. Entretanto, em alguns casos é difícil diferenciar um tecido linfóide normal de um reativo somente com a citologia, por este motivo a análise histológica do linfonodo deve ser realizada em todos os casos suspeitos (MEINKOTH; COWELL; TYLER, 2008; RASKIN, 2012).

O exame histopatológico é realizado em amostras obtidas através de biópsia excisional. Para Couto (2009), até que se comprove que a classificação histopatológica de linfomas em cães ofereça informações prognósticas, a remoção de um linfonodo ou formação extranodal em um paciente que já possui exame citológico de linfoma, não é necessária. O exame citológico possui vantagens em relação ao histopatológico porque possui mínima ou nenhuma morbidade e é financeiramente aceitável aos tutores (COUTO, 2009). Em casos de linfomas alimentares e cutâneos, a histopatologia é mais indicada para diagnóstico (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

2.5.5 Imunofenotipagem

Estabelecer o imunofenótipo (origem em linfócitos B ou T) é de grande importância para o prognóstico do linfoma, pois contribui para tipificar os linfomas caninos e definir planos diagnósticos (CANIATTI *et. al.*, 1996; FOURNEL-FLEURY *et. al.*, 1997). Aproximadamente 70% dos cães apresentam linfomas de linfócitos B, variando de 10% a 40% o de células T e o de células nulas, representando 2% dos casos (JOACOBS; MUSSICK; VALLI, 2002). Pacientes com linfomas de células T possuem prognóstico desfavorável e tempo de remissão e sobrevida menores, além de não responderem bem ao tratamento quimioterápico (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

O imunofenótipo pode ser determinado através da imunocitoquímica, imunohistoquímica, citometria de fluxo e reação em cadeia da polimerase (PCR). A imunocitoquímica

e a imuno-histoquímica são as técnicas mais realizadas, em que anticorpos marcados são aplicados em tecidos, amostras citológicas ou meios com fluidos (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Os marcadores de linfócitos B são CD79a, CD20, CD21 e os de linfócitos T incluem o CD3, CD4 e CD8 (THOMAS *et. al.*, 2001; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Quando não há imunorreatividade para estes anticorpos, o imunofenótipo é considerado nulo (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Em humanos, a citologia associada a imunocitoquímica tem sido aplicada consistentemente como forma de diagnóstico e classificação da maioria dos linfomas e possui uma acurácia semelhante à da imuno-histoquímica realizada de cortes de tecidos (CANIATTI *et. al.*, 1996).

2.6 Estadiamento

Após o estabelecimento do diagnóstico, a extensão da doença deve ser determinada e categorizada com base no seu estágio clínico (COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). O diagnóstico de imagem e avaliação da medula óssea são indicados para este fim (OWEN, 1980; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). As informações clínicas e clinicopatológicas do paciente são utilizadas para determinar a extensão da doença, correlacioná-la ao prognóstico e contribuir para a escolha do tratamento (COUTO, 2009, DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; MORENO e BRACARENSE, 2007; OWEN, 1980; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

O estadiamento delineado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) foi utilizado para cães nos últimos anos (Quadro 1) (COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; OWEN, 1980). Este sistema é derivado do sistema TNM (tumor, linfonodos regionais e metástase a distância) para neoplasias em humanos (COUTO, 2009). Os linfomas são classificados em graus de I a V (MORENO e BRACARENSE, 2007). Mais de 80% dos cães se apresentam em estágios avançados (III ou IV), pela dificuldade dos tutores em identificar estágios iniciais da doença (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Cães assintomáticos (subestágio a) possuem melhor prognóstico do que cães com sintomas (subestágio b) (COUTO, 2009).

Quadro 1 - Classificação clínica da Organização Mundial da Saúde para linfoma em cães

Estádio I: envolvimento limitado a um linfonodo ou tecido linfoide (exceto medula óssea)
Estádio II: envolvimento de linfonodos regionais

Estádio III: aumento generalizado dos linfonodos

Estádio IV: envolvimento do fígado e/ou baço, com ou sem estágio I, II ou III

Estádio V: envolvimento do sangue, medula óssea, com ou sem estágios I, II, III ou IV

a = sem sinais sistêmicos b = com sinais sistêmicos

As letras a e b são subclassificações de todos os estádios.

Fonte: OWEN, 1980, p. 47. (Adaptado pela autora).

2.7 Tratamento

Após concluído o diagnóstico de linfoma deve-se começar o tratamento, existindo diversas opções terapêuticas (CARDOSO *et. al.*, 2003; COUTO, 2009). O objetivo do tratamento do linfoma é a cura ou o prolongamento significativo da vida e a redução dos sinais clínicos (MADEWELL, 1995 *apud* NEUWALD, 2013). A terapia é determinada pelo estágio e subestágio da doença, presença ou ausência de síndrome paraneoplásica, estado físico geral do paciente, disponibilidade de tempo e condição financeira dos tutores e a qualidade de vida que será obtida com o tratamento (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

A quimioterapia é o tratamento de escolha, devido ao fato de que linfomas são neoplasias sistêmicas (COUTO, 2009; CARDOSO *et. al.*, 2003; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Com o tratamento clínico há taxas elevadas de remissão e aumento da sobrevida quando comparados a pacientes não tratados (KELLER *et. al.*, 1993; CARDOSO *et. al.*, 2003). Cães não tratados possuem tempo médio de sobrevida de quatro a oito semanas (COUTO, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Muitos tutores não iniciam o tratamento do seu cão pelos custos elevados da quimioterapia e pela relutância em relação ao tratamento (CARDOSO *et. al.*, 2003). A cirurgia, radioterapia ou ambas podem ser utilizadas para tratar linfomas localizados antes ou durante a quimioterapia (COUTO, 2009; VAIL *et. al.*, 2013).

2.7.1 Quimioterapia

A quimioterapia melhora muito o tempo de sobrevida dos cães com linfoma (KELLER *et. al.*, 1993). A poliquimioterapia, ou seja, a utilização de mais de um agente quimioterápico em combinação, é a modalidade terapêutica mais utilizada e eficiente (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; MOORE *et. al.*, 2001; RODASKI & DE NARDI, 2008; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A maioria dos cães tratados com protocolos quimioterápicos

de múltiplos agentes pode viver por mais de 12 a 16 meses, sendo que aproximadamente 20% a 30% dos cães estão vivos dois anos após o diagnóstico (COUTO, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

A quimioterapia antineoplásica para os linfomas fundamenta-se em três etapas: indução, manutenção e reindução da remissão ou terapia de resgate (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). A remissão nos cães com linfoma tratados com quimioterapia é em torno de 80% e o tempo de remissão varia de quatro a oito meses (COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Na fase de indução as doses são maiores e o intervalo das sessões de quimioterapia são menores, tendo como objetivo provocar a remissão da neoplasia (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; RODASKI e DE NARDI, 2008). Após a remissão, durante a fase de manutenção, as doses são menores e o intervalo entre as sessões é maior, com o objetivo de manter a remissão clínica (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; RODASKI e DE NARDI, 2008). A terapia de resgate é a tentativa de uma segunda ou terceira remissão com um curso agressivo de quimioterapia (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

Os agentes quimioterápicos mais eficientes para o linfoma canino incluem doxorrubicina, vincristina, ciclofosfamida e prednisona, os quais são utilizados como primeira linha nos protocolos de poliquimioterapia. Outras drogas consideradas de segunda linha incluem lomustina, vimblastina, actinomicina-D, mitoxantrona, clorambucil e metotrexato. Com exceção da doxorrubicina, a quimioterapia de indução utilizando um agente único normalmente não resulta em remissões duradouras quando comparado ao uso de protocolos de poliquimioterapia (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

A maior parte dos protocolos para linfoma são baseados no protocolo “CHOP” para humanos, no qual estão presentes os agentes ciclofosfamida (C), doxorrubicina (H, hidroxydaunorubicin), vincristina (O, Oncovin®) e prednisona (P). Os protocolos baseados em CHOP induzem a remissão em aproximadamente 80% a 95% dos casos, com média de sobrevida de 10 a 12 meses. Aproximadamente 20% a 25% dos cães tratados com estes protocolos vivem dois anos após o início do tratamento (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Um dos protocolos mais utilizados é o da Universidade de Wisconsin-Madison. Os pacientes que utilizam este protocolo apresentam sobrevida de um a dois anos e remissão completa de 93% (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; RODASKI e DE NARDI, 2008). São utilizados os agentes L-asparaginase (400 UI/Kg, IM), ciclofosfamida (250 mg/m², IV), vincristina (0,7 mg/m², IV), doxorrubicina (30 mg/m², IV) e prednisona (0,5 a 2 mg/m², VO, a cada 24h) (RODASKI e DE NARDI, 2008).

O esquema de administração do protocolo da Universidade de Wisconsin-Madison (Quadro 2) é baseado em 4 ciclos, de 4 sessões cada. São realizadas sessões a cada 7 dias e, ao final de cada ciclo, o paciente faz um intervalo de uma semana antes de iniciar novo ciclo. Na primeira semana do primeiro ciclo é administrado vincristina, L- asparaginase e prednisona (2 mg/kg), na segunda semana ciclofosfamida e prednisona (1,5 mg/kg), na terceira semana vincristina e prednisona (1 mg/kg) e na quarta semana doxorrubicina e prednisona (0,5 mg/kg), na quinta semana há um intervalo. Nos ciclos seguintes não há administração de L-asparaginase e prednisona, já a administração dos demais fármacos permanece igual ao primeiro ciclo (RODASKI e DE NARDI, 2008; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A L-asparaginase pode ser suspensa no início do protocolo, uma vez que sua administração não altera a resposta ao tratamento e o tempo de sobrevida, podendo ser utilizada posteriormente como terapia de resgate (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

Quadro 2 – Esquema terapêutico do protocolo da Universidade de Wisconsin-Madison

Semana 1 Vincristina, L-asparaginase, prednisona (2 mg/kg)
Semana 2 Ciclofosfamida, prednisona (1,5 mg/kg)
Semana 3 Vincristina, prednisona (1 mg/kg)
Semana 4 Doxorrubicina, prednisona (0,5 mg/kg)
Semana 6 Vincristina
Semana 7 Ciclofosfamida
Semana 8 Vincristina
Semana 9 Doxorrubicina
Semana 11 Vincristina
Semana 12 Ciclofosfamida
Semana 13 Vincristina
Semana 14 Doxorrubicina
Semana 16 Vincristina
Semana 17 Ciclofosfamida
Semana 18 Vincristina
Semana 19 Doxorrubicina

Fonte: VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013, p. 622. (Adaptado pela autora).

Levando-se em conta o caráter mielossupressivo dos agentes antineoplásicos, deve-se realizar hemograma completo do paciente a cada sessão, pois a leucopenia é um fator limitante do tratamento. Preconiza-se que os pacientes apresentem valores acima de 2.000 leucócitos/ μ L

e 70.000 plaquetas/ μ L para administração dos antineoplásicos. Caso a contagem dessas células esteja inferior a estes valores, deve-se suspender a quimioterapia por uma semana e restituir posteriormente com doses menos intensas e frequentes (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

Após o início do tratamento quimioterápico, deve-se monitorar a resposta do paciente a cada sessão e classificá-la em remissão completa, remissão parcial, doença estável e doença progressiva (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). A remissão completa é o desaparecimento da doença clínica. A remissão parcial é a diminuição em 50% do tamanho do tumor, sem evidência de novos focos. A doença estável é quando há uma diminuição ou aumento em até 50% do tamanho do tumor, sem desenvolvimento de outro foco. A doença progressiva ocorre quando há aumento de pelo menos 50% do tamanho do tumor ou aparecimento de novos tumores (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; RODASKI e DE NARDI, 2008).

Fatores como localização anatômica, classificação histológica, imunofenótipo, estágio clínico e presença de hipercalcemia influenciam na resposta ao tratamento (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). Outro fator decisivo é a “resistência a múltiplos fármacos”, fenômeno em que há resistência cruzada das células a uma variedade de agentes que não estão estruturais ou funcionalmente relacionados (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Muitos cães toleram bem a quimioterapia, embora a redução das doses e as quebras de tratamentos não sejam incomuns; uma minoria dos cães desenvolve efeitos adversos que requerem hospitalização. Cães que respondem bem a quimioterapia e evoluem para remissão completa, ficam livres dos sinais clínicos associados ao linfoma e conseqüentemente, mantêm boa qualidade de vida (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

2.7.2 Cirurgia

Se a cirurgia for realizada com fim terapêutico, esta é eficaz somente nos estádios iniciais (I ou II) ou para nódulos isolados (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Indica-se a esplenectomia nos linfomas esplênicos não responsivos a quimioterapia. Pacientes com linfoma esplênico que associam quimioterapia à esplenectomia apresentam maior sobrevida (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009). A cirurgia também pode ser utilizada como ferramenta para o diagnóstico em casos de linfomas

mediastinais sem diagnóstico confirmado, laparotomia exploratória nos linfomas alimentares e retirada de massas cutâneas solitárias (MORRIS e DOBSON, 2007 *apud* NEUWALD, 2013).

2.7.3 Radioterapia

Por se tratar de uma neoplasia sistêmica, o uso desta modalidade para linfomas se torna limitada (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A radioterapia é indicada apenas em situações críticas, no tratamento de nódulos isolados em associação ou não a quimioterapia antineoplásica, quando se deseja rápida redução do tamanho tumoral (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Entretanto, a utilização no tratamento do linfoma resistente a quimioterapia é uma alternativa válida (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Quando aplicada ao corpo inteiro causa intensa mielossupressão e deve ser associada ao transplante autólogo de medula óssea (COUTO, 2009; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A radioterapia (200Gy, dividida em 6 sessões ao longo de duas semanas) pode promover a redução completa do tecido neoplásico (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

2.8 Prognóstico

O prognóstico para cães é variável e depende de uma grande variedade de fatores que afetam a resposta ao tratamento. O linfoma é raramente curável em cães (menos de 10% dos casos). Os dois fatores prognósticos mais consistentes são a imunofenotipagem e os subestágios da Organização Mundial da Saúde (OMS). Cães com linfomas derivados de linfócitos T possuem curta remissão e pequeno tempo de sobrevida. Pacientes com subestágio b (com doença clínica) da OMS possuem prognóstico pobre quando comparados aos com subestágio a (sem doença clínica). Cães com estágios I e II têm melhor prognóstico do que cães em estágios III, IV e V (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; KELLER *et. al.*, 1993; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

Quanto a histologia, cães classificados como médio ou alto grau respondem a quimioterapia, mas possuem uma rápida recaída. Cães com linfomas de baixo grau respondem pobremente a quimioterapia, mas possuem vantagem quanto a sobrevida, quando comparados aos com médio e alto grau (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013).

A localização anatômica também é um fator prognóstico importante (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009; VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Linfomas cutâneos primários, alimentares, hepatoesplênicos e primários no sistema nervoso central possuem um diagnóstico pobre (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). Nos linfomas multicêntricos há maior tempo de sobrevida e melhor resposta ao tratamento; já nos mediastinais, os pacientes vivem poucas semanas ou meses e possuem resposta variável a quimioterapia (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

Em alguns estudos o sexo tem influência no prognóstico. Fêmeas tendem a apresentar melhor prognóstico, pois cães macho possuem incidência elevada de linfomas de células T (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013). A presença de hipercalcemia também é considerada no prognóstico, pois tumores que estão associados a ela são muito agressivos (DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se um estudo retrospectivo entre os anos de 2012 a 2014 de cães com linfoma que realizaram quimioterapia antineoplásica no Setor de Oncologia Veterinária do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ONCOVET-HCV-UFRGS). Neste trabalho se fez um levantamento da idade, raça, sexo, localização anatômica do tumor, método de diagnóstico, protocolos quimioterápicos iniciais e tempo de sobrevida após início do tratamento. Cães que realizaram quimioterapia para tratamento de linfoma neste período, mas que já haviam sido tratados anteriormente, foram excluídos do estudo.

A coleta dos dados foi realizada com base nos prontuários clínicos dos pacientes e nos registros de quimioterapia do Setor de Oncologia. A análise dos dados foi avaliada através de estatística descritiva.

4 RESULTADOS

Um total de 37 cães com linfoma iniciou quimioterapia no setor de Oncologia Veterinária no período de 2012 a 2014. Destes, 21 (56,8%) eram machos e 16 (43,2%) fêmeas. Quanto à faixa etária, a média de idade dos pacientes foi de 7,65 anos, variando de 3 a 14 anos, sendo que em um dos cães a idade era desconhecida.

Em relação ao tipo racial, 11 cães (29,7%) eram sem raça definida, 6 (16,2%) da raça Poodle, 5 (13,5%) Labrador, 3 (8,1%) Rottweiler, 2 (5,4%) Yorkshire Terrier, 2 (5,4%) Boxer, 1 (2,7%) Fila Brasileiro, 1 (2,7%) Pug, 1 (2,7%) Cocker Spaniel, 1 (2,7%) Bull Terrier, 1 (2,7%) Scottish Terrier, 1 (2,7%) Borzói, 1 (2,7%) Buldogue Francês, 1 (2,7%) Bernese Mountain. Quanto a classificação anatômica, 32 (86,5%) dos casos ocorreu a forma multicêntrica, em 1 (2,7%) caso a forma esplênica, 1 (2,7%) mediastinal, 1 (2,7%) hepática, 1 (2,7%) alimentar e 1 (2,7%) cutânea.

Levando-se em conta os exames realizados, 21 (56,8%) cães possuíam somente exame citológico, 4 (10,8%) somente exame histopatológico e 4 (10,8%) possuíam ambos os exames. Nos 8 (21,6%) cães restantes, não foi encontrado essa informação nos prontuários clínicos. Um dos cães que possuía somente exame histopatológico também realizou exame de imunohistoquímica, que se mostrou compatível com células de origem B. As formas anatômicas dos cães que realizaram somente exame citológico eram multicêntricas e hepática; nos exames histopatológicos eram as formas multicêntrica, alimentar, esplênica e cutânea; os que realizaram ambos os exames possuíam a forma multicêntrica. O cão que realizou o exame de imunohistoquímica possuía apresentação esplênica.

Quanto ao tratamento inicial, 21 (56,8%) cães iniciaram o tratamento com o protocolo Wisconsin-Madison (CHOP); 12 (32,4%) com o protocolo COP (ciclofosfamida, vincristina e prednisona); 3 (8,1%) com o protocolo ciclofosfamida, vincristina, prednisona e metotrexato; 1 (2,7%) com quimioterapia de agente único utilizando doxorrubicina.

Dos 37 cães, 8 estavam vivos até outubro de 2015, sendo que 3 permaneciam em tratamento. Estes 8 cães apresentaram um tempo médio de sobrevida desde o início do tratamento quimioterápico de 25,5 meses. Até o mesmo mês 14 cães vieram a óbito e apresentaram tempo médio de sobrevida desde o início do tratamento de 5,7 meses. A média total de sobrevida destes 22 cães foi de 12,9 meses. Dos 15 cães restantes, 1 não voltou para revisão e os demais interromperam tratamento por motivos pessoais, financeiros ou sem aviso dos tutores, por este motivo, não foi possível estabelecer uma média de sobrevida para estes cães.

5 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que não houve grande diferença quanto ao número de machos e fêmeas tratados para o linfoma. Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo realizado em Porto Alegre por Neuwald *et. al.* (2014) e no Paraná por Moreno e Bracarense. (2007). Apesar de controversas na literatura, a maioria dos autores acredita que não haja predisposição quanto ao sexo para o linfoma (ALMEIDA, 2012; DALECK; DE NARDI; RODASKI, 2009).

A média de idade, de 7,65 anos, difere em aproximadamente um ano para mais dos resultados obtidos por Teske *et. al.* (1995) e Moreno e Bracarense (2007) e em 1 ano e meio para menos, do estudo de Neuwald *et. al.* (2014). Entretanto, o resultado obtido se manteve em concordância com o citado pela literatura, sendo este um tumor de cães de meia idade a idosos (COUTO, 2009) e com o estudo de CANIATTI *et. al.* (1996), em que a média de idade foi 7 anos.

A prevalência de ocorrência em determinadas raças difere entre os diversos estudos, porém as raças Rottweiler, Cocker Spaniel, Boxer, Scottish Terrier, Labrador, Poodle, Fila Brasileiro, Yorkshire Terrier, Bernese Mountain e Bull Terrier já foram observadas em outros levantamentos de linfoma, (BLACKWOOD *et. al.*, 1997; CARDOSO *et. al.*, 2003; MORENO e BRACARENSE, 2007; NEUWALD *et. al.*, 2014; SUEIRO; ALESSI; VASSALLO, 2004; ZANINI *et. al.*, 2013) o que poderia significar predisposição racial destas raças para o desenvolvimento desta neoplasia. Entretanto, não há estudos da composição racial dos cães atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, podendo esta frequência estar relacionada a proporção de cães atendidos no Setor de Oncologia e não com uma predisposição racial diretamente. Uma maior quantidade de cães sem raça definida também foi observada no estudo de Cardoso *et. al.* (2003) e Neuwald *et. al.* (2014), já no estudo de Moreno e Bracarense (2007), houve maior prevalência de cães com raça definida. A diferença entre as raças presentes em diversos estudos provavelmente está relacionada ao fato destes estudos serem dispersos geograficamente, havendo maior prevalência de raças em uma determinada região do que em outras (DALECK; DE NARDI, RODASKI, 2009).

A maior ocorrência da forma multicêntrica está de acordo com o registrado em outros estudos (CARDOSO *et. al.*, 2013; MORENO e BRACARENSE, 2007; NEUWALD *et. al.*, 2014). A forma alimentar teve 2,7% de ocorrência, sendo menor do que o citado por Vail, Pinkerton, e Young, como de 5-7%, mas apresentou valor próximo ao encontrado por Neuwald *et. al.* (2014) com 3% e por Cardoso *et. al.* (2003) com 3,7%. A forma alimentar pode estar

sendo subdiagnosticada por apresentar sinais inespecíficos e ser confundida com outras doenças de trato gastrointestinal. A forma cutânea (2,7%) apresentou uma ocorrência menor do que o encontrado no estudo de Neuwald *et. al.* (2014), em que esta forma representou 7% e por Moreno e Bracarense, no Paraná, onde foi encontrado 12,9% de ocorrência. A forma mediastinal (2,7%) também apresentou baixa ocorrência quando comparada ao estudo de Cardoso *et. al.* (2003), em que esta forma ocorre em 18,5% dos casos e ao citado por Vail, Pinkerton e Young (2013), como sendo 5%. A forma esplênica é uma apresentação rara de linfoma (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013), neste trabalho representou uma ocorrência de 2,7%, obtendo resultados semelhantes aos encontrados por Neuwald *et. al.* (2014), com 3% dos casos.

A maioria dos cães em que os exames diagnósticos foram localizados, realizaram citologia, provavelmente por ser um exame mais acessível aos tutores e segundo Couto (2009) uma grande parte dos linfomas poderem ser confirmados através deste exame. Houveram 4 cães que realizaram somente exame histopatológico, devido à localização anatômica (cutânea, esplênica e alimentar) que requerem cirurgia, ou por solicitação do clínico responsável, no caso da localização multicêntrica. Outros 4 cães realizaram ambos os exames, provavelmente por ter permanecido uma suspeita quanto a diferenciação do tecido linfóide no exame citológico e segundo Raskin (2012), é necessário a realização do exame histopatológico para confirmação. Em apenas um caso foi realizado o exame de imuno-histoquímica, provavelmente pelo custo elevado do exame e por falta de solicitação dos clínicos para a realização deste. Porém, a imuno-histoquímica contribui para conhecimento do prognóstico e expectativa de resposta a quimioterapia (VAIL; PINKERTON; YOUNG, 2013), devendo ser realizada com maior frequência para cães com diagnóstico de linfoma.

O principal protocolo inicial de quimioterapia utilizado foi o de Wisconsin-Madison (CHOP), seguido pelo protocolo COP, o que está em concordância ao citado pela literatura como sendo os principais protocolos de poliquimioterapia utilizados para linfoma (COUTO, 2009; DALECK, RODASKI; DE NARDI, 2009; VAIL, PINKERTON; YOUNG, 2013). O uso de um protocolo é determinado pelo estado clínico do paciente, condições financeiras e tempo disponível dos tutores. Segundo Vail, Pinkerton e Young (2013) estudos de eficácia comparando protocolos ainda são limitados em veterinária, por não incluírem números suficientes para realização de estatística e não os comparar de forma prospectiva randomizada.

O tempo médio de sobrevida a partir do início do tratamento foi de 12,9 meses, superior ao observado no estudo de Cardoso *et. al.* (2003), em que a média de sobrevida dos cães tratados foi de 4,5 meses e pouco a cima do citado por Vail, Pinkerton e Young (2013), como sendo

entre 6 e 12 meses para cães tratados. Entretanto, maiores afirmações quanto a sobrevida e relação desta com os protocolos utilizados não podem ser feitas, por falta de um grupo controle neste estudo.

6 CONCLUSÃO

Com a realização deste estudo concluiu-se que o linfoma não apresenta predisposição quanto ao sexo. É uma neoplasia que afetou cães com média de idade de 7,65 anos e a forma anatômica de maior ocorrência foi a multicêntrica. O tratamento inicial mais utilizado foi o de Wisconsin-Madison (CHOP) e a média de sobrevida foi de 12,9 meses para cães em tratamento. Um estudo das raças atendidas no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS deve ser realizado para um conhecimento correto da prevalência de cães com linfoma que realizaram quimioterapia. Maior utilização do exame de imuno-histoquímica, bem como, estudos mais aprofundados, com utilização de um grupo controle devem ser conduzidos para possibilitar a definição de tratamentos e prognósticos adequados para os cães atendidos no hospital.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. B. R. **Contribuição para o estudo do linfoma no cão em Portugal: análise de dois centros de referência**, 2012. 93 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2012.
- ANTUNES, M. I. P. P.; MORENO, K.; GRUMADAS, C. E. S. Avaliação e manejo da dor em cães e gatos com câncer - revisão. **Arquivo de ciências veterinárias e zoologia**. Unipar, Umuarama, v. 11, n. 2, p. 113-119, jul./dez. 2008
- BERNO, M. D. B; MENDES, A. R. Dor oncológica em pequenos animais: revisão de literatura. **Revista científica de medicina veterinária**, São Paulo, v. 24, n. 24, jan. 2015.
- BLACKWOOD, L.; SULLIVAN, M.; LAWSON, H. Radiographic abnormalities in canine multicentric lymphoma: a review of 84 cases. **Journal of small animal practice**. v. 38, p. 62-69, fev. 1997.
- CANIATTI *et. al.* Canine lymphoma: immunocytochemical analysis of fine needle aspiration biopsy. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 2, p. 204-212, mar. 1996.
- CARDOSO, M. J. L. *et. al.* Linfoma canino - achados clínico-patológicos. **Archives of veterinary science**, v. 9, n. 2, p. 25-29, 2004b
- CARDOSO, M. J. L. *et. al.* Linfoma canino: revisão de 54 casos. **Bioscience journal**, Uberlândia, v. 19, n. 13, p. 131-142, set/dez. 2003.
- CARDOSO, M. J. L. *et. al.* Sinais clínicos do linfoma canino. **Archives of veterinary science**, v. 9, n. 2, p. 19-24, 2004a.
- COUTO, C. G. Linfoma no cão e no gato. In: NELSON, R.W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. Cap. 80. p. 1176-1188.
- DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009, 612 p.
- FIGHERA, R. A. *et. al.* Causas de morte e razões para eutanásia de cães da mesorregião centro ocidental rio-grandense (1965-2004). **Pesquisa veterinária brasileira**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 223-230, abr. 2008.
- FOURNEL-FLEURY, C. *et. al.* Canine T-cell lymphomas: a morphological, immunological and clinical study of 46 cases. **Veterinary pathology**, v. 39, n. 1, p. 92-109, 2002.
- FOURNEL-FLEURY, C. *et. al.* Cytological and immunological classification of canine malignant lymphomas: comparison with human non-Hodgkin's lymphomas. **Journal of comparative pathology**, v. 117, n. 1, p. 35-59, 1997.
- JACOBS, R. M.; MUSSICK, J. B.; VALLI, V. E. Tumors of the hemolymphatic system. In: MEUTEN, D. J. **Tumors of domestic animals**. 4. ed. Iowa: Iowa State Press, 2002. Cap. 3. p. 119-130.

KELLER, E. T. *et. al.* Evaluation of prognostic factors and sequential combination chemotherapy with doxorubicin for canine lymphoma. **Journal of veterinary internal medicine**. v. 7, n. 5, p. 289-295, 1993.

KIMURA, K. C. **Linfoma canino: papel do meio ambiente**, 2012, 136 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

KUSEWITT, D. F. Neoplasias e biologia tumoral. In: ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. Cap. 6. p. 289-323.

MACHADO, L. H. A. *et. al.* Comparative study of histopathology and immunohistochemistry of indefinite round cell cutaneous tumors and characterization of canine lymphoma. **Arquivo de ciência veterinária e zoologia**, Botucatu, v. 67, n. 1, p. 32-36, 2015.

MEINKOTH, J. H.; COWELL, R. L.; TYLER, R. D. Cell types and criteria of malignancy. In: COWELL, R. L. *et. al.* **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. 3. ed. St. Louis: Elsevier, 2008. Cap. 2. p. 20-45.

MORENO, K.; BRACARENSE, A. P. F. R. L. Estudo retrospectivo de linfoma canino no período de 1990-2004 na região norte do Paraná. **Brazilian journal of veterinary research and animal science**, São Paulo, v. 44, p. 46-52, 2007.

MOORE, A. S. *et. al.* Evaluation of a discontinuous treatment protocol (VELCAP-S) for canine lymphoma. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 15, p. 348-354, 2001.

NEUWALD, E. B. **Aspectos epidemiológicos, laboratoriais e cardíacos do linfoma em cães**, 2013. 111 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

NEUWALD, E. B. *et. al.* Epidemiological, clinical and immunohistochemical aspects of canine lymphoma in the region of Porto Alegre, Brazil. **Pesquisa veterinária brasileira**, Porto Alegre, v. 34, n. 4, p. 349-354, abr. 2014.

OWEN, L. N. **TNM classification tumors in domestic animals**. 5. ed. Geneva: World Health Organization, 1980, p. 46-47.

PARODI, A. L. Classification of malignant lymphoma in domestic animals: history and conceptual evolution. **European journal of veterinary and pathology**, Alfort, v. 7, n. 2, p. 43-50, nov. 2001.

RASKIM, R. E. Sistema linfoide. In: RASKIN; R. E; MEYER, D. J. **Citologia clínica de cães e gatos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. Cap. 4. p. 77-115.

RODASKI, S.; DE NARDI, A. B. **Quimioterapia antineoplásica em cães e gatos**. 5. ed. São Paulo: Medvet, 2008, p. 305.

SUEIRO, F. A. R.; ALESSI, A. C.; VASSALLO, J. Canine lymphomas: a morphological and immunohistochemical study of 55 cases with observations on p53 in immunoeexpressions. **Journal of comparative pathology**, São Paulo, v. 131, p. 207-213, 2004.

TESKE, E. Prognostic factors for malignant lymphoma in the dog: an update. **Veterinary quarterly**, v. 16, n. 1, p. 29-31, abr. 1994.

TESKE, E *et. al.* Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. **Journal of the american association**, v. 205, n. 12, p. 1722-1728, jan. 1995.

THOMAS, R. *et. al.* Molecular cytogenetic analysis of a novel high-grade canine T-lymphoblastic lymphoma demonstrating co-expression of CD3 and CD79 cell markers. **Chromosome Research**, Netherlands, v. 9, n. 1, p. 649-657, Jul. 2001.

VAIL, D. M.; PINKERTON, M. E.; YOUNG, K. M. Hematopoietic tumors. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; PAGE, R. J. **Small animal clinical oncology**. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2013. Cap. 32. p. 608-678.

ZANINI, D. A. *et. al.* Fatores de risco ambientais relacionados ao linfoma não Hodgkin canino. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 43, n. 7, p. 1302-1308, jul. 2013.