

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

ISADORA SOBCZAK MARTINS

LINFOMA MULTICÊNTRICO CANINO: REVISÃO DE LITERATURA

PORTO ALEGRE

2024/1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

LINFOMA MULTICÊNTRICO CANINO: REVISÃO DE LITERATURA

Autor: Isadora Sobczak Martins

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como
requisito parcial para a obtenção da graduação em
Medicina Veterinária

Orientador: Cristiano Gomes

Coorientadora: Luciana Oliveira de Oliveira

PORTO ALEGRE

2024/1

CIP - Catalogação na Publicação

Martins, Isadora Sobczak
LINFOMA MULTICÊNTRICO CANINO: REVISÃO DE LITERATURA
/ Isadora Sobczak Martins. -- 2024.
63 f.
Orientador: Cristiano Gomes.

Coorientador: Luciana Oliveira de Oliveira.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Veterinária, Curso de Medicina Veterinária, Porto
Alegre, BR-RS, 2024.

1. Linfoma Multicêntrico Canino. 2. Oncologia
Veterinária. I. Gomes, Cristiano, orient. II.
Oliveira, Luciana Oliveira de, coorient. III. Título.

ISADORA SOBCZAK MARTINS

LINFOMA MULTICÊNTRICO CANINO: REVISÃO DE LITERATURA

Aprovado em ___/___/___

APROVADO POR:

Prof. Dr. Cristiano Gomes
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi
Membro da Comissão

Dra. Luciane Cristina Vieira
Membro da Comissão

Em Capitães de Areia, Jorge Amado escreveu que, certos homens têm estrelas no lugar do coração, e quando morrem, o coração fica no céu. Posso dizer que, com certeza, meu avô tinha uma estrela no lugar do coração. Toda minha trajetória acadêmica é guiada por ele. Por isso, dedico este trabalho a mantê-lo vivo em cada linha que eu escrevo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não teria sido possível sem o apoio e a colaboração de muitas pessoas, às quais expresso minha sincera gratidão.

Primeiramente, agradeço ao professor Cristiano Gomes, por sua orientação, paciência e incentivo ao longo deste período. Agradeço também ao professor Daniel Gerardi, por seu carinho e parceria ao longo destes anos de graduação. Suas experiências e conhecimentos foram essenciais para a realização deste trabalho.

Agradeço também às médicas veterinárias Luciana Oliveira e Luciane Vieira, que além de compartilharem seu conhecimento e oferecerem suporte durante todo o período acadêmico, me mostraram o amor à oncologia veterinária, aos cuidados paliativos e a ser uma profissional humana.

Um agradecimento especial às minhas colegas de curso, Estela e Carolina, que estão comigo desde o dia um, além de Maria Eduarda e Gabriela, as quais divido minha paixão pela oncologia, pela amizade, companheirismo e troca de conhecimentos, que tornaram essa jornada mais leve e agradável.

Às minhas “oncoamigas” Anaí, Aline, Carolina, Camila, Karem, Lara, Maya, Sarah, Shaiene e Vitória minha gratidão por termos construído uma relação de amizade que transcende o ambiente acadêmico e profissional. Agradeço a cada uma de vocês por estarem presentes nos bons e maus momentos, por rir e chorar comigo.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Marquerita e Mauro, por acreditarem em mim e me apoiarem incondicionalmente em todos os momentos, mesmo nos mais difíceis. Sua confiança e amor foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Aos meus amigos, Caroline, Franciele, Henrique, Amanda, Luana, Giovana e Emilainy, que sempre estiveram ao meu lado, me dando suporte, oferecendo palavras de encorajamento e compreensão. Obrigada por serem quem são, por me ajudarem a crescer e por tornarem esta jornada muito mais especial. Amo vocês, e sou eternamente grata por cada momento que passamos juntos.

Agradeço também ao Hospital Onco Support, mais especificamente à doutora Letícia Fratini e doutora Raquel Michaelsen que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e se tornaram minhas grandes fontes de inspiração.

Por fim, agradeço a mim mesma por nunca ter desistido.

A todos, meu muito obrigada.

RESUMO

Linfomas, também conhecidos como linfossarcomas, têm como origem principalmente os órgãos linfoides, como medula óssea, baço e linfonodos, porém, estes tumores podem se desenvolver em praticamente qualquer órgão devido à contínua migração dos linfócitos neoplásicos pelos diferentes tecidos do organismo. Este trabalho tem como objetivo revisar e compilar as informações mais recentes sobre a etiologia, patogênese, diagnóstico, tratamento e prognóstico do linfoma multicêntrico canino. Este tumor afeta principalmente animais de meia idade a idosos, em geral de 6 a 9 anos e não possui uma etiologia bem definida, acredita-se que fatores multifatoriais como fatores genéticos, ambientais e imunológicos estejam implicados. A classificação do linfoma maligno em cães pode ser diferenciada com base na localização anatômica, critérios histológicos e características imunofenotípicas. As formas anatômicas mais comuns de linfoma são a multicêntrica, a mediastinal, a gastrointestinal e a cutânea, além das formas extranodais primárias, que podem ocorrer em qualquer local fora do sistema linfático. A forma multicêntrica é a mais comum em cães e caracteriza-se por linfadenomegalia, podendo ser regional ou generalizada. Para melhor entendimento da doença, os linfomas devem ser classificados de acordo com sua celularidade, determinados por diferentes técnicas, entre elas a citologia, histopatologia, imuno-histoquímica, citometria de fluxo e reação em cadeia de polimerase (PCR). Exames de hemograma, bioquímica sérica, ultrassonografia e radiografia se fazem úteis como exames complementares a fim de revelar um prognóstico mais acurado e melhor conduta terapêutica. A poliquimioterapia é a modalidade terapêutica mais utilizada e eficaz no tratamento de cães com linfoma, sendo o principal protocolo utilizado o CHOP, que em sua forma clássica consiste na associação de vincristina, prednisona, doxorrubicina e ciclofosfamida, porém é possível utilizar diferentes fármacos em combinação ou substituição a este protocolo. Novas abordagens terapêuticas como terapia alvo e imunoterapia estão sendo exploradas e mostram potencial promissor, porém ainda necessitam de mais pesquisas para sua utilização na rotina.

Palavras-chave: Linfoma Multicêntrico; Canino; Imunofenotipagem; Quimioterapia.

ABSTRACT

Lymphomas, also known as lymphosarcomas, originate mainly in lymphoid organs, such as bone marrow, spleen and lymph nodes. However, these tumors can develop in practically any organ due to the continuous migration of neoplastic lymphocytes through the different tissues of the body. This work aims to review and compile the most recent information on the etiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis of canine multicentric lymphoma. This tumor mainly affects middle-aged to elderly animals, generally between 6 and 9 years old, and does not have a well-defined etiology. It is believed that multifactorial factors such as genetic, environmental and immunological factors are involved. The classification of malignant lymphoma in dogs can be differentiated based on anatomical location, histological criteria and immunophenotypic characteristics. The most common anatomical forms of lymphoma are multicentric, mediastinal, gastrointestinal and manifest, in addition to primary extranodal forms, which can occur in any local forum of the lymphatic system. The multicentric form is the most common in dogs and is characterized by lymphadenomegaly, which may be regional or generalized. To better understand the disease, lymphomas should be classified according to their cellularity, determined by different techniques, including cytology, histopathology, immunohistochemistry, flow cytometry and polymerase chain reaction (PCR). Complete blood count, serum biochemistry, ultrasound and radiography are useful as complementary exams in order to reveal a more accurate prognosis and better therapeutic approach. Polychemotherapy is the most widely used and effective therapeutic modality in the treatment of dogs with lymphoma, with the main protocol used being CHOP, which in its classic form consists of the combination of vincristine, prednisone, doxorubicin and cyclophosphamide, although it is possible to use different drugs in combination or replace this protocol. New therapeutic approaches such as targeted therapy and immunotherapy are being explored and show promising potential, but still require further research for their routine use.

Key-words: Multicentric Lymphoma; Canine; Immunophenotyping; Chemotherapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Cão com linfadenopatia mandibular resultante de linfoma multicêntrico	17
Figura 2 – Edema de face decorrente da compressão da veia cava cranial pelos linfonodos mediastinais e torácicos em cão com linfoma multicêntrico.	18
Figura 3 – Radiografia torácica lateral de um cão com infiltração intersticial difusa com linfoma secundário a linfoma multicêntrico.	26
Figura 4 – Técnica de colheita de amostra para citologia aspirativa por agulha fina.....	27
Figura 5 – Aspirado por agulha fina.....	28
Figura 6 – Corte histológico de linfonodo, presença de células tumorais fora da cápsula do linfonodo.....	29
Figura 7 – Cão, Fox Terrier de pelo liso, com diagnóstico de linfoma multicêntrico de alto grau durante a realização das mensurações basais do tamanho dos linfonodos-alvo.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais tipos de linfomas multicêntricos segundo a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS).....	35
Tabela 2 – Classificação clínica do linfoma segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS)	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BTK	Bruton's tyrosin kinase
CAAF	Citologia aspirativa por agulha fina
CART-T	Chimeric antigen receptor-engineered T cell
CD	Cluster of differentiation
CHOP	Ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona
COP	Ciclofosfamida, vincristina e prednisona
DE	Doença estável
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Doença progressiva
EPO	Eritropoietina
FDA	Food and Drug Administration
FSH	Hormônio folículo estimulante
IFN γ	Interferon Gama
IG	Imunoglobulina
IM	Índice mitótico
L-CHOP	Ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisona e L-asparaginase
LDH	Desidrogenase láctica
LH	Hormônio luteinizante
LH	Linfoma Hodgkin
LNH	Linfoma não-Hodgkin
LOPP	Lomustina, vincristina, procarbazona e prednisona
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
NCI-FW	National Cancer Institutes of Health Working Formulation
NK	Natural Killers
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
PARR	PCR for antigen receptor rearrangements
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
PIK3	Phosphatidylinositol 3-kinase
PTH-rp	Proteína relacionada ao paratormônio

RT-PCR	Reação de Transcriptase combinada com a Reação em Cadeia da Polimerase
RT-qPCR	Reação de Transcriptase combinada com a Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA	16
3	SINAIS CLÍNICOS	17
4	CLASSIFICAÇÃO	19
4.1	CLASSIFICAÇÃO ANATÔMICA	19
4.2	CLASSIFICAÇÃO CITOLÓGICA, HISTOLÓGICA E IMUNOFENOTÍPICA .	20
5	DIAGNÓSTICO	23
5.1	EXAME FÍSICO DO PACIENTE:.....	23
5.2	ANÁLISES LABORATORIAS.....	23
5.2.1	Hemograma	23
5.2.2	Bioquímicos	24
5.3	DIAGNÓSTICO POR IMAGEM	25
5.4	CITOLOGIA	26
5.5	HISTOPATOLOGIA	28
5.6	IMUNO-HISTOQUÍMICA.....	30
5.7	CITOMETRIA DE FLUXO	31
5.8	REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE	32
6	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	33
6.1	LINFONODO HIPERPLÁSICO	33
6.2	LINFADENITE.....	33
6.3	LINFONODOS METASTÁTICOS.....	33
7	CLASSIFICAÇÃO DA OMS	35
8	ESTADIAMENTO	37
9	TRATAMENTO	39
9.1	QUIMIOTERAPIA	39
9.2	RADIOTERAPIA	43
9.3	TERAPIA ALVO.....	44
9.4	IMUNOTERAPIA	45
10	AVALIAÇÃO DA RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA	46
11	PROGNÓSTICO	48
12	SÍNDROMES PARANEOPLÁSICAS	51

12.1	SÍNDROME DA ANOREXIA-CAQUEXIA ASSOCIADA AO CÂNCER.....	51
12.2	ANEMIA DA DOENÇA CRÔNICA	51
12.3	SÍNDROME DE HIPERVISCOSIDADE SANGUÍNEA	52
12.4	HIPERCALCEMIA MALIGNA	52
12.5	TROMBOCITOPENIA.....	53
13	CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
	REFERÊNCIAS.....	55
	APÊNDICE A	63

1 INTRODUÇÃO

O linfoma multicêntrico canino é uma das neoplasias mais comuns em cães, sendo responsável por uma significativa parcela dos casos de câncer diagnosticados na medicina veterinária. Essa doença é caracterizada pela proliferação anormal e descontrolada de linfócitos, que são células fundamentais do sistema imunológico. A apresentação clássica do linfoma multicêntrico envolve o aumento generalizado dos linfonodos periféricos, podendo também afetar órgãos internos como fígado, baço e medula óssea.

O diagnóstico baseia-se na combinação de exames clínicos, laboratoriais e de imagem, sendo a biópsia e a citologia os métodos mais frequentemente utilizados para a confirmação da doença. A complexidade do diagnóstico é agravada pela variedade de subtipos de linfoma, cada um com suas particularidades em termos de prognóstico e resposta ao tratamento. Dada a diversidade de apresentações clínicas, o manejo terapêutico do linfoma multicêntrico canino requer uma abordagem individualizada, levando em consideração fatores como o estágio da doença, a condição geral do animal e a resposta inicial ao tratamento.

O tratamento do linfoma multicêntrico em cães geralmente envolve o uso de quimioterapia, que é considerada o padrão ouro para essa condição. Protocolos quimioterápicos como CHOP (ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona) têm mostrado eficácia significativa em prolongar a sobrevivência dos animais e melhorar a qualidade de vida. No entanto, a resposta ao tratamento pode variar consideravelmente entre os pacientes, e efeitos colaterais associados à quimioterapia, como imunossupressão e toxicidade orgânica, são desafios importantes a serem gerenciados durante o curso do tratamento.

Apesar dos avanços terapêuticos, o prognóstico ainda é reservado, com muitos animais apresentando recidivas dentro de meses após o tratamento inicial. Isso destaca a necessidade contínua de pesquisas na busca por terapias mais eficazes e menos tóxicas, além de uma melhor compreensão dos fatores biológicos que influenciam o desenvolvimento e a progressão do linfoma. Nesse contexto, este trabalho de conclusão de curso se propõe a revisar a literatura existente sobre o linfoma multicêntrico canino, explorando os aspectos relacionados à etiologia, patogênese, diagnóstico e tratamento, com o objetivo de contribuir para uma melhor compreensão e manejo dessa importante neoplasia na prática veterinária.

Ao longo deste estudo, serão abordados os avanços recentes na área, bem como as limitações e desafios que ainda persistem, fornecendo uma visão abrangente e atualizada do estado da arte em relação ao linfoma multicêntrico canino. Dessa forma, este trabalho busca

não apenas consolidar o conhecimento adquirido ao longo da formação acadêmica, mas também oferecer subsídios para futuros estudos e práticas clínicas, visando a melhoria do prognóstico e da qualidade de vida dos cães acometidos por essa condição.

2 ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA

Linfoma, também conhecido como linfossarcoma ou linfoma maligno, origina-se principalmente de órgãos linfoides, como medula óssea, baço e linfonodos (Calazans; Daleck; Nardi, 2016). Em humanos, os linfomas são classificados como linfomas de Hodgkin e não-Hodgkin, porém, em cães, sua vasta maioria de casos são representados por linfomas do tipo não-Hodgkin, por isso podem ser referidos simplesmente como linfomas (Pinello; Dagli, 2022).

Segundo Vail e Young (2007), o linfoma corresponde aproximadamente de 7% a 24% de todos os tumores caninos e 83% de todos as neoplasias hematopoiéticas malignas que acometem os cães, principalmente cães de meia-idade a idosos (idade média de 6 a 9 anos), ou seja, envelhecer é um forte fator de risco para o desenvolvimento da doença. Isso pode ser explicado devido à diminuição da função imunológica com o passar da idade, que pode aumentar o risco de infecções levando a uma estimulação crônica do sistema imunológico.

Villamil et al. (2009), relata que nos cães o efeito hormonal protetor gerado pelos hormônios FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante) já elucidados em mulheres parece se repetir, apontando uma maior incidência em machos e um risco mais baixo em fêmeas, porém, em fêmeas esterilizadas este risco de desenvolvimento do linfoma aumenta.

Estudos sugerem que Boxers, Bull Mastiffs, Basset Hounds e São Bernardos possuem uma predisposição racial de fonte genética e hereditária ao desenvolvimento de linfomas, além da propensão de desenvolver subtipos específicos, como é o caso de o Boxer ter 85% de chance de desenvolver linfoma de células T (Pinello; Dagli, 2022).

A exposição a produtos químicos como herbicidas, combustíveis fósseis veiculares e subprodutos da combustão de cigarros e madeiras, é responsável pelo aumento de mutações genéticas e imunossupressão em cães (Pinello; Dagli, 2022). O estudo de Zanini et al. (2013) mostrou que cães que permaneciam no exterior do domicílio a menos de 100 metros de avenidas muito movimentadas (mais de 50 veículos por minuto) apresentaram um risco elevado de desenvolver linfomas devido à essa intensa exposição à poluição atmosférica.

3 SINAIS CLÍNICOS

O sinal clássico dos linfomas multicêntricos é o aumento dos linfonodos, inicialmente dos submandibulares, pré-escapulares e axilares, que progride para uma linfadenomegalia generalizada (Figura 1). Esse quadro pode resultar em edema em um ou mais membros ou, em alguns casos, causar edema generalizado (Figura 2) (Calazans; Daleck; Nardi, 2016). Normalmente, esse aumento é bem acentuado (5 a 15 vezes o seu tamanho normal) e os linfonodos são indolores à palpação (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Além disso, hepatoesplenomegalia e envolvimento da medula óssea são comuns (Vail; Young, 2007).

Figura 1 - Cão com linfadenopatia mandibular resultante de linfoma multicêntrico.

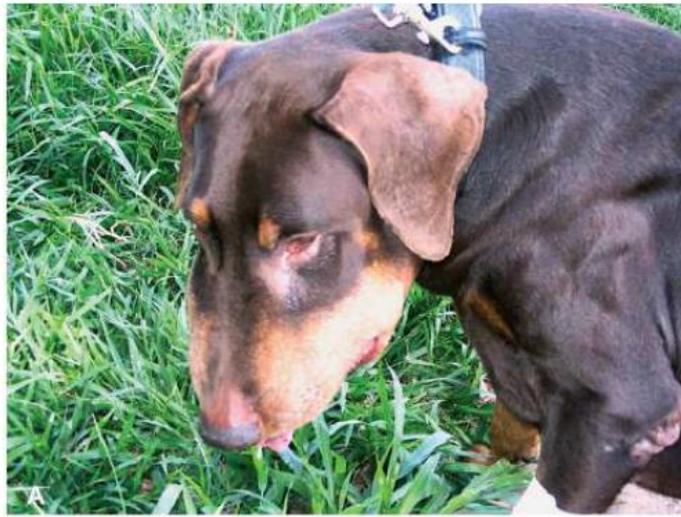


Fonte: Vail; Young, 2007.

A maioria dos cães com linfoma multicêntrico não apresenta sinais de doença sistêmica, no entanto, pode ocorrer uma grande variedade de sinais inespecíficos nestes pacientes (Vail; Young, 2007). Muitos cães podem não apresentar sintomas evidentes no momento do diagnóstico, no entanto, é importante destacar que diminuição do apetite (hiporexia/anorexia), perda de peso, vômitos, diarreia, aumento do abdômen devido a hepatoesplenomegalia, dispneia quando há envolvimento dos linfonodos mediastinais ou acometimento pulmonar, polidipsia, poliúria secundária a hipercalcemia paraneoplásicas, febre, edema de membros, cabeça ou generalizados devido ao comprometimento da drenagem

linfática, podem estar presentes nos pacientes acometidos. Além disso, os cães podem apresentar sinais clínicos associados a alterações sanguíneas secundárias a síndromes paraneoplásicas hematológicas ou à infiltração tumoral intensa na medula óssea, resultando em anemia, trombocitopenia e neutropenia, o que pode levar a sintomas como apatia, hemorragias e maior suscetibilidade a infecções dependendo do tipo de célula sanguínea afetada (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Figura 2 – Edema de face decorrente da compressão da veia cava cranial pelos linfonodos mediastinais e torácicos em cão com linfoma multicêntrico.



Fonte: Calazans; Daleck; Nardi, 2016.

A polidipsia e a poliúria são particularmente evidentes em cães com a síndrome paraneoplásica de hipercalemia maligna. Os cães também podem ter histórico ou sinais clínicos relacionados a discrasias sanguíneas secundárias à infiltração tumoral acentuada da medula óssea (mieloftise) ou anemia paraneoplásica, trombocitopenia ou neutropenia, incluindo sinais de febre, sepse, anemia e hemorragia (Vail; Young, 2007).

4 CLASSIFICAÇÃO

A classificação do linfoma maligno em cães pode ser diferenciada com base na localização anatômica, critérios histológicos e características imunofenotípicas (Vail; Young, 2007).

4.1 CLASSIFICAÇÃO ANATÔMICA

As formas anatômicas mais comuns de linfoma, em ordem decrescente de prevalência segundo Vail e Young (2007), são multicêntrica, mediastinal, gastrointestinal e cutânea. Linfomas extranodais primários podem ocorrer em diversos locais fora do sistema linfático, como olhos, sistema nervoso central (SNC), ossos, testículos, bexiga, coração e cavidade nasal.

A apresentação multicêntrica compreende cerca de 80% dos casos em cães (Vail e Young, 2007), e se caracteriza por linfadenomegalia regional ou generalizada, além de hepatoesplenomegalia. Dependendo do estágio clínico, alguns pacientes podem manifestar sintomas como dor, apatia, hiporexia, perda de peso, edema e febre, enquanto a maioria permanece assintomática (Calazans; Daleck; Nardi, 2016).

A forma mediastinal do linfoma ocorre em aproximadamente 5% dos casos. Esta forma é caracterizada pelo aumento dos linfonodos craniomediastinais e/ou do timo. No entanto, aproximadamente 20% dos cães com diagnóstico de linfoma multicêntrico também apresentam evidência radiográfica de linfadenopatia craniomediastinal (Vail e Young, 2007). Na maioria dos animais o linfoma mediastinal possui um prognóstico desfavorável, particularmente naqueles pacientes que desenvolverem linfomas de células T e/ou quando apresentarem hipercalemia concomitante (Calazans; Daleck; Nardi, 2016).

A forma alimentar é pouco comum, geralmente representando de 5% a 7% de todos os linfomas caninos (Vail; Young, 2007). Pode acometer qualquer segmento intestinal, sendo comum o envolvimento dos linfonodos mesentéricos. Os principais sintomas são anorexia, perda de peso, hipoproteinemia decorrente de má absorção, êmese e diarreia (Calazans; Daleck; Nardi, 2016).

A forma cutânea em cães é a mais desafiadora em termos de tratamento, pois poucos animais mostram resposta positiva à terapia (Calazans; Daleck; Nardi, 2016). Este tipo

anatômico pode ser generalizado ou multifocal, apresentando-se como nódulos, placas, úlceras e dermatite esfoliativa ou eritrêmica (Vail; Young, 2007). É classificado em epiteliotrópico (presença de linfócitos neoplásicos na epiderme, geralmente de origem em células T) e não epiteliotrópico (presença de linfócitos neoplásicos na derme, geralmente de origem em células B) (Calazans; Daleck; Nardi, 2016).

4.2 CLASSIFICAÇÃO CITOLÓGICA, HISTOLÓGICA E IMUNOFENOTÍPICA

Como citado anteriormente, os linfomas são classificados em Hodgkin (LH) e não Hodgkin (LNH), sendo o último mais comum em cães. Os LNH são divididos em linfomas B ou T/NK, que são subdivididos em linfomas de células precursoras ou maduras (Grandi; Barra; Krause, 2022).

Não há um consenso universal para a classificação dos tumores linfoides, portanto são utilizadas as classificações descritas por Rappaport, Luke e Collins, “National Cancer Institutes of Health Working Formulation” (NCI-FW), Kiel-Lennert, “Revised European American Lymphoma” (REAL) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (Grandi; Barra; Krause, 2022).

A classificação de Rappaport fundamenta-se na análise do padrão histológico de crescimento (folicular ou difuso) e nas características citológicas do tumor (bem diferenciado, pouco diferenciado ou histiocítico) (Vail & Young, 2007). Uma vez que os linfomas multicêntricos com um padrão folicular são pouco frequentes, este sistema de classificação acaba por não possuir uma boa aplicabilidade na espécie canina (Greenlee et al., 1990). Além de não garantir um valor prognóstico significativo em relação à resposta à terapêutica, à duração da remissão e ao tempo de sobrevivência (Weller, Holmberg, Theilen, Madewell, 1980), em parte devido ao fato de no subgrupo de linfomas histiocíticos estarem incluídos tumores com diferentes características morfológicas e imunofenotípicas (Vail & Young, 2007).

A classificação de Luke e Collins associa as características morfológicas de um linfoma a um determinado fenótipo, sendo pouco aplicável à espécie canina uma vez que os grupos citológicos são heterogêneos (Greenlee et al., 1990).

O sistema NCI-WF foi desenvolvido para permitir uma melhor compreensão entre as várias classificações existentes. Este sistema categoriza o tumor exclusivamente através dos critérios morfológicos e classifica a malignidade em três graus, baixo, intermédio e alto, estando estes relacionados com a biologia tumoral e com a sobrevivência do paciente. No

entanto, não inclui qualquer informação acerca da imunofenotipagem do tumor (Vail; Young, 2007).

O Sistema Kiel-Lennert e Kiel atualizada por Fournel-Fleury, baseiam-se na morfologia e composição celular (centroblástica, centrocítica, imunoblástica, linfoblástica, plasmocítica, linfocítica), no padrão de crescimento histológico (folicular ou difuso) e na imunofenotipagem das células tumorais, B e T (Lennert; Feller, 1992). Nesta classificação o linfoma é dividido em dois grupos, os de baixo grau, constituídos principalmente por células pequenas (citos), e os de alto grau, constituídos predominantemente por células médias ou grandes (blastos) (Lennert; Feller, 1992). Este sistema divide também o linfoma em dois subgrupos, tendo por base a imunofenotipagem (B e T) (Valli et al., 2002). Tanto na classificação de Kiel como na NCI-WF os linfomas de baixo grau, compostos por células pequenas e com índice mitótico baixo, progridem lentamente e estão associados a tempos de sobrevivência mais longos. Por outro lado, os de alto grau, com um índice mitótico elevado, progridem rapidamente, mas respondem melhor à abordagem terapêutica com quimioterapia (Vail & Young, 2007).

A classificação REAL (Revised European-American Lymphoma Classification) adaptada para o linfoma multicêntrico canino é um sistema que categoriza os linfomas com base em características morfológicas, imunofenotípicas e genéticas das células neoplásicas, proporcionando uma estrutura mais precisa para o diagnóstico e prognóstico da doença. (Harris et al., 2000).

A classificação da OMS tem como base a Classificação REAL para a definição de categorias histológicas para os tumores hematopoiéticos nos cães (Valli et al., 2002). Este sistema seguiu a classificação humana, com o objetivo de facilitar o intercâmbio de conhecimentos e realização de estudos comparativos entre medicina humana e veterinária (Correia, 2006). Esta classificação incorpora tanto os critérios morfológicos como imunológicos, dividindo os tumores hematopoiéticos em dois grupos, o linfoide e o mieloide (Valli et al., 2002), sendo esta considerada a mais completa e amplamente utilizada (Grandi; Barra; Krause, 2022).

A avaliação histopatológica permite a classificação dos linfomas em diversas categorias, baseadas no seu grau de malignidade. Os linfomas de baixo a médio grau incluem os tipos linfocítico, centrocítico, centrocítico-centroblástico, linfoma de células T pleomórfico, linfoplasmocítico e os linfomas de zona T. Por outro lado, os linfomas de alto grau são categorizados como imunoblástico, centroblástico, linfoblástico e linfoma de grandes células anaplásico. Em cães, os linfomas de médio a alto grau são mais frequentes,

independentemente do esquema de classificação histológica utilizado. Aparentemente, o tipo histológico mais comum em cães é o linfoma difuso de grandes células de origem B, seja centrolástico ou imunoblástico. Cães diagnosticados com linfoma T de alto grau tendem a apresentar um prognóstico mais desfavorável. Além disso, há uma forte associação entre o índice mitótico e o grau de malignidade nos linfomas multicêntricos caninos. (Calazans; Daleck; Nardi, 2016).

5 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de linfoma em cães é estabelecido com base na história clínica, exame físico e na avaliação das células neoplásicas por meio de análise citológica e/ou histopatológica, utilizando técnicas como imuno-histoquímica, citometria de fluxo ou PCR para rearranjo do receptor de antígeno (PARR - PCR for antigen receptor rearrangements). Exames complementares são essenciais para o estadiamento da doença e avaliação do estado geral, incluindo hemograma, análise bioquímica, radiografias torácicas, ultrassom abdominal e mielograma (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

5.1 EXAME FÍSICO DO PACIENTE:

Como toda avaliação clínica de quaisquer doenças, a abordagem inicial deve ser iniciada pelo exame físico do paciente. No caso de suspeita de linfoma multicêntrico, o exame deve incluir a palpação atenta de todos os linfonodos acessíveis, inclusive por via retal (Vail; Young, 2007).

No exame físico, as anormalidades estão normalmente restritas à cavidade torácica e consistem em sons bronco vesiculares diminuídos e sons pulmonares normais deslocados para a cavidade torácica dorso caudal (Nelson; Couto, 2015).

A palpação abdominal pode revelar organomegalia (principalmente fígado e baço), espessamento da parede intestinal ou linfadenopatia mesentérica, além da ausculta torácica que pode revelar a presença de massa mediastinal ou derrame pleural ou ambos. Um exame ocular incluindo a avaliação fundoscópica pode revelar anormalidades como uveíte, hemorragia retiniana e infiltração ocular em aproximadamente um terço a metade dos cães com linfoma (Vail; Young, 2007).

5.2 ANÁLISES LABORATORIAS

5.2.1 Hemograma

As alterações hematológicas em pacientes com linfoma multicêntrico são variáveis,

podendo o hemograma estar normal ou apresentar alterações inespecíficas, como anemia, trombocitopenia e neutrofilia. Apenas casos com envolvimento da medula óssea ou sangue periférico mostram alterações significativas nos linfócitos. A anemia é muito comum nesses pacientes e geralmente é secundária à inflamação. Outros mecanismos incluem anemia hemolítica imunomediada, que é menos comum, e diminuição da produção medular em casos de envolvimento da medula óssea (estadiamento V) (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Outra alteração frequente nos pacientes é a trombocitopenia, segundo Vail & Young (2007), está presente em 30% a 50% dos casos. Pode ser causada por infiltração na medula óssea por células do linfoma, levando à diminuição da produção, ou por destruição celular como na trombocitopenia imunomediada, além de sequestro esplênico causado pelo envolvimento do baço (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

A neutrofilia está presente em 25% a 40% dos cães (Vail & Young, 2007), e pode ser decorrente da presença de massas necróticas, ulceradas, infeccionadas ou pela resposta a fatores estimuladores de colônias de granulócitos produzidos ou induzidos por células neoplásicas (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

A contagem de linfócitos pode variar amplamente, estando normal, diminuída ou aumentada. É fundamental realizar uma avaliação morfológica dos linfócitos, pois linfomas com envolvimento medular podem apresentar linfócitos atípicos no sangue periférico (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

5.2.2 Bioquímicos

As alterações presentes nos exames bioquímicos dos pacientes com linfoma multicêntrico são variáveis, podendo estar correlacionadas com síndromes paraneoplásicas, comorbidades pré-existentes, grau de infiltração em órgãos, efeitos adversos da quimioterapia ou com a síndrome da lise tumoral (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Nos casos de hipercalcemia de origem desconhecida, o linfoma deve sempre ser considerado no topo da lista de doenças diferenciais, e o diagnóstico direcionado a esta possibilidade deve ser realizado (Vail & Young, 2007). O mecanismo envolve a produção tumoral de peptídeo relacionado ao hormônio paratireoideo (PTH-rp), tipicamente observado nos linfomas de células T (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

A desidrogenase láctica (LDH) é uma enzima de papel fundamental na geração de energia pelas células na conversão do lactato em piruvato. Seu aumento pode estar

relacionado a uma série de condições. Em humanos, foi verificado um aumento no LDH em vários tipos tumorais, incluindo linfomas e leucemias, e essa alteração pode sugerir um aumento da glicólise necessária para o crescimento tumoral (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Outras alterações renais e hepáticas são menos específicas, porém, devem ser sempre investigadas para identificar comorbidades ou durante a administração de quimioterápicos que podem ser metabolizados pela via hepática e eliminados via renal (Jark; Anai; Rodrigues). Elevações no nitrogênio ureico e na creatinina séricas podem ocorrer devido à infiltração renal por tumor, nefrose hipercalcêmica ou azotemia pré-renal causada por desidratação. Da mesma forma, aumentos na atividade enzimática específica do fígado ou nas concentrações de bilirrubina podem resultar da infiltração do parênquima hepático (Vail; Young, 2007).

5.3 DIAGNÓSTICO POR IMAGEM

Segundo Ettinger (2003), as radiografias torácicas são realizadas para avaliar o timo, linfonodos (mediastinais, esternais, traqueobrônquicos), envolvimento parenquimatoso (geralmente um padrão intersticial) e a presença de derrame pleural (Figura 3). No linfoma multicêntrico, dois terços dos casos apresentam linfadenomegalia torácica, enquanto infiltração pulmonar difusa é observada em aproximadamente um terço dos cães. Para imagens abdominais, ultrassonografia ou radiografias podem ser realizadas para avaliar organomegalia, linfadenomegalia (mesentérica, sublombar) e ascite. Metade dos cães com linfoma multicêntrico apresentam alterações radiográficas abdominais.

Para Vail e Young (2007), em casos típicos de linfoma multicêntrico canino, a imagem é limitada às radiografias torácicas porque não existe diferença prognóstica entre cães com doença em estágio III e aqueles com doença em estágio IV (isto é, com envolvimento do fígado ou baço); entretanto, a presença de linfadenopatia crânio-mediastinal é prognosticamente significativa. Além disso, a ultrassonografia abdominal pode ser importante para a obtenção de amostras intra-abdominais guiadas por ultrassom para diagnóstico.

Figura 3 - Radiografia torácica lateral de um cão com infiltração intersticial difusa com linfoma secundário a linfoma multicêntrico.

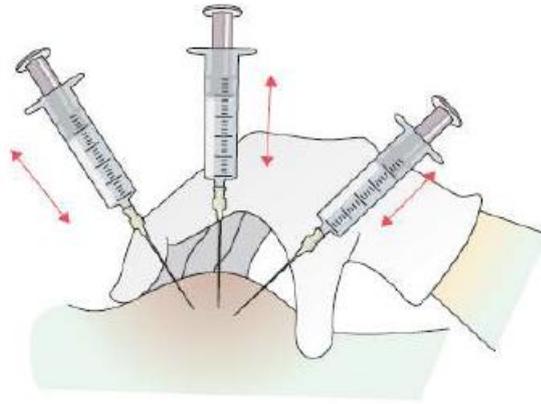


Fonte: Vail; Young, 2007.

5.4 CITOLOGIA

Na maioria dos casos, a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) é eficaz para estabelecer o diagnóstico de linfoma em cães. Esse procedimento minimamente invasivo apresenta diversas vantagens, incluindo diagnóstico quase imediato, baixo índice de resultados falso negativos e facilidade de execução (Figura 4) (Calazans; Daleck; Nardi, 2016). Em cães com linfoma, a citologia aspirativa pode ser realizada com várias finalidades, como confirmar o diagnóstico, identificar o linfonodo mais representativo para realização da biópsia excisional, seguida de análise histopatológica, determinar o estágio clínico da doença (estadiamento) e monitorar a progressão da doença, especialmente para avaliar a resposta ao tratamento subsequente em caso de recorrência (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Figura 4 - Técnica de colheita de amostra para citologia aspirativa por agulha fina. A massa a ser puncionada é contida entre o dedo polegar e o indicador de uma das mãos enquanto se introduz uma agulha com a outra mão, em movimentos de vaivém multidirecionados.



Fonte: Santana et al., 2016.

A citologia pode ser limitada em sua eficácia diagnóstica. Em um estudo conduzido por Amores-Fuster et al. (2014), constatou-se que 27,2% das 1.274 amostras de linfonodos em cães foram consideradas inconclusivas. As principais razões para essa inconclusividade incluíram a ausência de células nucleadas na amostra, baixa celularidade, células danificadas ou a punção acidental de glândula salivar ao invés do linfonodo mandibular. Esses resultados destacam a importância de garantir que a coleta do material seja realizada por profissionais capacitados e experientes.

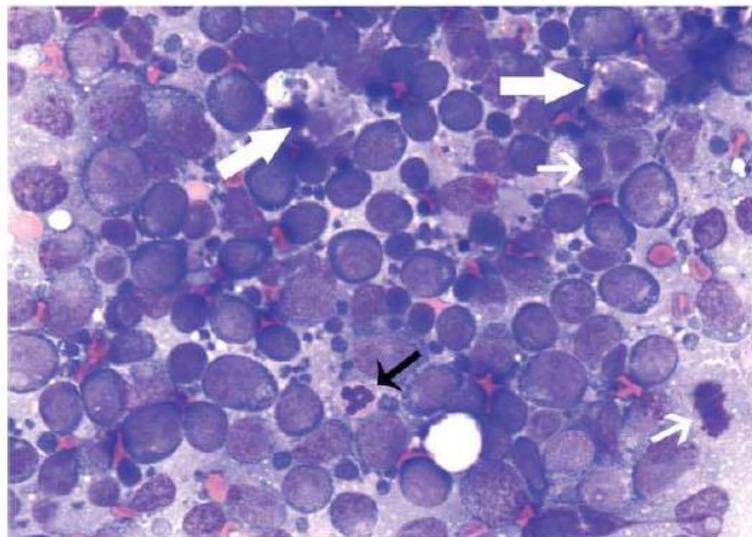
O diagnóstico citológico do linfoma depende da análise da proporção de células neoplásicas nos esfregaços coletados, geralmente caracterizadas por células jovens e imaturas. Os critérios morfológicos utilizados para diagnóstico e subtipagem dos linfomas são baseados no tamanho celular, classificando as células como "pequenas", "médias" ou "grandes", dependendo se o núcleo é menor, igual ou maior que o diâmetro de duas hemácias, respectivamente (Figura 5). Outros critérios incluem a forma do núcleo, densidade e estrutura da cromatina, número, tamanho e distribuição dos nucléolos, características do citoplasma (como extensão e basofilia) e o índice mitótico (IM) (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Segundo Fry e McGavin (2009), linfomas de células pequenas, bem diferenciadas e com baixa taxa mitótica são doenças de baixo grau (indolentes, lentamente progressivas), enquanto os linfomas de células grandes, pouco diferenciadas e com alta taxa mitótica são doenças de alto grau (agressivas, rapidamente progressivas). Apesar desse conceito de tamanho celular em índice mitótico na definição do grau de malignidade, existem algumas

exceções a serem consideradas, como por exemplo o linfoma de zona marginal, que são considerados de baixo grau, porém apresentam células de tamanho intermediário (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

O índice mitótico (IM) é comumente definido como o número de células tumorais em um campo microscópico que exibem cromossomos condensados e ausência de membrana nuclear, indicando atividade de divisão celular. Este índice é utilizado para avaliar o potencial de malignidade de um tumor, no entanto, sua confiabilidade pode ser questionável (McGavin, 2009).

Figura 5 - Aspirado por agulha fina. População homogênea de grandes células linfóides com nucléolos proeminentes e citoplasma basofílico. Essas células são maiores do que o neutrófilo (seta preta) no campo. Figuras mitóticas (setas brancas finas) e macrófagos tingíveis (setas brancas grossas) também estão presentes. (Coloração de Wright, objetiva $\times 60$.)



Fonte: Vail; Young, 2007.

5.5 HISTOPATOLOGIA

Ao caracterizar morfológicamente ou bioquimicamente o tecido e suas células constituintes, o exame histopatológico surge como a técnica exclusiva para oferecer um diagnóstico preciso de neoplasias. Além do diagnóstico, esse exame fornece informações cruciais que auxiliam o clínico na definição do prognóstico e na formulação do plano

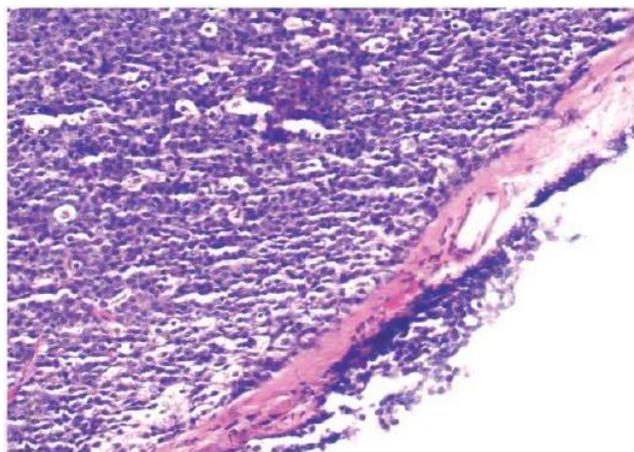
terapêutico mais adequado para o paciente (Werner; Werner, 2016).

Várias técnicas estão disponíveis para a obtenção de amostras de tecido neoplásico, desde técnicas utilizando agulhas até a excisão completa do tecido alvo. A escolha da técnica depende da localização anatômica do tumor, do estado geral de saúde do paciente, da suspeita tumoral, da análise a ser realizada e da preferência do médico veterinário. Estas técnicas podem ser agrupadas em uma de duas categorias principais: biópsia pré-tratamento (biópsia com agulha fina, biópsia por punção, biópsia em cunha, etc.) ou biópsia excisional (Ehrhart; Withrow, 2007).

No caso dos linfonodos a ressecção cirúrgica e a avaliação de todo o linfonodo, ou seja, biópsia excisional, surge como a técnica mais indicada, já que torna possível a observação de toda a arquitetura e envolvimento neoplásico do órgão (Figura 6) (Dickinson, 2008). De acordo com Vail e Young (2007), os linfonodos mais indicados para realização do exame histopatológico são os pré-escapulares e os poplíteos por serem mais acessíveis e mais facilmente removíveis.

Segundo Werner e Werner (2016), uma amostra de boa qualidade é aquela que possibilita um diagnóstico preciso, refletindo a doença apresentada pelo paciente, e que não contenha defeitos ou artefatos que possam comprometer ou impedir esse diagnóstico. Existem quatro principais fatores que influenciam negativamente a qualidade da amostra histológica: falta de representatividade, autólise, artefatos de esmagamento e artefatos causados por eletrobisturi ou termocautério. Além disso, a ausência de informações que acompanham a amostra pode interferir indiretamente na avaliação diagnóstica.

Figura 6 – Corte histológico de linfonodo, presença de células tumorais fora da cápsula do linfonodo (H&E, objetiva×20.)



Fonte: Vail; Young, 2007.

Como apresentado acima, existem diversos modelos de classificação histopatológica utilizados no passar dos anos, porém, atualmente a classificação da OMS é a mais reconhecida na medicina veterinária, como resultado dos diversos trabalhos de classificação histológica, clínica e trabalhos terapêuticos (Sueiro, 2022).

5.6 IMUNO-HISTOQUÍMICA

A imuno-histoquímica é uma técnica que permite a localização e a visualização de um antígeno *in situ*, em cortes histológicos processados de forma rotineira, ou seja, em material fixado em formol e incluído em parafina, bem como em tecidos de congelação e preparados citológicos. A vantagem da técnica de imuno-histoquímica é a associação da visualização do antígeno a ser pesquisado com sua localização no tecido, o que difere de métodos que têm a capacidade de determinar a presença do antígeno e quantificá-lo (citometria de fluxo e reação em cadeia da polimerase PCR/PARR), porém sem a possibilidade de se conhecer o tipo celular que o expressa (Amorim; Neto; Kiupel, 2016).

A imunofenotipagem com a técnica de imuno-histoquímica para identificar o tipo de célula linfóide T ou B é fundamental para o diagnóstico dos linfomas, sendo considerada padrão ouro. O método baseia-se no uso de anticorpos primários, denominados marcadores, que são utilizados para identificar antígenos específicos nas amostras teciduais preparadas em cortes histológicos (Neto; Amorim, 2022).

Existem dois tipos principais de anticorpos primários: monoclonais e policlonais. Os anticorpos monoclonais são projetados para se ligar a um único epítipo antigênico, já os anticorpos policlonais têm a capacidade de se ligar a diferentes epítipos do mesmo antígeno (Neto; Amorim; Kiupel, 2016).

Os anticorpos monoclonais são altamente específicos em comparação com os policlonais. No entanto, eles têm uma menor probabilidade de reação cruzada com espécies animais diferentes do que os anticorpos policlonais. Isso pode dificultar o uso de anticorpos monoclonais comerciais, muitos dos quais são direcionados especificamente para epítipos encontrados em tecidos humanos (Amorim; Neto; Kiupel, 2016).

A maioria dos anticorpos primários e seus clones utilizados como marcadores linfóides usa o termo CD (cluster of differentiation) seguido de uma numeração (Amorim; Neto; Kiupel, 2016). Em células B são expressos os marcadores CD20, CD79a, PAX5, MUM-1 e cadeia leve do anticorpo. Nas células T, estão presentes os marcadores CD2, CD3,

CD4, CD7, CD8 e TIA1 (Neto; Amorim, 2022).

O CD45 é um anticorpo marcador leucocitário comum, ou seja, está presente em todas as células linfoides T e B normais. Este marcador é importante para a distinção de neoplasias indiferenciadas em neoplasias hematopoiéticas (Neto; Amorim, 2022).

Em Linfomas de células B, o CD20 apresenta positividade membranosa para linfócitos B normais, reacionais e neoplásicos. Já o CD79a é um marcador de células B com maior sensibilidade, por ser expresso desde o início de células B precursoras até a maturidade completa, apresentando positividade citoplasmática. O PAX5 é um marcador nuclear expresso em células B precursoras e maduras, deixando de ser expresso à medida que se maturam. MUM-1 é um marcador de células B do centro germinativo, apresentando expressão nuclear em linfomas plasmocíticos. As cadeias leves de anticorpos kappa e lambda são úteis no diagnóstico de linfomas B com diferenciação plasmocítica (Neto; Amorim, 2022).

No caso dos linfomas de células T, o CD3 é o anticorpo mais utilizado, expresso do estágio pró-timócito ao estágio de célula T madura, apresentando positividade membranosa e citoplasmática. CD4 e CD8 são observados em células T auxiliares e células T citotóxicas/supressoras respectivamente. CD2 e CD7 são pouco utilizados em medicina veterinária, CD2 é expresso em células precursoras e periféricas, já o CD7 é um dos primeiros marcadores no desenvolvimento das células T. TIA1 corresponde ao antígeno intracitoplasmático de células T e granzima e perforina são marcadores utilizados para identificar as células T citotóxicas (Neto; Amorim, 2022).

5.7 CITOMETRIA DE FLUXO

A citometria de fluxo é uma técnica que mensura propriedades celulares, como tamanho e granulação, em amostras fluídas que passam através de detectores estacionários com o uso de anticorpos específicos e fluorocromos. Este exame permite a análise da superfície celular, conteúdos citoplasmático e nucleico de milhares de células, tornando possível determinar a linhagem e potencial comportamento celular (Monobe; Assumpção, 2022).

Esta técnica permite avaliar uma ampla variedade de amostra que incluem desde sangue periférico, líquidos cavitários, líquido, células coletadas por aspiração com agulha fina até amostras de biópsia de órgãos e massas sólidas (Monobe; Assumpção, 2022).

As principais vantagens incluem a abordagem multiparamétrica e o uso de um painel

mais abrangente de anticorpos em comparação com outras técnicas. Isso possibilita a descrição detalhada do padrão antigênico das células e oferece informações sobre a linhagem, diferenciação/maturação, ativação e outras características específicas (Riondato; Comazzi, 2021).

A citometria de fluxo também permite avaliar parâmetros que indicam o comportamento imunogênico do tumor utilizando a expressão do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II. No estudo de Rao et. al. (2011), a expressão do MHC II associada a células de grande tamanho estava correlacionada com um pior prognóstico e conseqüentemente menos sobrevida.

5.8 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

O diagnóstico dos linfomas é muitas vezes simples, porém ocorrem situações, como nos estágios iniciais da doença, que podem ser difíceis de distinguir de outras anormalidades como fluidos cavitários que contêm grande número de linfócitos pequenos e de aparência madura; casos com linfocitose crônica ou leve; casos diagnosticados por biópsia em que a biópsia não representa totalmente a lesão; e o achado de um pequeno número de linfócitos atípicos em um aspirado com agulha fina ou fluido cavitário, portanto, ensaios mais sensíveis e objetivos podem ser necessários para detectar malignidades linfoides em cães (Burnett et al, 2003).

A técnica de PCR tem por objetivo amplificar genes de interesse que permitam a análise de expressões gênicas e transcricionais futuras. Estes genes amplificados podem ser através de sequências de DNA ou através de RNA mensageiro, quando este se transforma em DNA complementar pela técnica de PCR-transcriptase reversa (RT-PCR) e, posteriormente, os DNA são quantificados no real time quantitative PCR (RT-qPCR) (Rodrigues; Vieira, 2022).

A clonalidade é uma característica encontrada nos tumores malignos, onde uma população de células malignas deriva da expansão de um único clone inicial, caracterizado por uma região única de DNA. Por exemplo, nos canídeos com linfoma de células T, todas as células tumorais possuem a mesma sequência de DNA que codifica a região variável do receptor de células T. De maneira semelhante, no linfoma de células B, todas as células tumorais possuem sequências de DNA idênticas que codificam a região variável dos receptores de imunoglobulinas (Vail; Young, 2007).

6 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

6.1 LINFONODO HIPERPLÁSICO

A hiperplasia, alteração proliferativa mais frequente observada nos linfonodos de animais (Figuera; Graça, 2016), é decorrente de uma resposta antigênica local ou generalizada que pode incluir infecção, inflamação, doença imunomediada ou neoplasia a partir de uma área drenada pelo linfonodo em questão (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

6.2 LINFADENITE

As linfadenites podem estar associadas à drenagem de uma determinada área inflamada do organismo, ser decorrentes da lesão primária dos linfonodos ou ocorrer como parte de uma doença multicêntrica (Figuera; Graça, 2016). Quando a linfadenite está associada com agente bacteriano ela é geralmente denominada neutrofílica ou supurativa, porém ela pode ocorrer em doenças neoplásicas ou imunomediadas. Linfadenite eosinofílica é frequentemente relacionada com a hipersensibilidade a picada de pulgas e reações secundárias ao mastocitoma cutâneo principalmente. A linfadenite granulomatosa ou piogranulomatosa está normalmente associada com infecções fúngicas, sistêmicas, micobacterioses, leishmaniose, pitiose, entre outras (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

6.3 LINFONODOS METASTÁTICOS

Devido a característica do linfonodo ser um “filtro” para o sistema linfático, ele pode servir de uma captação temporária de células neoplásicas metastáticas. Essas células estranhas geralmente aparecem maiores que os linfócitos da população normal do órgão e apresentam características compatíveis com malignidade e, em alguns casos, com a evolução da neoplasia, a metástase pode substituir completamente o parênquima do linfonodo afetado (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Sabidamente, os carcinomas apresentam uma preferência por metastatizar pela via linfática, mas a presença de células epiteliais de qualquer tipo em um aspirado de linfonodo

indica neoplasia, porém essas células devem ser diferenciadas de células epitelioides de uma inflamação granulomatosa (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Neoplasias de células redondas, como o mastocitoma, costumam causar metástases em linfonodos regionais e deve ser investigado como diferencial quando há o aumento de apenas um linfonodo. Outras neoplasias hematopoiéticas podem causar um envolvimento secundário do linfonodo, com a leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda e leucemia linfocítica crônica causando uma linfadenopatia leve a moderada (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

No caso das neoplasias mesenquimais, a via de eleição para a formação de metástases é a hematogena, porém, alguns sarcomas, como os histiocíticos, possuem alta taxa de metástase para linfonodos em razão de sua origem celular em células dendríticas intersticiais apresentadoras de antígenos, que têm alta taxa de migração para linfonodos (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

7 CLASSIFICAÇÃO DA OMS

A classificação histopatológica da Organização Mundial da Saúde (OMS) está em constante atualização e foi validada e adaptada para a medicina veterinária por Valli et al., em 2002 e é utilizado na caracterização do linfoma em cães por correlacionar critérios citomorfológicos, imunofenotípicos e apresentação clínica, permitindo a comparação de resultados de oncologia comparada (Tabela 1) (Sueiro, 2022).

Tabela 1 – Principais tipos de linfomas multicêntricos segundo a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS).

Linfomas B	Linfomas T/NK
Linfoma linfoblástico B	Linfoma linfoblástico T
Linfoma difuso de grandes células B	Linfoma T periférico não especificado
Linfoma B rico em células T	Linfoma de zona T
Linfoma tipo Burkitt B	Linfoma de grandes células granulares
Linfoma linfoplasmocítico B	Linfoma angioimunoblástico T
Linfoma linfocítico B	Linfoma anaplásico de grandes células
Linfoma plasmablástico	Linfoma angiocêntrico
Linfoma de zona marginal B	Linfoma agressivo de células NK
Linfoma de células do manto B	
Linfoma folicular B	

Fonte: Jark; Anai; Rodrigues (2022, p. 398)

Os linfomas linfoblásticos B apresentam células precursoras de tamanho médio, com núcleo grande, cromatina fina e nucléolo discreto ou ausente. Podem exibir um padrão "céu estrelado". São agressivos, mas raros em cães (1,5% dos casos). O linfoma difuso de grandes células B é o mais comum em cães (60-80%), composto por células grandes e alto índice mitótico. O linfoma B rico em células T, raro em cães (menos de 1%), tem linfócitos B grandes entremeados com linfócitos T pequenos. O linfoma B tipo Burkitt é agressivo e raro, com células intermediárias e alto índice mitótico e apoptótico, também exibindo o padrão "céu estrelado". O linfoma linfocítico B é raro, frequentemente gastrointestinal, de progressão lenta. O linfoma linfoplasmocítico B é raro, com morfologia plasmocitoide, progressão lenta. O linfoma de zona marginal B, com evolução lenta, pode ser nodal, esplênico ou extranodal, sendo a forma esplênica a mais comum. O linfoma de células do manto B, raro, é questionado em animais. O linfoma folicular B é raro, de progressão lenta, com três graus baseados na proporção de células grandes (Sueiro, 2022.)

O linfoma linfoblástico T, derivado de células precursoras, é uma das variantes mais

agressivas de linfoma, com evolução rápida, menor sobrevida e maior quimiorresistência e hipercalcemia. O linfoma T periférico não especificado é caracterizado por uma proliferação difusa de células T de morfologia e índice mitótico variáveis, associado à proliferação vascular, necrose isquêmica, macrófagos e eosinófilos. O linfoma de grandes células granulares é raro, possui linfócitos grandes com citoplasma basofílico e grânulos púrpuras, derivando principalmente de linfócitos T e, ocasionalmente, de células natural killers. O linfoma anaplásico de grandes células, linfoma angiocêntrico e linfoma angioimunoblástico T são raros e de alto grau. Linfoma de zona T é o principal linfoma indolente em cães, apresentando características epidemiológicas específicas por serem altamente prevalentes em Golden Retrievers e possuírem uma sobrevida longa (Sueiro, 2022).

8 ESTADIAMENTO

Uma vez estabelecido o diagnóstico, é necessário determinar o estágio clínico com base na extensão e na gravidade da doença no paciente (Calazans; Daleck; Nardi, 2016). Além disso, ao comparar diferentes protocolos de tratamento quanto à eficácia, é crucial usar sistemas de estadiamento consistentes e semelhantes para evitar a "migração de estádios," que ocorre quando uma metodologia de estadiamento é mais precisa que outra (Vail; Young, 2007).

A avaliação das radiografias torácicas e abdominais pode ser importante para determinar a extensão do envolvimento interno (Vail; Young, 2007). A radiografia torácica pode ser realizada para avaliação dos linfonodos mediastinal, esternal e traqueobrônquico, avaliação do padrão pulmonar e presença de efusão pleural (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Segundo Vail e Young (2007) aproximadamente 60% a 75% dos cães com linfoma multicêntrico apresentam anormalidades nas radiografias torácicas; um terço mostra evidências de infiltrados pulmonares, enquanto dois terços apresentam linfadenopatia torácica (linfonodos esternais e traqueobrônquicos) e alargamento do mediastino cranial.

A ultrassonografia abdominal é utilizada para a avaliação do envolvimento esplênico, hepático, dos linfonodos abdominais e possíveis órgãos que podem ser acometidos pelo linfoma (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Além disso, a ultrassonografia abdominal pode ser importante para a obtenção de amostras intra-abdominais guiadas por ultrassom para diagnóstico do linfoma (Vail; Young, 2007).

Ainda há um debate na medicina veterinária sobre a utilização da punção de medula óssea para avaliação da extensão da doença, para alguns oncologistas, o envolvimento medular não afeta as decisões terapêuticas e não influencia significativamente a alteração do estágio clínico (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Na veterinária a tomografia por emissão de pósitrons (PET) ainda não faz parte dos protocolos de estadiamento do linfoma, principalmente pelo custo envolvido e a disponibilidade limitada de scanner e radioisótopos, porém, já sendo realidade na medicina humana, é uma abordagem bastante promissora para o futuro para identificação de metástases que atualmente não são detectáveis pelos meios de diagnósticos possuídos (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Após a confirmação do diagnóstico e realização dos exames complementares, a extensão da doença deve ser caracterizada em estágio I, onde há o envolvimento de apenas

um linfonodo; estágio II, com envolvimento de linfonodos regionais; estágio III, que possui aumento generalizado dos linfonodos; estágio IV, possui envolvimento do fígado e/ou baço com ou sem linfadenomegalia; estágio V, que cursa com o envolvimento do sangue, medula óssea e/ou outros órgãos; por fim, é realizado o subestadiamento em A, ou seja, sem sinais sistêmicos, ou B, com sinais sistêmicos (Tabela 2) (Valli et al., 2010).

Tabela 2 – Classificação clínica do linfoma segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS).

Estágio	Apresentação
Estágio I	Envolvimento limitado a um linfonodo
Estágio II	Envolvimento de linfonodos regionais
Estágio III	Aumento generalizado dos linfonodos
Estágio IV	Envolvimento do fígado e/ou baço com ou sem linfadenomegalia
Estágio V	Envolvimento do sangue, medula óssea e/ou outros órgãos
Subestadiamento	a) Sem sinais sistêmicos b) Com sinais sistêmicos

Fonte: Jark; Anai; Rodrigues (2022, p. 406)

9 TRATAMENTO

Dado que é uma condição sistêmica, o tratamento mais eficaz do linfoma é a poliquimioterapia, que envolve o uso combinado de vários medicamentos quimioterápicos. Em casos de linfomas localizados, a cirurgia, radioterapia ou ambos podem ser empregados antes ou durante a quimioterapia. No entanto, o uso rotineiro da radioterapia ainda não é comum na prática clínica diária de pacientes com câncer (Couto, 2015).

9.1 QUIMIOTERAPIA

De acordo com Vail e Young (2007), sem tratamento, a maioria dos cães com linfoma morre da doença em 4 a 6 semanas. Com poucas exceções, o linfoma é considerado uma doença sistêmica, necessitando, conseqüentemente, de terapia sistêmica para alcançar a remissão e prolongar a sobrevivência, portanto, a quimioterapia permanece como a terapia de escolha para o linfoma canino, sendo que os protocolos de quimioterapia combinada, em geral, demonstram superior eficácia em comparação aos protocolos de agente único.

A quimioterapia antineoplásica é baseada em três etapas: indução, manutenção e reindução da remissão ou terapia de resgate. Na fase de indução, as doses são maiores e o intervalo entre as sessões de quimioterapia é mais curto. Após a remissão, na fase de manutenção, as doses são menores e o intervalo entre as sessões é maior, com o objetivo de manter a remissão clínica da doença. A terapia de resgate consiste na tentativa de alcançar uma segunda ou terceira remissão por meio de um curso agressivo de quimioterapia (Calazans; Daleck; Nardi, 2016).

Os cães que apresentam linfomas multicêntrico de alto grau costumam responder bem a quimioterapia, no entanto, a duração da resposta clínica pode ser variável. A incorporação do antibiótico antitumoral doxorrubicina nos protocolos de poliquimioterapia apresentou um aumento na sobrevida dos pacientes com linfoma multicêntrico, já que um dos primeiros protocolos instituídos combinava o uso de vincristina, ciclofosfamida e prednisona (protocolo COP). Essa adição resultou na criação do protocolo CHOP (Apêndice A), que consiste na utilização de vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina e prednisona, sendo a terapia de escolha para os linfomas de alto grau (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

O protocolo CHOP possui variações de acordo com o intervalo de administrações dos

fármacos e número de sessões utilizada, porém, trabalhos que avaliaram a eficiência dos protocolos de manutenção longos não demonstraram real benefício clínico até o momento, não sendo rotineiramente utilizados. Atualmente há uma busca pela diminuição da duração do protocolo CHOP sem que afete as taxas de remissão e sobrevida, mas com o intuito de diminuir o número de idas ao oncologista e, conseqüentemente, os custos do tratamento. Foram desenvolvidos trabalhos comparativos utilizando o CHOP de 19, 15 e 12 semanas, porém atualmente a abordagem de 19 semanas de duração é a mais utilizada no tratamento de cães com linfoma multicêntrico de alto grau (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). O protocolo CHOP de 19 semanas consiste na administração de 0,5 a 0,75 mg/m² de vincristina por via intravenosa nas semanas um, três, seis, oito, onze, treze, dezesseis e dezoito; 250 mg/m² de ciclofosfamida via oral nas semanas dois, sete, doze e dezessete; doxorubicina na dose de 30 mg/m² (cães > 10kg) ou 1mg/kg (cães < 10kg) via intravenosa nas semanas quatro, nove, quatorze e dezenove (sempre realizando o exame de ecocardiograma no paciente antes de toda aplicação de doxorubicina); e prednisona via oral nas semanas um, dois, três e quatro, iniciando na dose de 2 mg/kg e reduzindo até sua suspensão na semana cinco (Vail; Young, 2007).

Uma dúvida frequente em relação ao protocolo CHOP é a inclusão ou não da L-asparaginase na primeira semana de tratamento (L-CHOP), visto que as células neoplásicas linfoides necessitam de grande quantidade do aminoácido asparagina para manter o crescimento, portanto a privação deste aminoácido pela L-asparaginase culminaria na morte da célula linfóide neoplásica (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). No entanto, estudos verificaram não haver diferenças significativas na duração da primeira remissão (217 sem L-asparaginase versus 206 com L-asparaginase), no tempo de sobrevivência (308 sem L-asparaginase versus 310 com L-asparaginase) e na prevalência, tipo e grau de toxicidade em cães tratados com ou sem L-asparaginase. Desta forma, parece ser mais apropriado não utilizar esta enzima no protocolo de indução, não só devido aos seus custos elevados, mas também pela baixa disponibilidade e elevada toxicidade (Northrup et al., 2002).

Mesmo o protocolo CHOP sendo atualmente o mais empregado no tratamento dos cães com linfoma multicêntrico, se faz necessária a adaptação do protocolo para aqueles pacientes nos quais não podem fazer o uso de doxorubicina, principalmente devido à sua cardiotoxicidade. Uma alternativa a substituição, é a utilização de mitoxantrona na dose de 6 mg/m² por via intravenosa. Outra opção é o emprego de epirrubicina na dose de 30 mg/m² (cães > 15 kg) ou 1 mg/kg (cães < 15kg) (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

A citarabina, mesmo não sendo aplicável para a substituição da doxorubicina,

demonstra um efeito positivo quando adicionada no protocolo CHOP em cães que possuem linfoma multicêntrico grau V (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Segundo Jark (2022), o uso de citarabina intravenosa durante cinco dias consecutivos na dose de 150 mg/m² por dia aumentou a sobrevida dos pacientes quando associada ao protocolo L-CHOP, em um protocolo chamado VCAA (vincristina, ciclofosfamida, doxorubicina, L-asparaginase e citarabina).

Nos linfomas T, sabidamente mais agressivos, pode ser lançado mão de protocolos como o LOPP, que consiste na associação de lomustina, vincristina, procarbazina e prednisona (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). No estudo de Morgan et al. (2018), 35 cães avaliados com linfoma T obtiveram 94% de resposta positiva ao protocolo LOPP, sendo que 82,8% apresentaram remissão completa do tumor, e a sobrevida livre de progressão e sobrevida global foram de 431 e 507 dias respectivamente. Assim como Morgan, Brown et al. (2017) produziu um estudo com 31 cães diagnosticados com linfoma T e tratados com o LOPP, observou-se uma resposta geral de 97%, intervalo médio da doença de 176 dias e tempo de sobrevida médio de 323 dias. Uma possível explicação para os resultados positivos do protocolo LOPP é que os linfócitos T neoplásicos apresentam baixos níveis de mecanismos de reparo de DNA, portanto um protocolo rico em agentes alquilantes como a lomustina e procarbazina pode causar efeitos nas células por alquilação ou metilação, não sendo reparados pelos mecanismos de resistência à quimioterapia (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Segundo Elliot e Baines (2019), que realizou um estudo retrospectivo de poliquimioterapia incluindo ciclofosfamida ou lomustina como terapia inicial para linfoma de células T de alto grau canino, observa-se que os pacientes que utilizaram o protocolo LEOP (vincristina, lomunstina, epirrubicina e prednisolona) obtiveram uma sobrevida livre de progressão maior do que os tratados com CEOP (vincristina, ciclofosfamida, epirrubicina e predinisolona), sendo 269 dias e 100 dias livres de progressão respectivamente, além de um tempo médio de sobrevida de 155 dias com CEOP e 327 dias com LEOP. É válido condiderar que, de acordo com Elliot et al. (2012), não há diferença na utilização de epirrubina ou doxorubicina nestes protocolos.

Uma das perspectivas futuras para o tratamento dos pacientes caninos com linfoma multicêntrico, que recentemente foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos, é o rabacfosadine, comercialmente conhecido como Tanovea. (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). O Tanovea consiste em um pró-fármaco duplo do análogo da base nitrogenada guanina (Thamm et al., 2017) que possui um mecanismo de ação exclusivo,

tornando-o uma opção de tratamento atraente para linfoma, incluindo doença CHOP recidivante ou refratária (Saba et al., 2017). No estudo de Weishaar et al. (2021), que utilizou 158 cães divididos em um grupo placebo (2 ml/kg de NaCl 0,9%) e um grupo que recebeu rabacfosadine (Tanovea-CA1, 1 ml/kg diluído em NaCl 0,9% para produzir um volume total de infusão de 2 ml/kg), foi observado que os pacientes tratados com Tanovea apresentaram um tempo livre de progressão médio de 81 dias, tendo o grupo placebo uma média de 21 dias. Em um estudo de Thamm et al. (2017), onde foi avaliado um protocolo que intecalava aplicações de rabacfosadine (1 mg/kg, IV) nas semanas 0, 6 e 12 e doxorrubicina (30 mg/m², IV) nas semanas 3, 9 e 15, em 54 cães com linfoma não previamente tratados, a resposta global foi de 84%, além de intervalo livre de progressão médio de 194 dias, resultado que se assemelha aos resultados com protocolo CHOP, sendo uma opção viável em casos onde a disponibilidade do tutor é limitada em relação ao número de visitas ao oncologista. Um fator ainda limitante do uso do Tanovea são os efeitos adversos, que podem ocorrer na forma gastrintestinal, mielossupressão, dermatopatias e fibrose pulmonar, sendo a última irreversível e letal (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

A escolha do protocolo quimioterápico empregado no paciente com linfoma multicêntrico não envolve apenas as taxas de respostas, mas também os custos do tratamento, intervalos de administração e a avaliação dos efeitos adversos, que devem ser previamente discutidos com o tutor. Por isso, em alguns casos se opta pelos protocolos menos intensos e de menor custo, neste caso a opção de doxorrubicina como monoterapia, administrada intravenosa a cada 21 dias é uma alternativa viável desde que o tutor esteja ciente das taxas de resposta serem inferiores ao CHOP ou outros protocolos de poliquimioterapia (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Naqueles linfomas de baixo grau ou indolentes o que se preconiza é a avaliação da extensão da doença e comportamento da neoplasia. Pacientes com doença generalizada, envolvimento sistêmico e que apresentam sinais clínicos podem se beneficiar da quimioterapia utilizando protocolos de clorambucil e prednisona, já aqueles com doença localizada podem fazer o uso de tratamento local e acompanhamento clínico, sem a necessidade de tratamento sistêmico (Jark; Grandi; Costa, 2022).

Apesar dos linfomas multicêntricos de alto grau possuírem uma alta taxa de resposta a quimioterapia e a maioria dos cães obterem remissão completa, é comum a recidiva da doença em algum momento do tratamento, seja durante o protocolo inicial ou após o término. Devido aos mecanismos de resistência a quimioterapia, após a recidiva da doença, as taxas de remissão e a duração de resposta são cada vez mais curtas. Existe uma grande variedade de

protocolos de resgate, utilizando fármacos isolados ou combinados, porém apresentam taxa de resposta variando de 40% a 90% e geralmente de curta duração (1 a 3 meses) (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Na primeira recorrência do linfoma, a reindução deve ser tentada inicialmente com o protocolo de indução previamente eficaz. É importante monitorar a dose cumulativa de doxorrubicina, realizar avaliação cardíaca, considerar cardioprotetores e opções alternativas de medicamentos, além de educar o cliente sobre o novo tratamento (Vail; Young, 2007). Pacientes que utilizaram o protocolo CHOP como indução, mas recidivaram em um período superior a dois meses do término da terapia, podem ser reinduzidos com um novo CHOP, sendo considerada fortemente a alteração de doxorrubicina por mitoxantrona a fim de evitar os efeitos cardiotóxicos. Cães que não responderam ao CHOP, ou que recidivaram em menos de dois meses do fim da terapia, devem ser submetidos a protocolos de resgate utilizando fármacos distintos dos anteriormente utilizados como lomustina, citarabina, actinomicina D, mitoxantrona, dacarbazina, entre outros (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Na experiência de Jark et al. (2022), o uso de lomustina associada à prednisona e, quando disponível, L-asparaginase é uma boa opção como protocolo de resgate.

9.2 RADIOTERAPIA

Os linfomas são sensíveis à ação da radioterapia (Jark; Anai; Rodrigues, 2022), porém sua natureza sistêmica limita a utilidade dessa modalidade de tratamento (Calazans; Daleck; Nardi, 2016). A radioterapia pode ser indicada em casos específicos, como por exemplo utilizando a radiação de meio-corpo, essa aplicação feita após a remissão obtida com quimioterapia de indução foi inicialmente investigada como uma forma de consolidação ou manutenção do tratamento. Nessas investigações, a radioterapia é administrada na metade cranial ou caudal do corpo do cão em duas frações de 4 Grey diárias consecutivas. Após um intervalo de 3 ou 4 semanas, a outra metade do corpo é irradiada de forma semelhante. No estudo de Williams et al. (2004), avaliando 52 cães que receberam inicialmente um protocolo de indução de quimioterapia seguido da radioterapia de meio-corpo, onde cada porção recebeu um total de 8 Grey, divididos em duas frações de 4 Grey em dias consecutivos, tendo intervalo de 3 semanas entre as sessões, demonstrou que o tempo de remissão médio foi de 486 dias, sendo superior aos protocolos de quimioterapia isolados, porém esse aumento é discreto para justificar o uso da radioterapia no linfoma multicêntrico de forma rotineira.

9.3 TERAPIA ALVO

Apesar do protocolo terapêutico do linfoma multicêntrico em cães ser baseado quase que exclusivamente na quimioterapia antineoplásica, inovações terapêuticas como a utilização de terapia-alvo podem em breve ser utilizadas na rotina clínica veterinária. Na medicina humana, três moléculas vêm sendo utilizadas, o ibrutinib, o idelalisib e o verteclax (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

O ibrutinibe é um inibidor covalente oral de BTK (Bruton's tyrosin kinase), um componente essencial na via de sinalização do receptor de células B, que reduziu significativamente a carga tumoral em um modelo de tratamento e prevenção de linfoma de células do manto em roedores (Wang et al., 2013). A toxicidade e eficácia do ibrutinibe ainda não foram avaliados em estudo clínico com cães, porém uma molécula inibidora de BTK de segunda geração, acababrutinib, foi avaliado em cães com linfoma por Harrington et al. (2016), e demonstrou resultados satisfatórios quanto o tempo de sobrevida e segurança no quesito efeitos colaterais.

O verteclax inibe seletivamente a proteína Bcl-2, responsável por regular a apoptose celular e está superexpressa em neoplasias linfoides, ou seja, sua ação é restaurar o processo de apoptose. Este fármaco ainda está em estudo clínico em cães (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

O idelalisib é uma molécula com ação inibitória da PIK3 (phosphatidylinositol 3-kinase), quinase importante na regulação do ciclo celular relacionada com vários tipos tumorais. O bloqueio da PIK3 se mostrou eficaz em cães utilizando a molécula RV1001 no linfoma multicêntrico de células T e B, porém o registro para uso da RV1001 em pacientes caninos ainda não foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

O KPT-335 (verdinexor) é um novo inibidor seletivo de exportação nuclear (SINE), biodisponível por via oral que exibiu atividade antitumoral contra linfoma não-Hodgkin (Sadowski et al., 2018). O verdinexor atua inibindo a ação da exportina 1, responsável pela remoção de proteínas e RNA que atuam como supressores de tumor do núcleo para o citoplasma das células (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). No estudo de Sadowski et al. (2018), os pacientes caninos com linfoma multicêntrico obtiveram uma resposta clínica global de 71%, sendo bem tolerado e apresentando anorexia de grau 1 e 2 como efeito adverso mais comum.

9.4 IMUNOTERAPIA

O uso da imunoterapia em cães com linfoma multicêntrico ainda requer mais estudos e evidências, mas alguns trabalhos já mostram resultados promissores, indicando que essa abordagem terapêutica pode ser viável em breve.

A vacina xenogénica murina contra o CD20 do linfócito B canino recebeu aprovação condicional e licença de uso nos Estados Unidos pelo USDA (United States Department of Agriculture), porém sua eficácia ainda não está muito bem esclarecida. Outra vacina em desenvolvimento, é a que atua na telomerase transcriptase reversa (TERT), que consiste em um antígeno tumoral universal que possui alta expressão em diversos tipos tumorais (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Quando combinada com o protocolo COP, essa vacina pode prolongar o tempo de sobrevida dos cães em até 60 semanas, em média (Calazans; Daleck; Nardi, 2016).

A terapia com células T, especificamente com CART-T (chimeric antigen receptor-engineered T cell) demonstrou ser uma forte inovação no campo da medicina humana e veterinária. Os CART-T são células geneticamente modificadas que expressam constantemente um receptor sintético de célula T que possui como alvo os peptídeos da superfície do linfócito neoplásico como CD19, CD22 e CD30. Para o uso em cães, foi desenvolvido os CART-T específicos para CD20 canino, sendo bem tolerado nos pacientes (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

10 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA À QUIMIOTERAPIA

Com a finalidade de desenvolver um padrão na identificação do momento da falha do tratamento quimioterápico e a consequente introdução de terapias de resgate, assim como para a comparação uniforme entre protocolos de tratamento em estudos futuros, o Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) desenvolveu e publicou em 2010 um consenso para uniformizar essa avaliação (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Neste protocolo, a avaliação dos critérios de remissão completa (RC), remissão parcial (RP), doença estável (DE) e doença progressiva (DP) é relacionada com a mensuração dos linfonodos periféricos (Vail et al., 2010). Foi definido que, para ser incluído na análise, os linfonodos devem possuir no mínimo 10 milímetros (mm) e que pelo menos um dos linfonodos-alvo (linfonodos a serem mensurados) devem ter tamanho superior a 20 mm no momento basal, ou seja, pré-tratamento quimioterápico (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Após a seleção dos linfonodos que atendam aos critérios de inclusão, devem ser selecionados os linfonodos-alvo (maiores ou iguais a 20 mm) que serão utilizadas no cálculo de resposta a terapia. Devem ser selecionados no mínimo um e no máximo cinco linfonodos-alvo, analisados sempre por dois avaliadores e os resultados das médias dos diâmetros encontrados devem ser considerados. Estes mesmos linfonodos irão ser utilizados para mensurações durante todo o tratamento e nos posteriores acompanhamentos (Figura 7). Além disso, todas as lesões não alvo, mensuráveis ou não mensuráveis, devem ser identificadas no prontuário do paciente (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Geralmente a primeira avaliação se dá no momento do diagnóstico, ou seja, pré tratamento. A segunda avaliação se dá normalmente após 6 semanas do início da terapia (42 dias) que coincide com as sessões dos protocolos realizados a cada três semanas (doxorubicina em monoterapia) ou protocolos mais intensos (CHOP), permitindo que o paciente seja submetido a todos os fármacos incluídos no protocolo. Após o final da quimioterapia, as avaliações são recomendadas mensalmente por um ano e seis meses e depois a cada dois meses, isso se deve ao fato que na maioria dos pacientes os linfomas se apresentam como grau intermediário a alto, sofrendo recidiva em um período inferior a 10 meses (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Figura 7 – Cão, Fox Terrier de pelo liso, com diagnóstico de linfoma multicêntrico de alto grau durante a realização das mensurações basais do tamanho dos linfonodos-alvo.



Fonte: Jark; Anai; Rodrigues, 2022.

Após a avaliação dos linfonodos-alvo, os pacientes serão classificados de acordo com o status da doença. Estão em remissão completa aqueles animais onde houve o desaparecimento de toda evidência de doença, os linfonodos-alvo devem estar de tamanhos normais segundo a avaliação do médico veterinário, além da ausência de novas lesões. Os pacientes em remissão parcial possuem uma diminuição de pelo menos 30% da média da soma do maior diâmetro dos linfonodos-alvo avaliados no momento pré-tratamento. Animais com doença estável apresentam uma diminuição inferior a 30% ou um aumento de até 20% na média da soma do maior diâmetro dos linfonodos-alvo avaliados no momento pré-tratamento. Por fim, doença progressiva se caracteriza pelo aumento de pelo menos 20% da soma do maior diâmetro dos linfonodos-alvo avaliados no momento pré-tratamento, associado com o aumento de pelo menos 5 mm de diâmetro de pelo menos um linfonodo-alvo comparado ao momento basal, associado ou não com a presença de novas lesões (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

11 PROGNÓSTICO

Segundo Calazans et al. (2016), são considerados indicadores prognósticos nos cães com linfomas a localização anatômica, imunofenótipo, resposta inicial à quimioterapia e hipercalcemia. Na literatura atual, focada diretamente em linfoma multicêntrico, o prognóstico está relacionado com o tipo histológico (alto e baixo grau de malignidade), imunofenótipo, estadiamento e subestadiamento clínico, resposta à terapia, presença de neutropenia durante o protocolo, alterações hematológicas, uso prévio de corticoides, índices de proliferação e doença residual mínima (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Os dois fatores mais consistentemente identificados como importantes para o prognóstico em cães com linfoma são o imunofenótipo e o subestágio da OMS. Vários estudos confirmaram que cães com tumores imunorreativos a CD3 (ou seja, de origem em células T) apresentam remissões e tempos de sobrevivência significativamente mais curtos. Além disso, foi demonstrado que cães com linfomas de células B que expressam níveis de antígeno B5 inferiores aos normais (presentes em 95% dos linfócitos não neoplásicos) também têm remissões e durações de sobrevivência mais curtas. Cães no subestágio b da OMS (ou seja, clinicamente doentes) apresentam um desempenho pior em comparação com cães no subestágio a. Assim como cães com doença nos estágios I ou II têm um prognóstico melhor do que aqueles com doença mais avançada (estágios III, IV ou V) (Vail; Young, 2007).

A resposta a quimioterapia também é útil para estabelecer o prognóstico, visto que cães com linfoma multicêntrico que obtiveram uma resposta positiva ao protocolo empregado entrando em remissão completa nas primeiras semanas do tratamento apresentam tempo de sobrevida mais longos quando comparados a pacientes em remissão parcial ou com doença estável ou progressiva (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

A neutropenia no paciente com linfoma multicêntrico pode ser indicativo de que estes animais foram expostos a concentrações séricas maiores em relação aos pacientes não neutropênicos, apresentando assim uma resposta superior ao protocolo empregado (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Segundo estudo de Wang et al. (2015), utilizando 50 pacientes caninos com linfoma multicêntrico, foi observado que 37 cães apresentaram neutropenia durante o tratamento e obtiveram tempos de remissão e sobrevida de 812 e 952 dias respectivamente; esse valor se mostrou superior aos encontrados nos pacientes não neutropênicos, 219 e 282 dias respectivamente.

A anemia em cães com linfoma tem causas multifatoriais, sendo principalmente secundária à anemia da inflamação. No entanto, outros mecanismos também podem estar envolvidos, como anemias hemolíticas e a redução da produção medular devido à mielofitose (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Além disso, a prevalência de anemia nestes pacientes geralmente aumenta à medida que o tratamento do câncer progride, devido aos efeitos mielossupressores da quimioterapia citotóxica e da radioterapia (Childress, 2012).

O aumento de neutrófilos e monócitos no sangue de pacientes com linfoma pode ser explicado pela associação destas células na liberação de mediadores inflamatórios que suprimem o sistema imune, portanto, a quantidade dessas células estaria aumentada em razão da diminuição da população de linfócitos, ou seja, causando um estado de imunossupressão, piora do quadro clínico e, por consequência, diminuição da sobrevida (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

A presença de um quadro hipercalcêmico geralmente está associada com linfomas T de alto grau, ou seja, invariavelmente se apresentam de forma agressiva nestes pacientes. A hipercalcemia normalmente está associada à liberação de proteína relacionada ao paratormônio (PTH-rp) pelos linfócitos malignos, gerando uma reabsorção óssea e tubular do cálcio, sendo associada a um pior prognóstico (Jark; Anai; Rodrigues, 2022). Este prognóstico negativo é confirmado no estudo de Mutz et al. (2015), onde foi observado que os pacientes que apresentaram hipercalcemia obtiveram uma sobrevida de 78 dias, quando aqueles normocalcêmicos tiveram sobrevida média de 321 dias.

A relação entre o uso prévio de corticoides e a resistência a quimioterapia ainda é um ponto de grande discussão na medicina veterinária, visto que alguns resultados de trabalhos desenvolvidos sobre o assunto ainda se mostram conflitantes. No entanto, segue-se a recomendação de evitar o uso prolongado dos corticoides previamente a quimioterapia em pacientes com suspeita ou diagnóstico de linfoma multicêntrico (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

Assim como o uso de corticoides, o valor prognóstico dos índices de proliferação Ki-67 e o índice mitótico (IM) ainda não está claro para os linfomas multicêntricos. Isso se deve ao fato de que alguns estudos não demonstraram diferença significativa na sobrevida média de pacientes com IM menor que 21 (por campo de 400x), geralmente associado com maior sobrevida, quando comparados àqueles com IM maior que 21, associados com menor sobrevida. A utilização do Ki-67 também é conflitante, já que existem estudos que demonstram que pacientes com alto valor de Ki-67 obtiveram menor sobrevida média que aqueles com valores baixos, porém, alguns estudos também demonstram que linfomas com

alto Ki-7 apresentam melhores taxas de resposta a quimioterapia e, portanto, um intervalo livre de doença mais longos, sem diferença na sobrevida global (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

A utilização de técnicas de citometria de fluxo ou PARR (PCR), a fim de determinar a presença de doença residual mínima, demonstrou ser uma aliada nas pesquisas com pacientes com linfoma multicêntrico por permitir intervenções terapêuticas precoces, ajustes de protocolos e ser um marcador de tempo de remissão confiável e deve ser utilizado mesmo em pacientes que se apresentem clinicamente em remissão completa (Jark; Anai; Rodrigues, 2022).

12 SÍNDROMES PARANEOPLÁSICAS

12.1 SÍNDROME DA ANOREXIA-CAQUEXIA ASSOCIADA AO CÂNCER

A perda de peso e as alterações metabólicas observadas em pacientes com câncer, mesmo com uma ingestão nutricional adequada, são chamadas de caquexia oncológica. Por outro lado, as alterações causadas pela má ingestão nutricional são conhecidas como anorexia oncológica (Bergman, 2007). A síndrome é relevante porque diminui a eficácia e a tolerância aos quimioterápicos devido a alterações farmacocinéticas, reduz a cicatrização e diminui as reservas corporais, levando a complicações após alguns tratamentos (Mangieri, 2016).

Em pacientes com câncer, a massa primária pode desencadear uma resposta inflamatória sistêmica e catabolismo tecidual, resultando em alterações na musculatura esquelética e no metabolismo das proteínas, carboidratos e lipídios, além de prejudicar o equilíbrio entre apetite e saciedade. Essa situação leva a uma perda progressiva de massa muscular e peso corporal, redução dos depósitos adiposos, diminuição do apetite, astenia (fadiga muscular e mental), anemia, náuseas e imunossupressão (Mangieri, 2016).

12.2 ANEMIA DA DOENÇA CRÔNICA

Os eventos fisiopatológicos associados a anemia do câncer incluem o sequestro do ferro, atividade insuficiente da eritropoetina e diminuição da vida média circulante do eritrócito. A deficiência no ferro ocorre por uso deficiente e sequestro do ferro pelos macrófagos, que fagocitam e retêm a lactoferrina e apoferritina (produtos que contêm ferro em grandes quantidades). Nos pacientes com câncer, a atividade da eritropoetina (EPO) na formação de colônias eritrocitárias é ineficaz devido à deficiência funcional de ferro, essencial para essa função. As citocinas IL1, IL6, TNF α , IFN γ e o fator de crescimento transformante beta induzem a falha na síntese de mRNA para EPO, reduzindo sua produção. Além disso, essas citocinas diminuem a afinidade dos receptores para EPO nas células estromais da medula óssea (que produzem o fator estimulante de colônias eritrocitárias) e a capacidade de resposta das células-mãe eritroides a esses fatores, resultando na redução da produção de eritrócitos em pacientes com câncer, além de que com o aumento da concentração sérica de IL1 há a diminuição da vida média esperada dos eritrócitos circulantes, levando as células

mais novas à hemólise seletiva dentro do sistema retículo endotelial (Mangieri, 2016).

12.3 SÍNDROME DE HIPERVISCOSIDADE SANGUÍNEA

Também chamada de hipergamaglobulinemia, a hiperviscosidade sanguínea ocorre devido a produção excessiva de proteínas de uma linha monoclonal de plasmócitos ou linfócitos produtores de imunoglobulina. Quando a produção dessas imunoglobulinas (Igs), Igs parciais, cadeias pesadas ou cadeias leves se torna extrema, surgem sinais clínicos de hiperviscosidade como ataxia, depressão, demência, doença ou insuficiência cardíaca, convulsões e coma, hipóxia tecidual, sangramento (fraco), agregação plaquetária, revestimento plaquetário com Igs e liberação de fator III plaquetário e até mesmo distúrbios oculares como papiledema, hemorragia retiniana, descolamento, entre outros (Bergman, 2007).

12.4 HIPERCALCEMIA MALIGNA

A hipercalcemia maligna, ou síndrome hipercalcêmica humoral maligna, está associada a neoplasias produtoras do peptídeo relacionado com o paratormônio (PTHrP). Este peptídeo tem similitude de 70% na sequência de aminoácidos em relação a PTH, isto permite que em excesso atue sobre os receptores da PTH. Além disso, os linfomas podem produzir hidroxicolecalciferol, que aumenta a absorção intestinal de cálcio (Mangieri, 2016).

As principais manifestações clínicas da hipercalcemia maligna são decorrentes do comprometimento da função renal. A hipercalcemia grave (cálcio >18 mg/dL) deve ser tratada como uma emergência médica. Inicialmente, há uma incapacidade de concentrar a urina devido à diminuição da resposta ao ADH no túbulo distal. O cálcio reduz o fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular por causa da vasoconstrição grave. A deposição de sal de cálcio no parênquima renal agrava ainda mais a azotemia pré-renal e renal. O epitélio urinário pode sofrer degeneração e, em casos graves, necrose. A situação piora clinicamente à medida que o paciente se torna gravemente poliúrico e polidíptico, começa a vomitar e sofre desidratação contínua e progressiva. Além dos efeitos no sistema renal, em casos graves de hipercalcemia maligna pode-se observar prisão de ventre, hipertensão, espasmos, fraqueza, tremores, depressão, vômitos, bradicardia, estupor e

possivelmente coma ou morte (Bergman, 2007).

12.5 TROMBOCITOPENIA

A trombocitopenia em pacientes oncológicos humanos e animais é tipicamente secundária à administração da quimioterapia, no entanto, segundo relatado por Madewall (1980), a incidência de trombocitopenia em cães portadores de tumor antes da administração do quimioterápico chega a 36% (Bergman, 2007).

Os mecanismos para trombocitopenia paraneoplásica incluem o aumento da destruição plaquetária, sequestro/consumo de plaquetas ou diminuição da produção destas células (Bergman,2007).

13 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico precoce é fundamental para melhorar o prognóstico dos cães afetados. Técnicas como citologia, biópsia, imunofenotipagem e exames de imagem são essenciais para a identificação e caracterização do linfoma. A imunofenotipagem, em particular, tem se mostrado uma ferramenta valiosa para distinguir entre linfomas de células B e T, o que pode influenciar nas opções de tratamento e no prognóstico.

Apesar de uma alta taxa de resposta inicial com a quimioterapia, a recidiva é comum, e a resistência ao tratamento pode se desenvolver. Abordagens emergentes, como terapias imunológicas e medicamentos direcionados, mostram promessas, mas necessitam de mais estudos para avaliação de sua eficácia a longo prazo.

Em suma, o manejo do linfoma multicêntrico canino continua a ser um desafio significativo na medicina veterinária. No entanto, avanços contínuos na compreensão da biologia da doença e no desenvolvimento de novas terapias oferecem esperança para melhores desfechos no futuro. É essencial que veterinários permaneçam atualizados sobre as últimas pesquisas e práticas clínicas para oferecer o melhor cuidado possível aos seus pacientes.

REFERÊNCIAS

- AMORES-FUSTER, I. et al. The diagnostic utility of lymph node cytology samples in dogs and cats. **The journal of small animal practice/Journal of small animal practice**, v. 56, n. 2, p. 125–129, 2014. <https://doi.org/10.1111/jsap.12303>
- AMORIM, R. L.; NETO, R. T.; KIUPEL, M. Imuno-histoquímica no Diagnóstico Oncológico. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2016. p. 133-146.
- BERGMAN, P. J. Paraneoplastic Syndromes. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2007, p. 77-94.
- BROWN, P. M. et al. LOPP chemotherapy as a first-line treatment for dogs with T-cell lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, n. 1, p. 108–113, 16 maio 2017. <https://doi.org/10.1111/vco.12318>
- BURNETT, R. C. et al. Diagnosis of Canine Lymphoid Neoplasia Using Clonal Rearrangements of Antigen Receptor Genes. **Veterinary pathology**, v. 40, n. 1, p. 32–41, 1 jan. 2003. <https://doi.org/10.1354/vp.40-1-32>
- CALAZANS, S. G.; DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. Linfomas. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2016. p. 633-648.
- CHILDRESS, M. O. Hematologic Abnormalities in the Small Animal Cancer Patient. The Veterinary clinics of North America. **Small animal practice/Veterinary clinics of North America**. **Small animal practice**, v. 42, n. 1, p. 123–155, 1 jan. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.09.009>
- CORREIA, J. **Contribuição para o estudo do linfoma maligno no cão**. Tese de Doutorado. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa, 2006.

DICKINSON, R. Canine lymphosarcoma: Overcoming diagnostic obstacles and introduction to the latest diagnostic techniques. **The Canadian Veterinary Journal**, v.49, n.3, p.305-308, 2008. <https://doi.org/10.4141%2Fcjas69-041>

DE CLERCQ, E. Tanovea® for the treatment of lymphoma in dogs. **Biochemical Pharmacology**, v. 154, p. 265–269, 1 ago. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.05.010>

EHRHART, N. P.; WITHROW, S. J. Biopsy Principles. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2007. cap.31, p. 147-153.

ELLIOTT, J. W. et al. Epirubicin as part of a multi-agent chemotherapy protocol for canine lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 11, n. 3, p. 185–198, 28 fev. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00311.x>

ELLIOTT, J.; BAINES, S. A Retrospective Study of Multi-agent Chemotherapy including either Cyclophosphamide or Lomustine as Initial Therapy for Canine High-grade T-cell Lymphoma (2011-2017). **Australian Veterinary Journal**, v. 97, n. 9, p. 308–315, 22 jul. 2019. <https://doi.org/10.1111/avj.12847>

ETTINGER, S. N. Principles of treatment for canine lymphoma. **Clinical techniques in small animal practice**, v. 18, n. 2, p. 92–97, 1 maio 2003. <https://doi.org/10.1053/svms.2003.36622>

FIGHERA, R. A.; GRAÇA, D. L. Sistema Hematopoético. SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. **Patologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: ROCA, 2016. p. 533-650

FLORY, A. B. et al. Stage Migration in Dogs with Lymphoma. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 21, n. 5, p. 1041–1041, 1 jan. 2007. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2007\)21\[1041:smidwl\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2007)21[1041:smidwl]2.0.co;2)

FRY, M. M.; MCGAVIN, M. D. Medula Óssea, Células Sanguíneas e Sistema Linfático. In: ZACHARY, J. F.; MACGAVIN, M. D. **Bases da Patologia em Veterinária**. 5a edição. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2009, p. 1831- 2026.

GRANDI, F.; BARRA, C. N.; KRAUSE, P. C. Citopatologia das Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos. In: JARK, P. C.; RODRIGUES, L. C. S. **Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos**. 1ed. São Paulo: Med Vet, 2022, p. 23-100

HARRINGTON, B. K. et al. Preclinical Evaluation of the Novel BTK Inhibitor Acalabrutinib in Canine Models of B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. **Plos one**, v. 11, n. 7, 19 jul. 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159607>

HARRIS, N. et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. **Blood**, v. 84, n. 5, p. 1361–1392, 1 set. 1994. <https://doi.org/10.1182/blood.V84.5.1361.1361>

JACOBS, R. M.; MESSICK, J. B.; Valli, V. E. Tumors of the hemolymphatic system. In MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**, 4 ed. Iowa State Press: Blackwell Publishing, 2003.

JARK, P. C.; ANAI, L. A.; RODRIGUES, L. C. S. Linfoma Multicêntrico em Cães. In: JARK, P. C.; RODRIGUES, L. C. S. **Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos**. 1ed. São Paulo: Med Vet, 2022, p. 391-442.

JARK, P. C.; GRANDI, F.; COSTA, M. T. Linfoma Multicêntrico em Cães. In: JARK, P. C.; RODRIGUES, L. C. S. **Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos**. 1ed. São Paulo: Med Vet, 2022, p. 503-514.

KUSEWITT, D. F. Neoplasia e Biologia Tumoral. In: MACGAVIN, M. D. **Bases da Patologia em Veterinária**. 5a edição. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2009, p. 733-813.

LENNERT, K.; FELLER, A. C. **Histopathology of Non-Hodgkin's Lymphomas (Based on the Updated Kiel Classification)**. 2ª edição, Heidelberg: Springer-Verlag, 1992.

MADEWALL, B. R.; FELDMAN, B. F.; O'NEILL, S. Coagulation abnormalities in dogs with neoplastic disease. **Thrombosis and haemostasis**, v. 44, n. 1, 1980. In: PubMed; PMID: 6893502

MANGIERI, J. Síndromes Paraneoplásicas em Cães e Gatos. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2016. p. 325-338.

MARCONATO, L. et al. Conformity and controversies in the diagnosis, staging and follow-up evaluation of canine nodal lymphoma: a systematic review of the last 15 years of published literature. **Veterinary and comparative oncology**, v. 15, n. 3, p. 1029–1040, 14 jul. 2016. <https://doi.org/10.1111/vco.12244>

MONOBE, M. M. S.; ASSUMPÇÃO, A. L. F. V. Citometria de Fluxo Aplicada às Neoplasias Hematopoiéticas. In: JARK, P. C.; RODRIGUES, L. C. S. **Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos**. 1ed. São Paulo: Med Vet, 2022, p. 205-259.

MORGAN, E. et al. Canine T cell lymphoma treated with lomustine, vincristine, procarbazine, and prednisolone chemotherapy in 35 dogs. **Veterinary and comparative oncology**, v. 16, n. 4, p. 622–629, 16 ago. 2018. <https://doi.org/10.1111/vco.12430>

MUTZ, M. et al. Prognostic value of baseline absolute lymphocyte concentration and neutrophil/lymphocyte ratio in dogs with newly diagnosed multi-centric lymphoma. **Veterinary and comparative oncology**, v. 13, n. 4, p. 337–347, 21 jun. 2013. <https://doi.org/10.1111/vco.12045>

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Linfomas. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015, 1474. p. 3364-3406.

NETO, R. T; AMORIM, R. L. Imuno-histoquímica Aplicada às Neoplasias Hematopoiéticas. In: JARK, P. C.; RODRIGUES, L. C. S. **Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos**. 1ed. São Paulo: Med Vet, 2022, p. 119-137.

NORTHRUP, N. C. et al. Neutropenia associated with vincristine and L-asparaginase induction chemotherapy for canine lymphoma. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 16, n. 5, 2024. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2002\)016%3C0570:nawval%3E2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2002)016%3C0570:nawval%3E2.3.co;2)

PINELLO, K. C.; DAGLI, M. L. Z. Etiologia e Epidemiologia das Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos. In: JARK, P. C.; RODRIGUES, L. C. S. **Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos**. 1.ed. São Paulo: Med Vet, 2022. p. 3-19.

RAO, S. et al. Class II major histocompatibility complex expression and cell size independently predict survival in canine B-cell lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 25, n. 5, p. 1097-1105, Sep. 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0767.x>

RIBEIRO, R. C. S et al. **Linfoma canino: revisão de literatura**. Medicina Veterinária (UFRPE), Recife, v.9, n.1-4, p.10-19, 2015. <https://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1330>.

RIONDATO, F.; COMAZZI, S. Flow Cytometry in the diagnosis of canine B-cell lymphoma. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne, v. 8, n. 600986, Mar. 2021. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.600986>

RODRIGUES, L. C. S; VIEIRA, T. C. Biologia Molecular Aplicada às Neoplasias Hematopoiéticas. In: JARK, P. C.; RODRIGUES, L. C. S. **Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos**. 1ed. São Paulo: Med Vet, 2022, p. 261-285.

SABA, C. F. et al. Rabacfosadine for relapsed canine B-cell lymphoma: Efficacy and adverse event profiles of 2 different doses. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 16, n. 1, 11 set. 2017. <https://doi.org/10.1111/vco.12337>

SADOWSKI, A. R. et al. Phase II study of the oral selective inhibitor of nuclear export (SINE) KPT-335 (verdinexor) in dogs with lymphoma. **BMC veterinary research**, v. 14, n. 1, 24 ago. 2018. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1587-9>

SANTANA, A. E. et al. Citologia Aspirativa por Agulha Fina Aplicada ao Estudo das Neoplasias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2016. p. 64-77.

SUEIRO, F. A. R. Histopatologia Aplicada às Neoplasias Hematopoiéticas. In: JARK, P. C.; RODRIGUES, L. C. S. **Neoplasias Hematopoiéticas em Cães e Gatos**. 1ed. São Paulo: Med Vet, 2022, p. 101-118.

TESKE, E. et al. Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. **Veterinary Pathology**, 1999. <https://doi.org/10.1354/vp.36-4-292>

THAMM, D. H. et al. Alternating Rabacfosadine/Doxorubicin: Efficacy and Tolerability in Naïve Canine Multicentric Lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 31, n. 3, p. 872–878, 3 abr. 2017. <https://doi.org/10.1111/jvim.14700>

THRALL, M. A. Diagnostic Cytology in Clinical Oncology. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2007. cap.31, p. 122-133.

VAIL, D. M. et al. Response evaluation criteria for peripheral nodal lymphoma in dogs (v1.0)-a veterinary cooperative oncology group (VCOG) consensus document. **Veterinary and comparative oncology**, v. 8, n. 1, p. 28–37, 1 mar. 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2009.00200.x>

VAIL, D. M.; YOUNG, K. M. Canine Lymphoma and Lymphoid Leukemia. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2007, p. 699-733.

VALLI, V. E. et al. Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 198–211, 22 set. 2010. <https://doi.org/10.1177/0300985810379428>

VALLI, V. E.; KASS, P. H.; MYINT, M.; SCOTT, F. Canine Lymphomas: Associations of Classification Type, Disease Stage, Tumor Subtype, Mitotic Rate and Treatment with Survival. **Veterinary pathology**, v. 50, n. 5, p. 738–748, 26 fev. 2013. <https://doi.org/10.1177/0300985813478210>

Valli, V.E.; Jacobs, R.M.; Parodi, A.L.; Vernau, W.; Moore, P.F. Histological Classification of Hematopoietic Tumours of Domestic Animals. In: World Health Organization International Histological Classification of Tumours of Domestic Animals. **Armed Forces Institute of Pathology and The World health Organization. Washington, DC: 2002.**

VILLAMIL, J. A. et al. Hormonal and Sex Impact on the Epidemiology of Canine Lymphoma. **Journal of Cancer Epidemiology**, v. 2009, p. 1–7, 2009. <https://doi.org/10.1155%2F2009%2F591753>

WANG, M. L. et al. Targeting BTK with Ibrutinib in Relapsed or Refractory Mantle-Cell Lymphoma. **New England journal of medicine/The New England journal of medicine**, v. 369, n. 6, p. 507–516, 8 ago. 2013. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal306220>

WANG, S. L.; LEE, J. J.; LIAO, A. T. Chemotherapy-induced neutropenia is associated with prolonged remission duration and survival time in canine lymphoma. **Veterinary journal/The veterinary journal**, v. 205, n. 1, p. 69–73, 1 jul. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.032>

WEISHAAR, K. M. et al. Multicenter, randomized, double-blinded, placebo-controlled study of rabacfosadine in dogs with lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 36, n. 1, p. 215–226, 24 dez. 2021. <https://doi.org/10.1111/jvim.16341>

WELLER, R. E.; HOLMBERG, C. A.; THEILEN, G. H.; MADEWELL, B. R. Histologic classification as a prognostic criterion for canine lymphosarcoma. **American Journal of Veterinary Research**, v 41, n 8, p. 1310-1314. Acedido em Jun. 22, 2009, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6893792>

WERNER, P. R; WERNER, J. Avaliação Histopatológica. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2016. p. 113-128.

WILLIAMS, L. E. et al. Chemotherapy Followed by Half-Body Radiation Therapy for Canine Lymphoma. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 18, n. 5, p. 703–709, 1 set. 2004. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2004\)18%3C703:cfbhr%3E2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2004)18%3C703:cfbhr%3E2.0.co;2)

ZANINI, D. et al. Environmental Risk Factors Related to the Evelopment of Canine Non-Hodgkin's Lymphoma. **Ciência Rural**, v.43, n.7, p. 1302-1308, jul, 2013.
<https://doi.org/10.1590/S0103-84782013005000089>

APÊNDICE A

Tabela 3 – Protocolo CHOP de 19 semanas para o tratamento de cães com linfoma multicêntrico

CHOP-19	Vincristina (0,5-0,7 mg/m ² , IV)	Ciclofosfamida (250 mg/m ² , VO)	Doxorrubicina (30 mg/m ² , IV)	Prednisona*
1	X			X
2		X		X
3	X			X
4			X	X
5				
6	X			
7		X		
8	X			
9			X	
10				
11	X			
12		X		
13	X			
14			X	
15				
16	X			
17		X		
18	X			
19			X	

*2 mg/kg, VO, a cada 24h, 7 dias; 1,5 mg/kg, VO, a cada 24h, 7 dias; 1 mg/kg, VO, a cada 24h, 7 dias; 0,5 mg/kg, VO, a cada 24h, 7 dias.

Fonte: Jark; Anai; Rodrigues (2022, p. 410)