MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Ciências Veterinárias

Estudo dos efeitos dos fármacos anti-neoplásicos em cães com linfoma e osteossarcoma

Carla Isabel Esteves Gonçalves

Orientador:
Professora Doutora Paula Alexandra Martins de Oliveira

Co-orientador:
Dr. Hugo Corte Real Vilhena

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO
VILA REAL, 2010

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Ciências Veterinárias

Estudo dos efeitos dos fármacos anti-neoplásicos em cães com linfoma e osteossarcoma

Carla Isabel Esteves Gonçalves

Orientador:
Professora Doutora Paula Alexandra Martins de Oliveira

Co-orientador:
Dr. Hugo Corte Real Vilhena

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO
VILA REAL, 2010

As doutrinas aqui apresentadas são
da exclusiva responsabilidade do autor

"A maior recompensa do nosso trabalho não é o que nos pagam por ele,
mas aquilo em que ele nos transforma"

John Ruskin

Agradecimentos

- À professora Paula por aceitar orientar-me neste trabalho, pela paciência, pela disponibilidade, pela bibliografia cedida e pelas críticas construtivas…
- Ao Hugo por ser co-orientador deste estudo, pela atenção, pela força, por me ceder todas as fotografias que ajudaram a documentar este trabalho, por tudo que me ensinou, por cativar ainda mais o meu gosto pela quimioterapia e oftalmologia, por contagiar-nos com a paixão e dedicação com que exerce veterinária, pela alegria no trabalho...
- A todos os veterinários do HVBV, pelo modo como me receberam e por me darem oportunidade de aprender com eles durante 5 meses;
- A todos os autores que tão prontamente se disponibilizaram a enviar-me referências bibliográficas, sem as quais não poderia realizar este trabalho;
- Aos meus pais, por todo o esforço que fizeram para eu poder chegar até aqui, pelo apoio que sempre me demonstraram: são os meus alicerces, o meu refúgio, a eles devo a maior parte do que hoje sou…
- À minha mana por me fazer sentir que está sempre presente quando eu precisar…e por me proporcionar bons momentos de descontracção, pelas conversas, pelos passeios de bicicleta…
- Ao 3ºB por tornarem 5 anos académicos inesquecíveis! Para o bem ou para o mal estiveram ali, fizeram-me crescer em família! à Marlene por tudo que compartilhámos; à Fatinha por se tornar na minha irmã do coração, por saber abraçar-me nas horas certas; à Maria pela companhia nos cafés e pela sinceridade…agradeço, por me fazerem sentir que mesmo depois da vida académica, posso contar com vocês para a vida…
- Ao Bê, por ser para mim, o irmão o que não tenho…
- À Sissa que é, e sempre será, a minha amiga do peito, aquela que sempre tentarei ajudar e que sei que estará disponível se precisar. Por ser a minha âncora em tantos desalentos…pela sua espontaneidade, pelos risos, por ser genuína, por não desistir de mim, pela força, pelo optimismo, por ensinar-me a receber e não apenas dar…
- A todos os auxiliares e aos enfermeiros do HVBV, pela magnífica forma com me acolheram; à Dani pela paciência e orientação; ao Nuno pela sua alegria e por me acompanhar na aventura em busca das "Nés"…
- Um especial agradecimento à Aninha… pela forma com me recebeu me Águeda, pela fantástica guia turística, pela simples companhia, pelos sorrisos e afinidade, pelas aventuras nas viagens, por me salvar do degelo do Inverno… enfim pela amizade!

- Aos colegas que comigo compartilharam 5 meses de estágio, em especial, à Carina e à Sandrinha, que comigo compartilharam dúvidas, alegrias e aventuras… simplesmente umas *estagietes* fantásticas!
- Aos meus amigos em Âncora, pela forma como me aturaram, pela compreensão, por não me esquecerem; um especial agradecimento à Andreia, por mesmo longe fazer-me sentir o seu apoio e ao Marco pela sua simplicidade e pela forma como trata os animais…
- À Sara pela confiança que sempre demonstrou em mim, pela sua maturidade, pela companhia durante a execução deste trabalho, pela boa disposição e apoio;
- À Fatinha e à sua irmã, Lena, pela sua alegria e descontracção, pelas palavras amigas e sorrisos constantes;
- Às Catarinas de Braga e ao Valter por todas as aventuras vividas e momentos compartilhados;
- À Xu por todo o seu carinho,
- À Berita e à Lara pela ajuda que me proporcionaram no final deste trabalho;
- À Ana da Sebenta por todas as cópias;
- À Dona Isabel e à Dona Irene, pela forma sábia como me apoiaram e me acalmavam com simples e doces olhares… por fazer-nos sentir em casa numa cidade que pouco a pouco, fomos tornando nossa;
- Ao pessoal do CMA de Águeda pelos serões animados e descontracção que me proporcionaram…
- Agradeço por fim, a todos os meus colegas e amigos da UTAD e a todos aqueles que não referi o nome, mas de alguma forma fizeram ou fazem parte da minha vida, que me acompanharam na minha caminhada, que me ensinaram algo, que me fizeram sorrir e foram essenciais para me naquilo que hoje sou! Por comigo dividirem momentos nesta etapa fantástica, que é a vida académica, o meu: MUITO OBRIGADO!

Resumo

A utilização da quimioterapia oncológica no tratamento do linfoma canino e do osteossarcoma constitui uma opção terapêutica cada vez mais utilizada com resultados favoráveis. Contudo esta abordagem terapêutica está associada a diversos efeitos adversos em vários parâmetros fisiológicos do animal.

Durante este estudo foram sujeitos a tratamento de quimioterapia oncológica 9 cães com linfoma e 3 animais com osteossarcoma.

O presente estudo pretendeu avaliar os efeitos adversos provocados pelos fármacos anti-neoplásicos administrados, através da análise do hemograma, dos sinais clínicos exibidos pelos animais e informações referidas pelos proprietários.

Após o diagnóstico citológico/histopatológico, o protocolo utilizado no tratamento dos animais com o linfoma foi o *Madison-Wisconson short*. Após a confirmação histopatológica e tratamento cirúrgico do osteossarcoma apendicular, os animais foram submetidos a quimioterapia adjuvante com a doxorrubicina e a carboplatina alternadamente, durante 6 ciclos consecutivos.

Nos animais com linfoma, a forma anatómica mais comum foi o linfoma multicêntrico com 66,7% dos casos. A forma anatómica do linfoma cutâneo representou 22,2% dos casos e o linfoma intestinal 11,1% dos casos. No presente estudo, no grupo dos animais com linfoma, a doxorrubicina provocou trombocitopenia em 29,4% das suas administrações, embora sem complicações clínicas. A ciclofosfamida provocou neutropenia em 33,3% dos ciclos em que foi utilizada, contudo, a vincristina foi responsável por episódios mais graves. Após a sua administração, dois dos animais foram hospitalizados, com valores de neutrófilos de 950 células/µl e de 510 células/µl, sendo necessário reduzir a dose em posteriores administrações desse composto. Nos animais medicados com vincristina foi necessário adiar os ciclos de tratamento em 15,9% das suas utilizações, seguido da ciclofosfamida em 11,1% das suas administrações. O fármaco anti-neoplásico com o qual se observou um maior número efeitos adversos gastrintestinais foi a doxorrubicina, sendo os efeitos adversos de intensidade leve a moderada.

Em 22,2% dos animais substituiu-se a ciclofosfamida pelo clorambucil após revelarem hematúria compatível com a cistite hemorrágica estéril. A doxorrubicina provocou reacções anafiláticas em 22,2% dos animais, pelo que nos subsequentes ciclos de tratamento substituiu-se este fármaco anti-neoplásico pelo mitoxantrone.

No grupo dos animais com osteossarcoma ocorreram dois episódios de neutropenia ligeira após a administração da carboplatina em diferentes animais, com valores de 2270 neutrófilos/µl e 2510 neutrófilos/µl, respectivamente. Não houve necessidade de adiar os ciclos de quimioterapia nem reduzir as doses dos fármacos anti-neoplásicos. Nenhum animal necessitou de hospitalização. Os animais com osteossarcoma sujeitos a quimioterapia adjuvante demonstraram efeitos adversos gastrintestinais leves a moderados: em 66,7% das administrações da doxorrubicina registaram-se episódios de náusea/anorexia e em 44,4% dos ciclos em que a carboplatina foi utilizada provocou sintomatologia gastrintestinal leve.

No grupo de animais com linfoma, apenas 4 animais permanecem vivos e 2 encontram-se ainda em tratamento. O tempo médio de sobrevida situa-se nos 153,9 dias (intervalo entre 11 e 607 dias). O grupo de animais com osteossarcoma alcançou um tempo de sobrevida total médio de 233,7 dias após o diagnóstico (com intervalo de 158 a 319 dias).

Pela reduzida casuística deste estudo não foi possível correlacionar os fármacos anti-neoplásicos com alterações nos parâmetros fisiológicos nos animais. O protocolo *Madison-Wisconson short* utilizado no tratamento do linfoma provoca toxicidade hematológica e gastrintestinal leve a moderada, sendo necessário, em alguns animais, o adiamento dos ciclos e/ou rectificação da dose dos fármacos anti-neoplásicos administrados, podendo mesmo necessitarem de hospitalização. A carboplatina e a doxorrubicina administradas como quimioterapia adjuvante em animais com osteossarcoma, parecem ser seguras e clinicamente bem toleráveis nas doses convencionais.

Palavras-chave:

Linfoma canino; Tumor ósseo primário, Quimioterapia oncológica; Ciclofosfamida; Doxorrubicina; Vincristina, Efeitos adversos; Toxicidade gastrintestinal; Neutropenia; Trombocitopenia.

Abstract

The use of chemotherapy in the treatment of canine lymphoma and osteosarcoma constitutes a therapeutic option that has been increasingly used with positive results. However, this therapeutic approach is associated to several adverse effects on various physiological parameters of the animal.

During this study 9 dogs with lymphoma and 3 animals with osteosarcoma were submitted to chemotherapy treatment.

This study aimed to evaluate the adverse effects caused by anticancer drugs, through the analysis of hemogram, clinical signs exhibited by the animals and information provided by their owners.

After the cytologic/histopathology diagnosis, the protocol used in the treatment of the animals with lymphoma was the Madison-Wisconson short. After histopathological confirmation and surgical treatment of appendicular osteosarcoma, the animals were subjected to adjuvant chemotherapy with doxorubicin and carboplatin alternately for 6 consecutive cycles.

In the group of animals with lymphoma, the most common anatomical form found was the multicentric lymphoma, in 66.7% of the cases. The anatomical form of the cutaneous lymphoma accounted for 22.2%, while the intestinal lymphoma represented 11.1% of cases. In this study, in the group of the animals with lymphoma, doxorubicin caused thrombocytopenia in 29.4% of their administrations, but without clinical complications. Cyclophosphamide caused neutropenia in 33.3% of the cycles in which it was used, however, vincristine was responsible for more severe episodes. After its administration, two animals were hospitalized, with values of neutrophils of 950 cells/µl and 510cells/µl, which required a dose reduction in the subsequent administrations of this compound. In the animals treated with vincristine it was necessary to delay the treatment cycles in 15.9% of treatments, followed by cyclophosphamide in 11.1% of its administrations. The anticancer drug that had adverse gastrointestinal effects was doxorubicin, being these effects mild to moderate. In 22.2% of the animals cyclophosphamide was replaced by chlorambucil, after it revealed hematuria compatible with sterile hemorrhagic cystitis. Doxorubicin caused anaphylactic reactions in 22.2% of the animals, so in the subsequent treatment cycles it was replaced by mitoxantrone.

In the group of the animals with osteosarcoma there were two episodes, in different animals, of mild neutropenia after administration of carboplatin, with values of 2270 neutrophils/µl and 2510 neutrophils/ µl, respectively. There was no need to neither delay the cycles of chemotherapy nor reduce the doses of anticancer drugs. No animal required

hospitalization. Animals subjected to adjuvant chemotherapy for osteosarcoma showed mild to moderate gastrointestinal adverse effects: in 66.7% of the administrations of doxorubicin there were episodes of nausea/anorexia and in 44.4% of the cycles in which carboplatin was used, it caused gastrointestinal mild symptoms.

In the group of the animals with lymphoma, only four animals survived and two are still in treatment. The median survival time stands at 153.9 days (range between 11 and 607 days). The group of the animals with osteosarcoma had a median survival time that reached a mean total of 233.7 days after diagnosis (interval 158-319 days).

Due to our small sampling it was not possible to correlate the anticancer drugs with the changes in the physiological parameters of the animals. The protocol Madison-Wisconson short used in the treatment of lymphoma causes mild to moderate hematologic and gastrointestinal toxicity, which required, in some of the animals, the delay of the cycles and/or reduction of the dose of anticancer drugs administered and even hospitalization. Carboplatin and doxorubicin, administered as adjuvant chemotherapy for osteosarcoma in the animals, appear to be clinically safe and well tolerated in conventional doses.

Keywords:

Canine lymphoma; Primary bone tumor; Chemotherapy; Cyclophosphamide; Doxorubicin; Vincristine; Carboplatin; Adverse events; Gastrointestinal toxicity; Neutropenia; Trombocitopenia.

Índice geral

1. Introdução teórica 1
1.1. Linfoma canino 1
1.1.1. Etiologia 1
1.1.2. Classificação anatómica/ Sinais Clínicos 1
1.1.2.1. Linfoma multicêntrico 2
1.1.2.2. Linfoma alimentar 3
1.1.2.3. Linfoma mediastínico 3
1.1.2.4. Linfoma cutâneo 4
1.1.2.5. Linfoma ocular 4
1.1.3. Diagnóstico 5
1.1.4. Factores de prognóstico 6
1.1.5. Protocolos terapêuticos mais comuns 7
1.2. Osteossarcoma Canino 9
1.2.1. Etiologia 9
1.2.2. História e sinais clínicos 9
1.2.3. Diagnóstico 10
1.2.4. Factores de prognóstico 10
1.2.5. Opções de tratamento 11
1.2.5.1. Tratamento cirúrgico 11
1.2.5.2. Quimioterapia oncológica adjuvante 11
1.2.5.3. Tratamento paliativo 12
1.3. Princípios gerais de Quimioterapia oncológica 12
1.3.1. Conceitos Gerais 12
1.3.2. Monoterapia ou terapia combinada 16
1.3.3. Posologia 16
1.3.4. Dimensões do tumor 17
1.3.5. Resistência à quimioterapia oncológica 17
1.3.6. Cuidados de manipulação dos fármacos anti-neoplásicos 18
1.4. Toxicidades dos fármacos anti-neoplásicos 19
1.4.1. Extravasamento local 19
1.4.2. Mielotoxicidade 20

1.4.3. Efeitos adversos sobre o trato gastrintestinal 23
1.4.4. Alopécia 24
1.4.5. Reacções alérgicas 24
1.4.6. Cardiotoxicidade 25
1.4.7. Toxicidade do sistema urinário 26
1.4.8. Neurotoxicidade 27
1.4.9. Toxicidade pulmonar 27
1.4.10. Toxicidade pancreática/ Toxicidade hepática 28
1.4.11. Síndrome de líse tumoral aguda 28
2. Objectivos 29
3. Material e Métodos 29
3.1. Definição do local 29
3.2. Casuística 29
3.3. Protocolos quimioterápicos adoptados 30
3.4. Recolha de dados dos animais 30
3.5. Análise estatística 32
4. Resultados 33
4.1. Amostragem 33
4.2. Características dos animais 33
4.3. Classificação e estadiamento 34
4.4. Avaliação da toxicidade 36
4.4.1. Registo dos efeitos adversos provocados pelos fármacos anti-neoplásicos nos animais com linfoma 36
4.4.1.1. Toxicidade hematológica 36
4.4.1.2. Efeitos adversos sobre o trato gastrintestinal 38
4.4.1.3. Outras alterações nos parâmetros fisiológicos 38
4.4.2. Registo dos efeitos adversos provocados pelos fármacos anti-neoplásicos nos animais com osteossarcoma 40
4.4.2.1. Toxicidade hematológica 40
4.4.2.2. Efeitos adversos sobre o TGI 41
4.4.2.3. Outras alterações nos parâmetros fisiológicos 41
4.5. Resposta ao tratamento, duração de remissão, tempo de sobrevida 41
5. Discussão 44
6. Considerações finais 53

7. Referências bibliográficas 54

ANEXOS xix

Índice de figuras

Figura 1- Linfadenomegalia generalizada característica num animal com linfoma multicêntrico (fotos gentilmente cedidas pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV)..... **3**

Figura 2- Uveíte secundária num animal com linfoma multicêntrico (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV)……... **5**

Figura 3- Mecanismo de acção dos fármacos anti-neoplásicos (adaptado de Argyle, 2008)..... **14**

Figura 4- Rx lateral da tíbia distal evidenciando lesão cortical osteolítica e osteoprodutiva, perda das trabéculas ósseas e invasão do OSA para os tecidos moles (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV)……... **34**

Figura 5- Linfoma cutâneo não epiteliotrópico (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV)……... **36**

Figura 6- Envolvimento intraocular e dos tecidos perioculares de um animal com linfoma cutâneo epiteliotrópico (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV)……. **36**

Figura 7- Padrão da pelagem antes e após tratamento quimioterápico, respectivamente (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV)…….. **39**

Figura 8- Observação de hematúria num animal tratado com ciclofosfamida, compatível com cistite hemorrágica estéril (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).... **39**

Figura 9- Edema facial num animal com reacção anafilática após a administração da doxorrubicina (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV)……... **39**

Figura 10- Rx lateral de um animal com OSA evidenciando diversas metástases pulmonares (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena)……... **43**

Índice de quadros

Quadro 1- Classificação dos linfomas com base na localização anatómica……. **2**

Quadro 2- Estadiamento clínico do linfoma……. **2**

Quadro 3- Classificação dos fármacos anti-neoplásicos oncológicos em função do seu mecanismo de acção…….. **13**

Quadro 4- Classificação dos graus de remissão clínica do linfoma……. **15**

Quadro 5- Fórmula para cálculo da superfície de área corporal em m^2……... **16**

Quadro 6- Decisões com base na contagem absoluta de neutrófilos, plaquetas, febre e sinais clínicos……. **22**

Quadro 7- Protocolo utilizado no tratamento do linfoma canino……. **29**

Quadro 8- Protocolo utilizado no tratamento de osteossarcoma canino…….. **30**

Quadro 9- Descrição dos parâmetros fisiológicos avaliados nos animais sujeitos a tratamento de quimioterapia oncológica…… **32**

Quadro 10- Dados dos animais com linfoma e osteossarcoma…… **33**

Quadro 11- Classificação, estadiamento, imunofenótipo e alterações bioquímicas nos animais com linfomas e osteossarcomas……... **35**

Quadro 12- Registos da ocorrência de neutropenia e trombocitopenia nos animais com linfoma…….. **37**

Quadro 13-Registos da ocorrência de toxicidade hematológica associada a cada fármaco anti-neoplásico durante o tratamento do linfoma…… **37**

Quadro 14- Registos da ocorrência dos efeitos adversos do TGI após ciclos de tratamento em animais com linfoma…….. **38**

Quadro 15- Registos da ocorrência de alterações em parâmetros fisiológicos, após ciclos de tratamento de animais com linfoma…… **39**

Quadro 16- Registos da ocorrência da neutropenia e de trombocitopenia nos animais com osteossarcoma…… **40**

Quadro 17- Registos da ocorrência de toxicidade hematológica associada a cada fármaco anti-neoplásico durante o tratamento do osteossarcoma……. **40**

Quadro 18- Registos da ocorrência dos efeitos adversos no TGI após ciclos de tratamento de animais com osteossarcoma…… **41**

Quadro 19- Registos da ocorrência de alterações em parâmetros fisiológicos, após ciclos de tratamento de animais com OSA…… **41**

Quadro 20- Relação entre o diagnóstico, número total de ciclos, duração de remissão e tempo de sobrevida nos animais com linfoma…….... **42**

Quadro 21- Relação entre o número de ciclos e o tempo de sobrevida nos animais com osteossarcoma……. **42**

Lista de siglas/acrónimos, abreviaturas, sinais e símbolos

% - Percentagem

+/- mais/menos

< - Menor

> - Maior

♂- Macho

♀- Fêmea

AB- Antibióticos

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AINE's- Anti-inflamatórios não esteróides

ALP - Fosfatase alcalina

BAS- Basófilos

BID- Duas vezes ao dia (12 em 12 horas)

CMH- Concentração média de hemoglobina

CMHC- Concentração hemoglobina corpuscular média

CHOP- Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina, Prednisolona (Protocolo *UW Short)*

COAP- Ciclofosfamida, Vincristina, Citosina arabinósideo, Prednisona

COP- Ciclofosfamida, Vincristina, Prednisona

COPLA/LVP-Ciclofosfamida, Vincristina, Prednisona, L-asparginase, Doxorrubicina

DMSO- Dimetilsulfóxido

DP- Desvio Padrão

ECG- Electrocardiograma

EOS- Eosinófilos

H- Hidroxidoxorrubicina; doxorrubicina

HGb- Hemoglobina

HTc- Hematócrito

HVBV- Hospital Veterinário do Baixo Vouga

i.e.- isto é

IM- Via intra-muscular

IV- Via endovenosa

Kg- Quilograma

L-CHOP- L-asparginase, Doxorrubicina, Vincristina, Prednisolona

L- VCAM- L-asparginase, vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina, metotrexato (Protocolo *University of Wisconsin–Madison*)

LIN- Linfócitos

L-PVCD- L-asparginase, prednisona, vincristina, ciclofosfamida, dactinomicina

mg - Miligrama

ml - Mililitro

MON- Monócitos

MRD 1- Gene de resistência a múltiplos fármacos

NA- Não aplicável

NEU- Neutrófilos

OMS- Organização Mundial de Saúde

OSA- Osteossarcoma Canino

PO- Via oral

PLQ- Plaquetas

QID- Quatro vezes ao dia (de 6 em 6 h)

RBC- Glóbulos vermelhos

RDW- Índice de anisocitose dos eritrócitos, do inglês *Red Cell Distribution Width*

RET- Reticulócitos

RNA- Ácido ribonucleico

RX- Raios X

SC- Subcutânea

SID- Uma vez ao dia (24 em 24 horas**)**

SLTA- Síndrome de lise tumoral aguda

SRD- Raça indeterminada

TGI- Trato gastrintestinal

TID- Três vezes ao dia (8 em 8 horas)

VCM - Volume celular médio

VL-CAP- Vincristina, L-asparginase, Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Prednisona

VMC-L- Vincristina, Metotrexato, Ciclofosfamida

WBC- Leucócitos

µL - Micrólitro

1. Introdução teórica

1.1. Linfoma canino

Os linfomas (ou linfossarcomas) constituem um grupo heterogéneo de neoplasias com origem nas células do sistema linforreticular. Surgem geralmente em tecidos linfóides como os gânglios linfáticos, o baço e a medula óssea, não obstante, podem aparecer em qualquer tecido do corpo (Dobson, 2004).

O linfoma é o tumor hematopoiético mais comum em cães (Coyle, 2001; Chun, 2009), representando 5 a 7% de todas as neoplasias caninas e 85% de todos os tumores hematopoiéticos (Vail *et al.*, 2001; Gavazza *et al*., 2001; Ettinger, 2003). Afecta principalmente animais de meia-idade a geriátricos (idade média 6 a 9 anos), podendo surgir em animais com menos de 6 meses e mais de 15 anos. Não parece haver predisposição sexual. Está referida maior incidência nas seguintes raças: Boxers, Bull Mastiffs, Basset Hounds, São Bernardo, Scottish Terriers, Airedales Terriers e Bulldogs podendo, no entanto, ocorrer em qualquer raça (Edwards, 2003; Ettinger, 2003).

1.1.1. Etiologia

A etiologia do linfoma canino permanece ainda desconhecida e assume-se que seja multifactorial. Diversos estudos apontam para a interferência dos factores genéticos e moleculares, causas infecciosas, ambientais e situações de imunossupressão (Gavazza, 2001; Withrow e Vail, 2007).

1.1.2. Classificação anatómica/ Sinais Clínicos

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) os linfomas podem ser classificados com base na sua localização anatómica e em vários estadios clínicos (Quadro 1 e 2). Cada forma anatómica reúne sinais clínicos semelhantes (Ettinger, 2003).

Quadro 1- Classificação dos linfomas com base na localização anatómica (OMS, 1980).

Localização Anatómica
A. Generalizado/multicêntrico
B. Alimentar
C. Mediastínico
D. Cutâneo
E. Extranodal (inclui tumores isolados renais)
F. Leucemia (verdadeira)*

*apenas envolvimento sanguíneo e da medula óssea

Quadro 2- Estadiamento clínico do linfoma (OMS, 1980).

I- Envolvimento limitado a um único linfonodo ou tecido linfóide num único órgão
II- Envolvimento de vários linfonodos numa área regional (+/- amígdalas)
III- Envolvimento generalizado de linfonodos
IV- Envolvimento de fígado e/ou baço (+/- estadio III)
V- Manifestações no sangue e envolvimento da medula óssea e/ou outros sistemas de órgãos (+/- estadio I-II)

Cada estadio pode ser subclassificado em:
→ Subestadio a: sem sinais sistémicos
→ Subsestadio b: com sinais sistémicos

1.1.2.1. Linfoma multicêntrico

O linfoma multicêntrico representa cerca de 84% de todos os linfomas caninos (Gavazza *et al*., 2001). Este tipo de neoplasia caracteriza-se por linfadenomegalia generalizada (figura 1), tipicamente indolor à palpação; os linfonodos apresentam uma consistência branda. Os animais são muitas vezes assintomáticos, mas 20 a 40% dos animais apresentam sinais inespecíficos como anorexia, letargia, febre, perda de peso, polidipsia, poliúria, dispneia, vómito, diarreia e melena. Com o avançar da doença podem ocorrer hepatomegalia e infiltração pulmonar difusa (Vail, 2003; Lowe, 2004; Gavazza, 2008). Ao Raio X (RX) torácico, cerca de 2/3 dos animais com linfoma multicêntrico manifestam linfadenomegalia dos gânglios mediastínicos e 1/3 dos cães tem infiltração pulmonar difusa. Cerca de metade apresentam alterações no RX abdominal a nível dos gânglios (Blackwood, 1997).

Cerca de 80% dos linfomas multicêntricos têm origem nos linfócitos B, sendo os restantes 20% classificados como tumores com origem nos linfóctios T (Ruslander *et al*., 1997; Kiupel *et al.,* 1999; Vail *et al.*, 2003).

Os principais diagnósticos diferenciais para linfadenopatia generalizada incluem causas infecciosas (doenças fúngicas, bacterianas, virícas, parasitárias ou ricketzias), outros tipos de neoplasias (leucemia aguda ou crónica) e doenças imunomediadas (aumento moderado dos gânglios linfáticos) (Morgan, 2007).

Figura 1- Linfadenomegalia generalizada característica num animal com linfoma multicêntrico (fotos gentilmente cedidas pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).

1.1.2.2. Linfoma alimentar

O linfoma alimentar é das formas menos prevalentes, representa cerca de 4 a 5% dos casos de linfoma canino (Gavazza *et al.,* 2001) e caracteriza-se por um envolvimento dos gânglios do trato digestivo, no entanto, o envolvimento dos gânglios mesentéricos pode surgir como consequência das metástases do linfoma multicêntrico (Frank *et al.*, 2007).

Os sinais clínicos do linfoma alimentar são também pouco específicos: diarreia, vómito, perda de peso e síndrome de má-absorção (Lowe, 2004). A infiltração da submucosa e da lâmina própria do intestino delgado com células neoplásicas é geralmente difusa e multifocal. Menos frequentemente, há infiltração transmural da serosa. Histologicamente pode constituir um desafio distinguir um linfoma alimentar de uma enterite linfoplasmocitária (Ettinger, 2003).

1.1.2.3. Linfoma mediastínico

O linfoma mediastínico representa cerca de 7% dos casos de linfoma e implica o envolvimento dos linfonodos mediastínicos craniais e/ou timo, podendo, por essa razão,

provocar efusão pleural e dispneia. Os animais podem, para além dos referidos sinais clínicos, apresentar intolerância ao exercício físico e regurgitação (Ettinger, 2003).

A hipercalcemia secundária à produção das hormonas da paratiróide (parathormona) e o aumento da absorção da vitamina D, resulta num aumento sérico do cálcio livre (Weir *et al*., 1988). Neste tipo de neoplasia a hipercalcemia secundária constitui a síndrome paraneoplásica mais comum (Ettinger, 2003), desencadeando polidipsia/poliúria e insuficiência renal.

1.1.2.4. Linfoma cutâneo

O comportamento biológico do linfoma cutâneo varia, podem surgir lesões cutâneas únicas ou generalizadas. As lesões cutâneas podem-se apresentar como nódulos, placas, úlceras, eritema ou dermatite exfoliativa. Podem também surgir lesões na mucosa oral. Aproximadamente 50% dos animais apresentam prurido (Vail, 2003).

O linfoma cutâneo pode classificar-se em duas formas distintas: a forma epiteliotrópica (mais comum em cães) e a não-epiteliotrópica. Na forma epileliotrópica predominam os linfócitos T (CD8+) sendo também denominada de *mycosis fungoides* (Moore, 1994; Coyle *et al.*, 2004). Em contraste, o linfoma cutâneo não epiteliotrópico (originário nos linfócitos B) poupa a epiderme e a derme papilar e afecta as camadas mais profundas da derme (Ettinger, 2003; Withrow e MacEWen's, 2007).

1.1.2.5. Linfoma ocular

O linfoma ocular é caracterizado por infiltração de células neoplásicas no olho e espessamento da íris, uveíte, hipópion, hifema e glaucoma. O exame do fundo do olho poderá demonstrar descolamento da retina e infiltração do nervo óptico (Withrow e MacEWen's, 2007).

Em 40% dos casos de linfoma multicêntrico surgem alterações oculares devido a infiltração das células neoplásicas e uveíte paraneoplásica, que devem ser distinguidas do linfoma ocular propriamente dito (Ettinger, 2003) (figura 2).

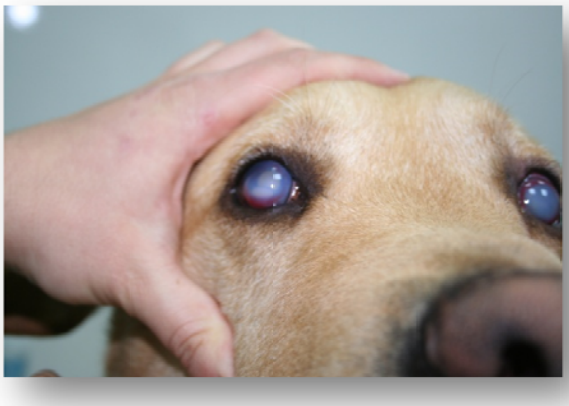

Figura 2- Uveíte secundária num animal com linfoma multicêntrico (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).

1.1.3. Diagnóstico

O diagnóstico inicial do linfossarcoma é realizado através de citologia com aspiração por agulha fina do órgão ou linfonodo (Dickinson, 2008). O diagnóstico citológico do linfossarcoma requer a identificação da população das células linfóides uniforme. Identificam-se nos linfomas células com um aumento da relação núcleo citoplasma, podem-se visualizar pequenos linfócitos e mitoses em abundância (Rutley e MacDonald, 2007).

Quando o resultado da citologia é inconclusivo, justifica-se a avaliação histopatológica das amostras recolhidas por biópsia e fixadas em formol (Dickinson, 2008). A classificação histológica do linfoma pode ser feita de acordo com dois sistemas*: Working Formulation National Cancer Institute* de 1982 e o Sistema *Kiel* modificado. Este último é o mais indicado pois além de referir o índice mitótico, o tamanho e a forma das células, inclui também a sua morfologia (centrocítica, centroblástica e imunoblástica) e a sua imunofenotipagem (linfócito B ou T) (Withrow e MacEWen's, 2007).

Estes métodos tradicionais, pela sua precisão diagnóstica, rapidez e baixo custo, constituem muitas vezes uma abordagem inicial diagnóstica ao linfoma. Contudo a morfologia das células pode ser ambígua em diversos tipos de proliferações não neoplásicas, como por exemplo nos processos inflamatórios devido à estimulação antigénica de origem infecciosa ou desordens auto-imunes, que podem confundir no diagnóstico (Dickinson, 2008).

Existem técnicas moleculares que podem ser usadas para diagnosticar o linfoma ou para caracterização adicional após o diagnóstico inicial, nomeadamente os métodos imunohistoquímicos/citoquímicos e a citometria de fluxo. A imunofenotipagem das células

linfóides é possível com marcadores de superfície para os linfócitos T (CD 3) e para os linfócitos B (CD 79α) usando uma ampla gama de anticorpos que reconhecem os marcadores de superfície (Keller *et al.*, 2004). Outro método que está a ganhar popularidade para a determinação de uma população linfóide clonal/neoplásica é a reacção da polimerase em cadeia para o rearranjo do antigénio receptor (Keller *et al*., 2004).

A existência de síndromes paraneoplásicos associadas ao linfossarcoma fazem com que a hematologia seja um método complementar no diagnóstico: a presença de anemia crónica não regenerativa (normocítica, normocrómica) é comum (Madewell, 1980; Gavazza, 2008). Outras alterações do hemograma incluem a leucocitose (25 a 40% do casos), a linfocitose (20% dos casos) e a trombocitopenia (30 a 50% dos casos), que raramente conduz a hemorragia clínica. A neutrofilia está presente em 25 a 40% dos cães (Madewell, 1986).

Para o estadiamento do tumor é necessário realizar um RX torácico e outro abdominal, ecografia abdominal e citologia/biópsia de medula óssea. Está referida a realização da biópsia eco-guiada no caso de suspeita de tumor esplénico ou hepático e a extirpação cirúrgica dos gânglios para imunofenotipagem (Rutley, 2007). A maioria dos animais aquando do diagnóstico (> 80%) já se apresenta em estadios avançados (III-V), de acordo com a OMS (Withrow e MacEWen's, 2007).

1.1.4. Factores de prognóstico

O prognóstico do linfoma canino varia e depende de vários factores como a localização, o estadio clínico, a presença/ausência de sinais clínicos (subestadio *a* ou *b*), o grau histológico, o imunofenótipo (linfócitos B ou linfócito T), a administração prévia de corticosteróides e outros mecanismos de resistência. Os factores que foram relacionados de forma mais consistente com o prognóstico foram o tipo fenotípico e o subestadio de acordo com a OMS (Withrow e MacEWen's, 2007).

Alguns estudos referem que os tumores com origem nos linfócitos T (comummente associados à presença de hipercalcemia) têm um comportamento clínico mais agressivo estando associados a pior prognóstico (Chun, 2000; Coyle *et al.,* 2004; Ponce *et al.,* 2004, Legendre, 2007; Frank *et al.,* 2007).

Os linfomas com elevado grau histológico, pelo elevado número de mitoses são mais responsivos à quimioterapia oncológica (Gavazza *et al.*, 2001), embora estejam associados a curtos períodos de sobrevida comparativamente aos linfomas de baixo grau (Ettinger, 2003).

A cura do linfoma canino é rara (<10% dos casos), mas a possibilidade de dar aos animais entre 6 a 24 meses de vida, com qualidade, é possível com terapia, levando à desmitificação para os proprietários que o diagnóstico de linfoma num animal de companhia implica a eutanásia imediata (Rutley, 2007; Saba *et al.*, 2009).

1.1.5. Protocolos terapêuticos mais comuns

Como o linfossarcoma é uma neoplasia sistémica, a modalidade de tratamento mais indicada é a quimioterapia oncológica (Mutsaers, 2002; Coyle *et al.*, 2004), constituindo o tumor mais tratado em Medicina Veterinária (Legendre, 2007). O tratamento pode aumentar significativamente o tempo de sobrevida e torna-se gratificante, devido à remissão clínica em 60 a 90% dos casos (Chun, *et al.*, 2000; Withrow e MacEWen's, 2007). A maioria dos cães sem tratamento, apenas sobrevive entre a 4 a 6 semanas após o diagnóstico (Ettinger, 2003). No tratamento do linfoma pode ser utilizado apenas um fármaco anti-neoplásico (monoterapia) ou protocolos que envolvam vários fármacos.

Para cães com linfoma, muitos protocolos de quimioterapia oncológica foram desenvolvidos nas últimas duas décadas. Os protocolos mais usados encontram-se descritos no anexo I. Os protocolos são conhecidos por siglas provenientes da inicial de cada fármaco anti-neoplásico: COP (ciclofosfamida, vincristina, prednisona); H (doxorrubicina); VMC-L (vincristina, metotrexato, ciclofosfamida, L-asparginase); COPLA/LVP (ciclofosfamida, vincristina, prednisona, L-asparginase, doxorrubicina); VL-CAP (vincristina, L-asparginase, ciclofosfamida, doxorrubicina, prednisona); L-PVCD (L-asparginase, predinisona, vincristina, ciclofosfamida, dactinomicina); L- VCAM (*University of Wisconsin-Madison*: L-asparginase, vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina, metotrexato); CHOP (ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisolona, UW *Short*) entre outros (Keller *et al*., 1993; Boyce *et al.*, 2000; Moore *et al*., 2001; Mutsaers *et al*., 2002).

Se a opção é um protocolo de monoterapia, a doxorrubicina é o fármaco anti-neoplásico de eleição. Apresenta taxas de remissão entre 60 a 85% dos casos, tempos de remissão e de sobrevida de 5 e 7 meses, respectivamente (Mutsaers, 2002; Vail, 2003; Ettinger, 2003). Simon e os seus colaboradores (2008) relatam que não existe diferença significativa no tempo de remissão nem de sobrevida dos cães apenas tratados com doxorrubicina e aqueles tratados com protocolos combinados incluindo este fármaco. O protocolo inclui 5 doses administradas com intervalos de 21 dias, é relativamente barato e bem tolerado pela maioria dos animais (Valerius, 1997; Ettinger, 2003). As desvantagens da utilização deste fármaco são a mielossupressão, os

transtornos gastrintestinais, o risco de extravasamento perivascular e a ocorrência de reacções anafiláticas, durante ou após a administração. O seu efeito secundário mais importante consiste no desenvolvimento da cardiomiopatia dilatada e de insuficiência cardíaca (Chun, 2009).

O protocolo COP apresenta taxas de remissão na ordem dos 60 a 75%, com 6 a 7 meses de sobrevida, podendo cerca de 10 a 20% dos animais sobreviverem durante 12 meses (Ettinger, 2003).

O protocolo terapêutico *UW Short* mostra remissões clínicas em 80 a 90% dos casos (Boyce, *et al*., 2000; Garret, 2002; Withrow e MacEWen's, 2007). Em média, o tempo de remissão e o tempo de sobrevida é de 8 a 12 meses, respectivamente. Cerca de 25 a 30% dos animais vivem 2 anos, ou mais, após o início da terapia (Vail, 2003; Withrow e MacEWen's, 2007). Variações introduzidas neste protocolo incluem diferenças na ordem da administração, adição da L-asparginase e do metotrexato; alterações na dose e aumento ou diminuição na duração do protocolo (Chun, 2009). Num estudo realizado por MacDonald e seus colaboradores (2005) em que se comparou a eficácia da adição de L-asparginase, não se verificou influência nas taxas de remissão e sobrevida em comparação com o protocolo CHOP, o mesmo se concluiu quanto à toxicidade entre os animais tratados com ou sem L-asparginase. Num outro estudo, Kenneth e seus colaboradores (2007) após o protocolo de indução com L-CHOP para o linfoma, não obtiveram diferenças significativas na duração da remissão clínica entre o protocolo utilizando a lomustina, a mecloretamina, a vincristina, a procarbazina e a prednisolona e o protocolo *standard* L-CHOP na fase da consolidação.

Os corticosteróides causam a apoptose dos linfócitos, destruindo-os (Fox, 2008). A utilização da prednisolona induz curtos períodos de remissão (1 a 2 meses) e aumenta o risco de resistência a futuros fármacos anti-neoplásicos se o proprietário optar por um tratamento mais agressivo posteriormente (Gavazza, 2008). Outras desvantagens deste protocolo incluem potenciais efeitos como poliúria/polifagia e menos comummente fraqueza muscular e alteração comportamental (Chun, 2009).

A opção pelos protocolos combinados permite aos cães longos períodos de remissão livre da doença e o aumento no tempo de sobrevida (Saba, 2009), contudo implica um maior investimento económico, tempo e comprometimento dos proprietários (Ettinger, 2003). Embora o padrão de tratamento seja definido de forma relativamente fácil, a escolha dos proprietários varia desde a utilização da monoterapia; quimioterapia oncológica combinada; radioterapia até ao transplante de medula óssea, realizado no serviço de oncologia da Universidade Veterinária do Estado da Carolina do Norte, Estados Unidos da América (Frimberger *et al*., 2006; Chun, 2009).

1.2. Osteossarcoma Canino

O osteossarcoma canino (OSA) representa cerca de 80% de todos os tumores primários ósseos e 5 a 6% de todas as neoplasias caninas. O OSA surge comummente em raças grandes a gigantes como o São Bernardo, o Dogue Alemão, o Setter Irlândes, o Doberman, o Pastor Alemão e o Golden Retriever. Ocorre em animais com idade compreendida entre os 2 e os 9 anos, com média nos 7 anos (Dernell, 2003; Withrow e Khanna, 2010). No que diz respeito à localização dos OSA, 75% ocorre no esqueleto apendicular e 25% no esqueleto axial. Os membros são 2 vezes mais afectados do que a bacia pélvica. A localização mais comum é o rádio distal (Gellash *et al*., 2002; Endicott, 2003).

O OSA identificado nos animais de companhia tem muitas semelhanças com o osteossarcoma humano, nomeadamente no que diz respeito às características histológicas, à localização, à progressão metastática e à resposta às modalidades de tratamento convencionais (Dernell *et al*., 2007) (anexo II).

1.2.1. Etiologia

A etiologia do OSA é desconhecida (Dernell, 2003; Withrow e Khanna, 2010), mas vários factores de risco são apontados: o peso dos animais (aumenta a sensibilidade metafisária) (Gellasch *et al*., 2002), a transformação maligna na proximidade dos transplantes metálicos utilizados na redução de fracturas (Stevenson *et al.*, 1982) e a radiação ionizante (radionucleótidos experimentais ou secundária à radioterapia) (Miller *et al*., 2003).

1.2.2. História e sinais clínicos

Os animais apresentam história de claudicação e dor. Um exame físico completo deve incluir o exame neurológico e o exame ortopédico para identificar problemas coexistentes tais como as artrites e os défices neurológicos. Deformações subtis podem ser encontradas através da palpação dos membros (Endicott, 2003).

As alterações identificadas no RX incluem as lesões líticas e proliferativas, a tumefacção e a calcificação dos tecidos moles. Os tumores ósseos têm origem no canal medular e progridem até à cortical. Em cerca de 70% dos casos ocorre erosão cortical. A metastização via hematógena

é comum, não obstante, a extensão para os linfonodos regionais também pode ocorrer. O pulmão é o órgão onde está referida a ocorrência de metástases em maior percentagem (Endicott, 2003).

1.2.3. Diagnóstico

O diagnóstico de OSA é geralmente realizado com base nos sinais clínicos e nas evidências radiográficas, porém o diagnóstico definitivo requer uma amostra de tecido para exame histopatológico (Kent *et al*., 2004). Contudo, existe um elevado risco de fractura iatrogénica associada à colheita da amostra (Endicott, 2003; Withrow e Khanna, 2010).

Histologicamente, o OSA é composto por células mesenquimatosas anaplásicas que produzem matriz osteóide. De acordo com a matriz produzida, podem ser suclassificados em osteoblásticos (matriz óssea), condroblásticos (matriz cartilaginosa), fibroblásticos (matriz de colagénio), osteoclásticos (pequenas quantidades de matriz com numerosos osteoclastos), telangiectásicos (formações com grandes espaços de sangue) ou indiferenciados (Straw, 1996; Johnson e Hulse, 2005; Phillips *et al*., 2007).

A classificação do OSA baseia-se no grau histológico, na localização anatómica do tumor primário e na existência de metástases regionais ou à distância. Existem três graus: OSA de grau I é de baixo grau sem metástases; OSA de grau II é de elevado grau sem metástases e OSA de grau III é caracterizado pela existência metástases regionais ou à distância, independentemente do grau histológico (Withrow e MacEWen's, 2007). A maioria dos OSA é de elevado grau histológico e osteoblásticos produtivos (Withrow e Khanna, 2010).

1.2.4. Factores de prognóstico

Os animais entre 7 e 10 anos respondem geralmente melhor à resolução cirúrgica do que os mais jovens. Os tumores com grandes dimensões e localização umeral estão associados a um pior prognóstico, contrariamente ao OSA mandibular, que está associado a um bom prognóstico. Os OSA do esqueleto apendicular e axial têm prognósticos similares (Withrow e Khanna, 2010).

Segundo Garzotto e colaboradores (2000) e Endicott (2003), os cães com fosfatase alcalina (ALP) superior a 110µl/L (ou especificamente a izoenzima óssea com valores superiores a 23µl/L) têm um curto período de vida livre da doença e tempo de sobrevida.

No momento do diagnóstico, em apenas 15% dos animais com OSA é possível identificar metástases no pulmão ou em outros ossos (Withrow e Khanna, 2010).

1.2.5. Opções de tratamento

1.2.5.1. Tratamento cirúrgico

A todos os cães com OSA único, incluindo raças gigantes, pode recomendar-se a amputação do membro para o controlo local do tumor (Withrow e Khanna, 2010). Lesões ósseas múltiplas tornam o animal um mau candidato à amputação do membro. As amputações apendiculares completas são recomendadas para melhor resultado estético e funcional. Em casos de OSA proximal do fémur pode ser necessário hemipelvectomia. A amputação elimina a fonte de dor e de claudicação, mas como é evidente não interfere nas possíveis metástases, conseguindo-se uma média de sobrevida livre da doença de 18 a 20 semanas (Spodnick *et al*., 1992; Endicott, 2003).

1.2.5.2. Quimioterapia oncológica adjuvante

Após o controlo local do tumor pela cirurgia, a quimioterapia oncológica pode ser usada como terapia adjuvante para reduzir o número de metástases. Em cerca de 90% dos animais é esperada a existências de micrometástases pulmonares no momento do diagnóstico e são detectáveis ao RX a partir de 6 a 8mm de diâmetro. As micrometástases evidenciam-se 3 a 4 meses após o controlo do tumor primário (só com amputação, menos de 10% sobrevive aos primeiros 12 meses) (Spodnick *et al.*, 1992; Endicott, 2003; Withrow e Khanna, 2010).

Os fármacos anti-neoplásicos mais indicados são a doxorrubicina, a carboplatina, a cisplatina ou protocolos combinando estes compostos (Chun, 2000; Kent *et al*., 2004; Withrow e Khanna, 2010). A doxorrubicina pode ser administrada na dose de 30mg/m^2, cada 3 semanas e num total de 5 tratamentos. A dose máxima cumulativa deve situar-se entre 180-240mg/m^2. A carboplatina, menos nefrotóxica que a cisplatina, é administrada a cada 3 semanas, na dose de 300mg/m^2, como agente único ou alternada com a doxorrubicina, num total de 6 ciclos. A carboplatina está associada a uma ligeira e reversível toxicidade (Endicott, 2003; Dernell, 2003; Phillips, 2009).

A cirurgia e a quimioterapia resultam num tempo médio de sobrevida de 350 dias, em que 50% dos animais vive até um ano e 25% sobrevive durante 2 anos (Endicott, 2003; Phillips *et al.*, 2009; Withrow e Khanna, 2010).

1.2.5.3.Tratamento paliativo

Para os animais em que o tratamento cirúrgico não é opção, devido à extensão da lesão ou encargos económicos, é importante recorrer ao controlo da dor através de anti-inflamatórios não esteróides (AINE's) nomeadamente do carprofeno [2mg/kg, por via oral (PO), de 12 em 12 horas (BID)] (contra-indicado em insuficientes hepáticos) e o piroxicam [0,3mg/kg, PO, de 8 em 8 horas, (SID)] (contra-indicado em insuficientes renais), podendo recorrer-se a outros AINE's associados a menores efeitos secundários como o meloxicam (0,1mg/kg PO, SID). Em animais que não toleram AINE's pode administrar-se prednisona ou prednisolona em doses anti-inflamatórias (30 mg/m^2), devendo alertar os proprietários para os efeitos secundários associados a estes fármacos (Endicott, 2003). Nos casos em que o controlo da dor não é eficaz apenas com AINE's, devem ser considerados analgésicos, como o butorfanol ou os pensos de fentanil ou outros opióides (Endicott, 2003; Withrow e Khanna, 2010).

1.3. Princípios gerais de Quimioterapia oncológica

1.3.1. Conceitos Gerais

Na prática clínica de animais de companhia as neoplasias constituem uma doença cada vez mais frequente. A quimioterapia oncológica consiste na administração de fármacos anti-neoplásicos, também conhecidos pela designação de fármacos citotóxicos ou fármacos citostáticos para o tratamento das doenças oncológicas. A quimioterapia oncológica está indicada no tratamento de tumores malignos sistémicos como os linfomas, as leucemias, os mielomas e nas metástases dos tumores malignos, como por exemplo, os hemangiossarcomas ou os osteossarcomas (Frimberger, 2005).

Os fármacos anti-neoplásicos classificam-se em várias classes de acordo com as características do seu mecanismo de acção (quadro 3), local de acção e toxicidades.

Quadro 3- Classificação dos fármacos anti-neoplásicos oncológicos em função do seu mecanismo de acção (adaptado de Withrow e MacEWen's, 2007).

Classe	**Fármacos**
Agentes alquilantes	Ciclofosfamida Clorambucil Melfalan Lomustine
Agentes platinantes	Carboplatina Cisplatina
Antimetabolitos	Metotrexato 5-Fluorouracilo Citosina Arabinósido (Citarabina) Azatioprina
Alcalóides da vinca	Vincristina Vinblastina
Antibióticos antitumorais	Doxorrubicina Bleomicina Actinomicina D Mitoxantrone
Enzimas	L-Asparaginase
Hormonas	Prednisona Prednisolona

Os fármacos anti-neoplásicos actuam nas diferentes fases do ciclo celular, destruindo as células neoplásicas ou impedindo o seu crescimento (Lana, 2003; Fischer, *et al.,* 2004; Huang e Ratain, 2009). Eles são na sua maioria não-específicos, considerando-se que não causam só lesão nos tecidos neoplásicos em rápida divisão, mas também nos tecidos normais do hospedeiro (Nelson e Couto, 2003).

Os agentes alquilantes são utilizados em protocolos de quimioterapia combinada. Estes compostos inibem a replicação das células após inserção do grupo alquilo no ácido desoxirribonucleico (ADN). Este grupo inclui compostos como a ciclofosfamida e o clorambucil, entre outros (Ogilvie, 1998; Huitema *et al*., 2000).

Os agentes platinantes, carboplatina e cisplatina, actuam da forma semelhante aos compostos alquilantes (Fox, 2008).

Os antimetabolitos, como o metotrexato, o 5-fluoracilo e a citarabina interferem com a biossíntese dos ácidos nucleicos por substituição dos metabolitos normais, conduzindo à produção de moléculas não funcionais ou inibindo reacções enzimáticas necessárias (Argyle, 2008). Estes compostos são específicos da fase S do ciclo celular (fase na qual o ADN é sintetizado) (Lana, 2003; Fox, 2008).

Os alcalóides de vinca (vincristina e vinblastina) derivam da planta *Vinca rosea* e actuam por bloqueio da formação e função do fuso mitótico inibindo a divisão da célula durante a metáfase (Lana, 2003; Fox, 2008).

Os antibióticos (AB) anti-tumorais actuam por inibição da enzima topoisomerase II, necessária à clivagem, ao enrolamento e ao reagrupamento dos segmentos da molécula de ADN. Inibe a ADN helicase e produz radicais livres que lesionam a membrana celular. Os compostos mais utilizados deste grupo são a doxorrubicina e o mitoxantrone (Fox, 2008).

As células neoplásicas necessitam de grande quantidade de aspargina para a sua síntese proteica, a L-asparginase hidroliza este aminoácido em ácido aspártico e amónio, privando a célula da aspargina e causando a sua morte. É específico da fase G1 do ciclo celular [síntese das proteínas e do ácido ribonucleico (RNA)] (Fox, 2008).

Os glucocorticóides são utilizados na terapia dos tumores malignos e no tratamento dos linfomas como tratamento sintomático por terem propriedades linfocíticas (Fox, 2008).

Na figura 3 estão descritos de forma simplista os mecanismos de acção das diferentes classes de fármacos anti-neoplásicos.

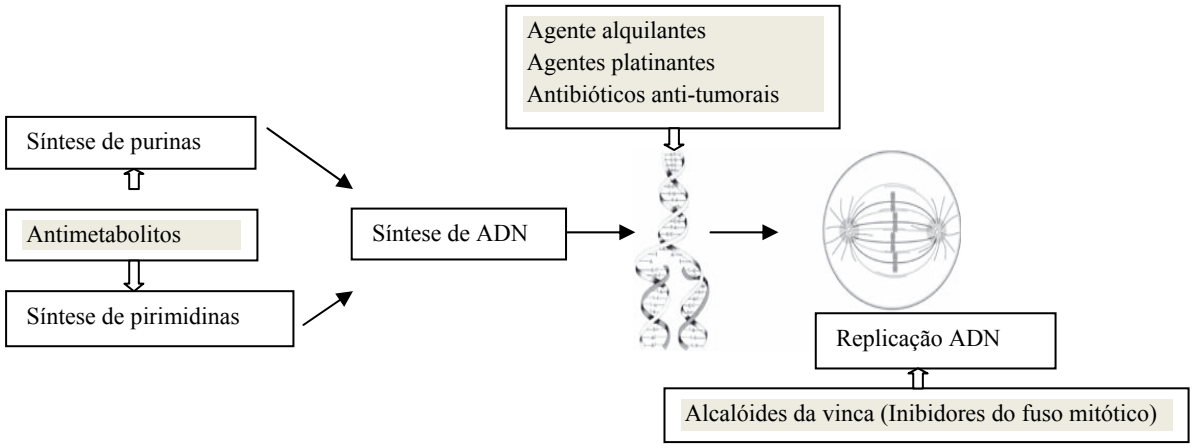

Figura 3- Mecanismo de acção dos fármacos anti-neoplásicos (adaptado de Argyle, 2008).

Antes de se iniciar o tratamento com fármacos anti-neoplásicos, devem ser ponderados factores relacionados com o tumor (o tipo de tumor, o seu comportamento biológico e o estadio clínico); factores relacionados com o animal (o estado de saúde geral e a capacidade de tolerar os potenciais efeitos secundários) e factores relacionados com os proprietários (expectativas em relação aos tratamentos, tempo disponibilizado e custos económicos inerentes) (Lana, 2003).

A quimioterapia oncológica pode ser classificada em neodjuvante e adjuvante. A quimioterapia neoadjuvante é administrada antes da cirurgia e/ou radioterapia, com o objectivo de diminuir as dimensões do tumor e tornar as outras medidas terapêuticas mais eficazes. A quimioterapia adjuvante é utilizada após cirurgia e/ou radioterapia para destruir o maior número de células neoplásicas residuais (Withrow e MacEwen's, 2007).

A quimioterapia oncológica compreende diferentes fases, que devem ser explicadas aos proprietários antes de iniciar tratamento: a indução, a consolidação, a manutenção e o resgate. A indução envolve terapia intensa, ou seja, curtos intervalos de administrações e combinações de fármacos anti-neoplásicos mais agressivos. O objectivo da indução é reduzir o número das células cancerígenas e idealmente induzir a remissão completa. A consolidação tem como objectivo diminuir ainda mais o número de células cancerígenas e alcançar a remissão completa nos doentes que não o conseguiram na fase anterior. A manutenção corresponde à continuação dos protocolos de menor intensidade para prevenir recidivas e os tratamentos têm cerca de 2 a 3 semanas de intervalo (Ettinger, 2003). Por vezes, quando surgem recidivas e há recorrência dos sinais clínicos deve-se optar por protocolos de resgate que têm como objectivo a re-indução nos doentes onde os protocolos estandardizados falharam. Os fármacos anti-neoplásicos utilizados na fase de resgate são diferentes dos utilizados na fase de indução (Withrow e MacEwen's, 2007).

Em Medicina Veterinária, os principais objectivos do tratamento do doente oncológico consistem na remissão do tumor, em prestar cuidados paliativos e no aumento do tempo de sobrevida do animal, assegurando antes e após o tratamento uma melhoria na sua qualidade de vida. A duração da remissão clínica (quadro 4) define o tempo, em dias, em que os sinais clínicos que conduziram ao tratamento do animal desapareceram (com base em dados recolhidos no exame físico, no hemograma, na bioquímica sanguínea e no diagnóstico por imagem) até à recaída e necessita de ter uma duração de pelo menos 3 semanas, para se considerar que houve remissão completa ou parcial (Withrow e MacEwen's, 2007; Hosoya *et al*., 2007). O tempo da duração da remissão total compreende o tempo da primeira remissão mais qualquer remissão alcançada com futuros protocolos de quimioterapia oncológica (Rassnick *et al*., 2007).

Quadro 4- Classificação dos graus de remissão clínica do linfoma (adaptado de Ettinger, 2003).

Resposta ao tratamento	**Definição**
Remissão completa	100 % Redução de doença mensurável
Remissão parcial	Redução> 50% mas <100%
Doença estabilizada	Redução <50% ou ausência de alterações ou novas lesões neoplásicas
Doença progressiva	Aumento> 25% e com novas lesões neoplásicas

Para o tratamento ser bem sucedido é fundamental que o dono se comprometa, sendo essencial discutir com o proprietário os objectivos do tratamento, as opções terapêuticas disponíveis bem como as suas complicações (Ogilvie, 1998; Vail, 2009).

1.3.2. Monoterapia ou terapia combinada

Os fármacos anti-neoplásicos podem ser usados sozinhos ou combinados com outros fármacos anti-neoplásicos. A utilização de um único composto tem vantagens económicas e um menor risco de toxicidade. A utilização de vários fármacos em simultâneo tem maior eficácia e menor probabilidade de ocorrerem resistências (Ogilvie, 1998; Lana, 2003; Vail *et al*. 2009).

Quando se opta por protocolos que combinam diferentes fármacos anti-neoplásicos é necessário considerar alguns aspectos: todos estes compostos devem ser eficazes contra o tumor, mesmo quando administrados sozinhos; devem evitar-se os fármacos anti-neoplásicos com sobreposição de toxicidade ou mecanismos de acção idênticos e os fármacos anti-neoplásicos devem ser administrados na dose máxima tolerada para evitar toxicidade (Ogilvie, 1998).

1.3.3. Posologia

A posologia do fármaco anti-neoplásico é calculada com base na área da superfície corporal do animal expressa em m^2, a partir do seu peso, sendo uma estimativa da taxa metabólica (Fox, 2008) (quadro 5). A tabela de conversão aplicada nos cães encontra-se em anexo III.

Quadro 5- Fórmula para cálculo da superfície de área corporal em m^2 (adaptado de Argyle, 2008).

Superfície de área corporal $(m^2) = k * \frac{\text{peso corporal (kg)}^{0,66}}{10^4}$	k=10,0 para cães, k=10,1 para gatos

Para evitar a sobredosagem e consequente toxicidade nos animais com menos de 15 kg existem variações a esta fórmula: a dose do melfalan, da doxorrubicina e da cisplatina é calculada em mg/kg. A rectificação da posologia deve ser considerada quando ocorre disfunção dos órgãos responsáveis pela metabolização ou eliminação do fármaco anti-neoplásico (Page *et al*., 1991).

A duração do tempo de administração do fármaco anti-neoplásico é fundamental. As administrações repetidas promovem um aumento do tempo de exposição das células tumorais ao fármaco anti-neoplásico e reduzem a sua concentração sérica, resultando em maior eficácia e em menor toxicidade. Ao contrário da Medicina Humana, em Medicina Veterinária o objectivo do tratamento oncológico é, na maioria dos casos, o aumento da esperança média de vida com qualidade, por esta razão as dosagens utilizadas são mais baixas e os intervalos de administração

são mais espaçados, levando a que a quimioterapia oncológica seja menos efectiva (Ogilvie, 1998; Vail, 2009).

1.3.4. Dimensões do tumor

Os fármacos anti-neoplásicos que interferem na mitose são mais eficazes quando os tumores são de menores dimensões, isto porque, na fase inicial apresentam uma elevada taxa de crescimento que vai diminuindo à medida que aumentam as suas dimensões (Lana, 2003; Fox, 2008).

1.3.5. Resistência à quimioterapia oncológica

A resistência aos fármacos anti-neoplásicos constitui um dos mais importantes desafios em oncologia e resulta de uma variedade de factores que englobam as variações individuais e as diferenças genéticas das células somáticas (Gottesman, 2002).

Os factores relacionados com o hospedeiro incluem: a reduzida absorção, o rápido metabolismo ou excreção do fármaco anti-neoplásico (resultando em baixos níveis séricos); a intolerância aos efeitos adversos destes compostos, especialmente em animais geriátricos, em que há necessidade de reduzir a dose; a inactivação dos fármacos anti-neoplásicos pelas células normais e as características inerentes à vascularização do tumor (Ogilvie, 1998; Gottesman, 2002). Também é referida a incapacidade de libertar o fármaco anti-neoplásico no local do tumor, no caso de neoplasias volumosas ou quando se administram agentes biológicos de elevado peso molecular e reduzida penetração nos tecidos, como o caso dos anticorpos monoclonais e das imunotoxinas (Pluen *et al*., 2001).

Como resultado de alterações das vias de absorção dos compostos e do efluxo das células, a célula pode expressar mecanismos de resistência a múltiplos fármacos anti-neoplásicos estrutural e funcionalmente não relacionados, simultaneamente. Um mecanismo de resistência aos fármacos anti-neoplásicos envolve a expressão do gene MDR-1 responsável pela codificação de uma glicoproteína membranar cuja função é promover o efluxo de xenobióticos das células (Gottesman, 2002; Lana, 2003).

Nos últimos anos, muitos outros têm sido estudados: a alteração da membrana lipídica; a perda do receptor de superfície ou transportador do fármaco anti-neoplásico para dentro das células; o aumento ou mutação das células-alvo; a diminuição de actividade das enzimas

responsáveis pela biotransformação dos compostos e a existência de vias metabólicas excedentes que compensam a inibição dos fármacos anti-neoplásicos (Ogilvie, 1998; Gottesman, 2002).

1.3.6. Cuidados de manipulação dos fármacos anti-neoplásicos

Os profissionais de saúde cujas actividades consistem na preparação e administração de fármacos anti-neoplásicos, têm sido alvo de diversos estudos com o objectivo de determinar o efeito causado pela exposição crónica a estes compostos. Desses trabalhos, tem-se observado a existência de alterações cromossómicas em linfócitos, pelo que é recomendado pela OMS que a preparação, manipulação e administração destes medicamentos, quer pelos técnicos de saúde quer pelos proprietários, seja acompanhada de medidas de protecção individual e o cumprimento de regras de segurança de forma adequada e consistente (Goloni-Bertollo *et al*., 1992; Withrow e MacEwen's, 2007).

A severidade e o grau de toxicidade provocada por estes compostos estão relacionados com o tipo, a frequência e o local de exposição, devendo ser tomados especiais cuidados para evitar a contaminação tópica, inalatória e oral (Lana, 2003; Withrow e MacEwen's, 2007).

A preparação destes fármacos deve realizar-se numa câmara de fluxo laminar. Se tal não é possível, deverão ser preparados numa área com pouco movimento de pessoas e de animais, com as portas e as janelas fechadas e sem correntes de ar. A área de preparação deverá estar protegida por uma superfície absorvente, plastificada na parte em contacto com a bancada. Deve-se ainda usar uma máscara com filtro apropriada, para prevenir a inalação de aerossóis (Crump, 2000).

Para minimizar o risco da contaminação tópica, os manipuladores devem usar luvas apropriadas (luvas de látex espesso), deve-se usar vestuário não absorvente e óculos de protecção (Withrow e MacEwen's, 2007).

Para minimizar o risco de contaminação oral, na sala de preparação/administração dos fármacos anti-neoplásicos é estritamente proibido: comer ou beber; fumar ou aplicar maquilhagem e armazenar fármacos anti-neoplásicos juntamente com a comida ou outros fármacos. Deve-se usar luvas durante a manipulação de fármacos anti-neoplásicos para administração oral (Lana, 2003; Polovich, 2004).

Depois de preparados, os fármacos anti-neoplásicos devem ser colocados num saco fechado e identificado para evitar trocas e derrames até a área onde serão administrados. Com o objectivo de evitar a administração acidental nunca se deve recolocar a tampa na agulha. A preparação, manipulação e administração de fármacos anti-neoplásicos está associada a produção de vários resíduos (agulhas, seringas, catéteres endovenosos, luvas e máscaras) que constituem

riscos biológicos, pelo que, este material deve ser colocado em contentores adequados, em conformidade com a legislação Portuguesa.

Deve-se advertir os proprietários que nas 48h seguintes à administração dos fármacos anti-neoplásicos o animal vai eliminar estes compostos e/ou os seus metabolitos na urina e nas fezes. Assim, é prudente recomendar a utilização de luvas na sua limpeza, devendo os despojos serem devidamente acondicionados dentro de um saco duplo e entregues ao Médico Veterinário que acompanha o tratamento (Withrow e MacEwen's, 2007).

1.4. Toxicidades dos fármacos anti-neoplásicos

Os fármacos anti-neoplásicos causam toxicidade sobre as células normais, porque não existem diferenças bioquímicas entre estas e as células tumorais. A maioria dos fármacos anti-neoplásicos comummente usados em Medicina Veterinária têm um baixo risco de efeitos adversos. Menos de 1 em cada 4 animais irá sofrer graves efeitos adversos e só aproximadamente 3 a 5% dos casos irá implicará hospitalização dos animais. Com apropriada intervenção, o risco de morte associado à toxicidade dos fármacos anti-neoplásicos é menos de 1 em 200 animais (Vail, 2009).

Os protocolos recentes visam modular a toxicidade por manipulação da dose administrada, ou variando os intervalos da administração sem comprometimento da eficácia (Lurie, 2008).

1.4.1. Extravasamento local

Os agentes vesicantes e a doxorrubicina provocam graves lesões em caso de infiltração perivascular, pelo que são administrados IV (Ogilvie, 1998; Fox, 2008), deste modo, o catéter intravenoso deve ser cuidadosamente colocado para minimizar o risco de lesão por extravasamento (Chun, 2009).

Quando ocorre a injecção perivascular deve-se parar de imediato a administração; não remover a agulha nem o catéter; aspirar o fármaco anti-neoplásico e cerca de 5ml de sangue para a seringa; administrar um antídoto, se conhecido. Para infiltrações perivasculares de vincristina e vinblastina deve-se utilizar 4 a 6ml de bicarbonato de sódio a 8,4% e aproximadamente 8mg de dexametasona. A aplicação de compressas quentes durante 15 a 20 minutos de 6 em 6h (QID) durante 24-48h, também é uma opção efectiva. No caso da doxorrubicina deve-se aplicar compressas frias, 15 a 20 minutos QID por 72h, 5ml de bicarbonato de sódio a 8,4%,

dimetilsulfóxido (DMSO) 50-99% tópico BID/QID, durante 2 a 14 dias (Lana, 2003; Argyle, 2008). No caso de lesões ulcerativas profundas secundárias ao extravasamento pode ser necessário o desbridamento cirúrgico agressivo ou amputacão do membro envolvido (Ogilvie, 1998).

1.4.2. Mielotoxicidade

Os efeitos tóxicos dos fármacos anti-neoplásicos sobre tecidos normais são mais acentuados nos tecidos em constante renovação, ou seja, em que o tempo de duração do ciclo celular é reduzido. A alta taxa mitótica e a elevada fracção de crescimento das células da medula óssea predispõem este órgão a toxicidade significativa à maioria dos fármacos anti-neoplásicos (McKnight, 2003). A mielossupressão e os sinais gastrintestinais constituem as toxicidades mais frequentes na prática clínica (Nelson *et al*., 2003; Frimberger *et al.*, 2005; Chun, 2009) sendo a primeira, aquela que ocorre em maior número de casos (Ogilvie, 1998).

O hemograma completo deve ser realizado antes do ciclo de tratamento oncológico bem como no momento do *nadir* do fármaco anti-neoplásico (Chun, 2009). O *nadir* define o momento, após tratamento, em que a contagem de glóbulos brancos e/ou plaquetas atinge o seu valor mais baixo (Withrow e MacEwen's, 2007).

A anemia induzida pelo tratamento oncológico apesar de não ser comum, pode desenvolver-se posteriormente devido ao tempo de semi-vida dos eritrócitos ser curto. A maioria dos animais com cancro tem anemia crónica, acentuada pela administração de fármacos anti-neoplásicos que reduzem a produção de células vermelhas, não obstante raramente tem significado clínico (Frimberger *et al*., 2005).

A neutropenia e a trombocitopenia são os primeiros sinais de supressão da medula óssea. A neutropenia grave limita a dose do fármaco anti-neoplásico e ocasionalmente provoca septicemia, com risco de vida para os cães (Nelson *et al*., 2003; McKnight, 2003; Frimberger, 2005; Chun, 2009), havendo por vezes, a necessidade de suspender temporariamente ou permanentemente o tratamento (Couto, 2003).

Existem estudos que correlacionam a trombocitopenia como um factor de prognóstico negativo da duração da remissão inicial dos tumores (Zemann *et al.*, 1998; Moore *et al.,* 2001). A vincristina pode afectar a função das plaquetas devido à sua elevada concentração de microtúbulos, essenciais para a forma discóide destas, mudança da sua forma e secreção do conteúdo (Stenberg *et al*., 1995).

O *nadir* dos neutrófilos, para a maioria dos fármacos anti-neoplásicos, ocorre entre 5 a 7 dias após o tratamento e a contagem dos neutrófilos retorna ao normal após 72 horas (Vail, 2009). Dos fármacos anti-neoplásicos utilizados com maior frequência em Medicina Veterinária, associados à ocorrência de mielossupressão, temos a considerar a doxorrubicina, a ciclofosfamida, a vincristina, a vinblastina e a carboplatina (Ogilvie, 1998; Endicott, 2003; Argyle, 2008).

O *nadir* dos neutrófilos quando se administra doxorrubicina situa-se entre os 7 a 10 dias após administração (McKnight, 2003; Argyle, 2008). Contudo vários clínicos defendem que provoca menor toxicidade se administrada por um período de 20 minutos (Ogilvie, 1998; Endicott, 2003; Argyle, 2008).

Quando se administra a ciclofosfamida, o *nadir* para os neutrófilos, situa-se entre 7 a 14 dias (Ogilvie, 1998; McKnight, 2003).

A vincristina é considerada um fármaco anti-neoplásico bem tolerado pelos animais, com leves efeitos mielossupressivos na dosagem convencional (Calvert, 1982; Golden *et al;* 1988), contudo a sua toxicidade é reforçada quando se adiciona L-asparginase (Northrup *et al*., 2002). A vincristina constitui uma boa opção para animais com trombocitopenia, pois promove a libertação prematura de plaquetas a partir dos megacariócitos (Ogilvie, 1998).

Contrariamente à vincristina, a vinblastina resulta em mielossupressão severa devendo ser usada com precaução nos protocolos combinados com outros fármacos anti-neoplásicos com efeitos adversos semelhantes (Ogilvie, 1998). O *nadir* dos neutrófilos e plaquetas para a vinblastina situa-se no 4º/5º dia e no 9º dia, respectivamente (McKnight, 2003).

O poder mielossupressivo da carboplatina depende da dose (McKnight, 2003; Kisseberth *et al*., 2008). Em cães, o *nadir* dos neutrófilos e das plaquetas surge ao 14º dia com recuperação aos 21dias após a administração. Nos gatos a trombocitopenia é rara e o *nadir* dos neutrófilos é duplo, surgindo ao 7º/10ºdia e novamente ao 14º dia, pelo que o intervalo entre administrações é de cerca de um mês (Page, 1993, Hahn *et al*., 1997, Argyle, 2008).

Segundo Ogilvie (1998) o ciclo do tratamento oncológico deve ser adiado se a contagem dos neutrófilos for inferior a 3000 células/µl ou se a contagem das plaquetas for inferior a 100.000 plaquetas/µl, contudo, segundo Chun (2009) se a contagem dos neutrófilos for inferior a 2000 células/µl e/ou se a contagem das plaquetas estiver abaixo de 75000/µl o animal não deve ser tratado com fármacos anti-neoplásicos. Uma excepção a esta regra ocorre quando a trombocitopenia e a neutropenia resultam das síndromes paraneoplásicos ou mieloptise (Withrow e MacEwen's, 2007).

Se os neutrófilos não retomarem os valores normais dentro de 7 dias e o animal continuar com febre, sem sintomas, deve ser instituída antibioterapia profilática, tal como trimetropim-sulfamida (7,5mg/kg PO, BID) ou fluoroquinolonas (por exemplo enrofloxacina 5-10mg/kg, IV, SID), por um período mínimo de 7 dias (Chun, 2009). Os animais severamente afectados com mielossupressão podem desenvolver um quadro de septicemia resultante da translocação da flora intestinal, constituindo uma urgência oncológica **(**McKnight, 2003). O risco da ocorrência de infecções nosocomiais pode ser minimizado nos animais assintomáticos, com menos de 1000 neutrófilos/µl com o recurso à sua hospitalização. Deve-se proceder à cobertura antibiótica contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas com penicilinas [por exemplo a ampicilina 22mg/kg, IV, de 8 em 8 horas (TID)] e aminoglicosídeos [como a amikacina 10mg/kg, por via subcutânea (SC) ou intra-muscular (IM), SID] ou combinação de cefalosporinas de 1ª geração (como a cefazolina 20mg/kg, IV, TID) com fluoroquinolonas (como a enrofloxacina 5-10mg/kg, IV/IM, SID) (Ogilvie, 1998; Vail, 2009).

No que diz respeito aos sinais clínicos, os animais com septicemia são geralmente febris, contudo os clínicos precisam de ter presente que nos casos graves de neutropenia, a produção inadequada de citocinas pode impossibilitar a ocorrência de febre (Walji e Cahn, 2008). Outras alterações clínicas nestes animais incluem o aumento do tempo de repleção capilar, pulso fraco, sinais respiratórios ou história de vómito (Vail, 2009). As decisões clínicas a serem tomadas com base na contagem absoluta dos neutrófilos e no estado clínico do animal encontra-se esquematizada no quadro 6.

Quadro 6- Decisões com base na contagem absoluta de neutrófilos, plaquetas, febre e sinais clínicos (adaptado de Lana, 2003 e Vail, 2009).

Contagem absoluta neutrófilos no dia do tratamento	**Febre**	**Sinais clínicos**	**Medidas**
<3000 células/µl	Não	Não	Atrasar ciclo quimioterapia oncológica 3-5 dias
<1500 células/µl	Não	Não	Atrasar ciclo quimioterapia oncológica, instituir AB profiláticos, PO, monitorizar em casa. Considerar redução dose 10-20%
<3000 células/µl	Sim	Não	Atrasar ciclo quimioterapia oncológica, instituir AB profiláticos PO, monitorização cuidadosa em casa.
<1500 células/µl	Sim	Sim	Atrasar ciclo quimioterapia oncológica, Hospitalização, Instituir AB profiláticos IV, monitorização intensiva.
Contagem absoluta no *"nadir"*	**Contagem absoluta no dia do tratamento**		**Medidas**
Neutrófilos <500células/µl Plaquetas <60000/µl	Neutrófilos <1500 células/µl Plaquetas 65000/µl		Redução da posologia do fármaco anti-neoplásico 20 a 25% nas futuras administrações

Segundo Ogilvie (1998), cuidados adicionais no tratamento clínico da mielotoxicidade incluem: técnicas de assepsia na mudança das bandagens e procedimentos de cuidados pós operatórios; minimizar os traumas especialmente em animais com trombocitopenias; controlo das hemorragias através da pressão directa prolongada ou aplicação do frio; se há suspeita de septicemia está indicada a colheita de urina para cultura, hemograma e se for o caso, cultura do aspirado transtraqueal.

1.4.3. Efeitos adversos sobre o trato gastrintestinal

A toxicidade do trato gastrintestinal (TGI) constitui um potencial efeito adverso da quimioterapia oncológica (Richardson e Dobish, 2007).

Os efeitos adversos do TGI podem ocorrer secundariamente à lesão primária das células do epitélio ou por estimulação dos receptores da zona "trigger", pode ser ligeira e auto-limitante, moderada ou grave (Vail, 2009). Segundo Richardson e Dobish (2007) o mecanismo que provoca a diarreia resulta da citotoxicidade das criptas e alterações nas enzimas intestinais. Pela susceptiblidade à translocação bacteriana após lesão na mucosa, os animais com diarreia induzida pela administração apresentam um elevado risco de septicemia (Vail, 2009).

As manifestações clínicas dos transtornos do TGI incluem anorexia, náusea/vómito, gastroenterocolite e/ou diarreia (Lana, 2003). As náuseas/vómitos podem ocorrer de forma aguda, nas primeiras 24h como acontece aquando na administração da cisplatina (Vail, 2009) ou com mais frequência 2 a 5 dias após o ciclo da quimioterapia oncológica (Withrow e MacEwen's, 2007).

A doxorrubicina pode provocar colite (sangue fresco e muco nas fezes, acompanhado de tenesmo) (Ogilvie, 1998; Argyle, 2008). A este fármaco anti-neoplásico estão associados outros efeitos adversos sobre o TGI, nomeadamente o vómito, a anorexia e a diarreia, que ocorrem 2 a 5 dias após a sua administração (McKnight, 2003; Fox, 2008). Este sinais clínicos também são frequentemente associadas à utilização da ciclofosfamida (Ogilvie, 1998; McKnight, 2003), ao tratamento com a vincristina (Chun *et al*., 2001) e com a carboplatina, embora comparativamente com a cisplatina esta última apresente menor poder émetico (McKnight *et al*., 2003; Kisseberth *et al*., 2008).

A minimização dos efeitos adversos sobre o TGI envolve a utilização de fármacos anti-eméticos, durante 1 a 2 semanas após o ciclo, como a metoclopramida (0,2-0,4mg/Kg, PO, TID/QID), a clorpromazina (0,5mg/kg, IM/SC, TID/QID), os protectores e adsorventes gástricos [cisapride (0,1-0,5 mg/kg PO, BID) e pectina]. Os antagonistas dos receptores da serotonina

(ondasetron 0,1-0,4mg/kg, IV/PO, BID ou dolasetron 0,6-3mg/kg, IV, SID) tem promovido excelente alívio destes sintomas, embora sejam dispendiosos (McKnight, 2003). À semelhança do que surge nas pessoas, o maropitant (Cerenia®), um antagonista dos receptores da neurocinina, tem mostrado alta eficácia no controlo da náusea e do vómito nos cães tratados com a cisplatina (Vail, 2007; De La Ponte-Redondo *et al.*, 2007; Sedlacek *et al.*, 2008; Conder *et al*., 2008). A diarreia ligeira a moderada é geralmente controlada em casa, pela modificação para dietas fibrosas e medicação oral com o metronidazol (15-25mg/kg, PO, BID), a tilosina (10mg/kg,PO, TID) e/ou a loperamida (0,08mg/kg, PO, TID) (Vail, 2009). Em casos de colite severa deve administrar-se a sulfasalazina (6,5-12mg/kg, PO, QID) (McKnight, 2003). A fluidoterapia é essencial para combater os desequilíbrios hidro-electrolíticos e ácido-base subjacentes (Ogilvie, 1998; Lana, 2003; Vail, 2009).

As consequências da toxicidade TGI grave incluem perda da qualidade de vida, adiamento dos ciclos, custos acrescidos para o proprietário no caso de hospitalização e diminuição do seu entusiasmo para continuar a terapia (Vail, 2009).

1.4.4. Alopécia

Devido à rápida multiplicação e crescimento das células dos folículos pilosos, estas estruturas tornam-se susceptíveis aos efeitos dos fármacos anti-neoplásicos (Fox, 2008).

A alopécia constitui uma preocupação comum para os proprietários, mas raramente tem significado clínico em Medicina Veterinária. A perda de pêlo durante o tratamento oncológico é mais severa em raças de cães com crescimento contínuo como Poodles, Terriers, e Old English Sheepdogs e Shih Tzus. Na maioria dos casos, com o descontinuar do tratamento o pêlo regressa, embora a cor e a textura possam ser ligeiramente diferentes. Em gatos sujeitos a tratamento oncológico prolongado está descrito a perda dos bigodes (Lana, 2003; Withrow e MacEwen's, 2007).

1.4.5. Reacções alérgicas

As reacções alérgicas são muito raras, especialmente se a administração dos fármacos anti-neoplásicos ocorrer correctamente. Os sinais de hipersensibilidade incluem a urticária, o prurido intenso, o vómito, a diarreia, a hipotensão, a perda da consciência, o abanar da cabeça, a hiperemia, o edema das pálpebras e das orelhas (Page, 1993; Ogilvie, 1998).

Estes efeitos são associados a diferentes compostos como a doxorrubicina, a vincristina e a L-asparginase (Lana, 2003; Fox, 2008).

A monitorização cuidada do animal é recomendada durante e imediatamente após a administração do fármaco anti-neoplásico (Lana, 2003). Em casos de reacções alérgicas agudas devem ser administrados difenidramina (0,2-0,5mg/Kg, IV, lento) e glucocorticóides (dexametasona 0,5-2mg/kg, IV). Os animais afectados podem beneficiar da pré-medicação com estes compostos (McKnight, 2003; Endicott, 2003; Argyle *et al*., 2008). Se necessário, deve ser administrada epinefrina (Ogilvie, 1998; Lana, 2003).

1.4.6. Cardiotoxicidade

Todas as antraciclinas, AB anti-tumorais, podem causar efeitos cardiotóxicos em diferentes graus (Ogilvie, 1998) devido à formação de radicais livres que provocam lesões oxidativas subsequentes na membrana citoplasmática das células musculares do coração (Chen *et al*., 2007; Raschi *et al.,* 2010). Dos AB antraciclícos, a doxorrubicina é sem dúvida, o fármaco anti-neoplásico mais utilizado estando a cardiotoxicidade associada à sua utilização. Tem um efeito cumulativo, dose-dependente a partir de 250mg/m^2, pelo que para minimizar o risco, a dose total de 180mg/m^2, não deve ser ultrapassada em cães (Argyle, 2008).

O exame ecocardiográfico com recurso ao *doopler* e electrocardiograma (ECG) devem ser realizados antes da administração da doxorrubicina.

A forma aguda da toxicidade da doxorrubicina manifesta-se por arritmias transitórias e a forma crónica resulta em cardiomiopatia dilatada e consequentemente insuficiência cardíaca irreversível (Lana, 2003). As taquiarritmias supra-ventriculares são sinal indicativo da lesão cardíaca provocada pela doxorrubicina (Mauldin, 1992).

As manisfestações da cardiotoxicidade identificadas no ECG incluem bloqueios, disrritmais, diminuição da amplitude da onda R. Ao exame ecocardiográfico, a cardiotoxicidade subclínica pode estar associada à diminuição da contractilidade cardíaca, (i.e. redução fracção de encurtamento) (Argyle, 2008; Ewer *et al*., 2008; Altena, *et al.*, 2009) resultando em insuficiência cardíaca congestiva (Raschi *et al*., 2010).

O risco da cardiotoxicidade causada pela doxorrubicina reduz-se se for administrada lentamente ou se for utilizado o cardioprotector dexrazoxane (um quelante do ferro) 30 minutos antes da sua administração (Imondi *et al*., 1996; Ettinger, 2001).

O tratamento das disrritmias inclui interromper o tratamento e se necessário administrar anti-arrítimicos. Adicionalmente, os fármacos inotropos positivos, os diuréticos, os

vasodilatadores e a redução do baixo teor de sal na dieta devem ser proporcionados (Ogilvie, 1998; Raschi *et al*., 2010).

1.4.7. Toxicidade do sistema urinário

A eliminação de muitos fármacos anti-neoplásicos e seus metabolitos, realiza-se por via renal, tornando este órgão susceptível aos efeitos tóxicos (Lana, 2003).

Se um agente platinante for administrado os valores da ureia e da creatinina devem ser monitorizados para avaliar a função renal (Fox, 2008). A cisplatina contém um metal pesado que diminui a taxa de filtração glomerular lesionando os túbulos renais (Lana, 2003). A nefrotoxicidade deste composto é dependente da dose (individual e cumulativa). Contrariamente à cisplatina, a carboplatina apresenta menor risco de nefrotoxicidade (McKnight, 2003; Kisseberth *et al*., 2008).

A doxorrubicina tem sido associada a toxicidade renal em gatos numa dose cumulativa de 80mg/m^2, contudo não constitui um problema clinicamente relevante (Ogilvie, 1998; Fox, 2008). O aparecimento da cistite hemorrágica estéril está associado a fármacos anti-neoplásicos alquilantes como a ciclosfosfamida e a iofosfamida (Lana, 2003). Estes fármacos são transformados nos metabolitos activos: a acroleína e a mostarda da fosforamida, que lesionam a mucosa vesical (Weller, 1978; Ogilvie, 1998; McKnight, 2003). Os sinais clínicos associados a este tipo de cistite, incluem a estrangúria/disúria e a hematúria (Argyle, 2008). Charney e os seus colaboradores (2000) verificaram a ocorrência de cistite hemorrágica estéril em cerca de 5% dos cães tratados com ciclofosfamida, tendo constatado menor incidência no grupo de animais em que se administrou furosemida (2,2mg/kg). Para minimizar este risco, deve-se ainda, providenciar a administração do fármaco anti-neoplásico pela manhã e disponibilizar água *ad libitum*, permitir ao animal urinar antes da noite, para evitar prolongado contacto dos metabolitos com o urotélio, administrar prednisolona (pois promove um acréscimo de consumo de água e consequente micção) e encorajar passeios frequentes (Ogilvie, 1998; McKnight, 2003). O ácido mercaptoetanossulfonato de sódio, vulgarmente designado por mesna, pode ser administrado para minimizar o risco de lesão urotelial pela sua acção protectora ao reagir com a acroleína (Frimberger, 2005). Quando se verifica o desenvolvimento da cistite hemorrágica estéril a ciclofosfamida não se deve voltar a administrar, devendo nos animais com linfoma, ser substituída pelo clorambucil. A antibioterapia está indicada pois o urotélio é susceptível às infecções. A cistite hemorrágica resolve-se na maioria dos casos em cerca de 3 semanas após descontinuação de tratamento (Ettinger, 2003). Em casos persistentes a instilação intravesical de

DMSO a 25% por 20 minutos, pode reduzir os sinais clínicos (Frimberger, 2005). Embora não haja tratamento específico, a oxibutinina (0,2-0,3 mg/kg PO, BID/TID) é também referenciada no alívio dos sinais clínicos (Withrow e MacEwen's, 2007).

Nos animais de companhia, o aparecimento de neoplasias da bexiga pode surgir associado a tratamentos com ciclofosfamida devido à acção irritativa dos seus metabolitos (McKnight, 2003; Fox, 2008).

1.4.8. Neurotoxicidade

A neurotoxicidade é rara em animais de companhia estando associada à administração vincristina, do 5-fluorouracil e da cisplatina (Lana, 2003).

Embora os efeitos neurotóxicos sejam raramente observados, os alcalóides da vinca podem provocar neuropatia periférica, constipação e fraqueza muscular. A vincristina interfere na formação dos microtúbulos, necessários durante o processo de mitose e que são abundantes nos neurónios (Fox, 2008).

A utilização de 5-fluorouracil, em cães, pode provocar ataxia cerebelar, hiperexcitibilidade, dismetria, tremores e convulsões. A sua utilização em gatos está totalmente contra-indicada, podendo conduzir à sua morte, por toxicidade irreversível e fatal (Ogilvie, 1998; Fox, 2008).

A administração da cisplatina está associada à cegueira em cães (Lana, 2003).

1.4.9. Toxicidade pulmonar

A toxicidade pulmonar é extremamente rara em cães. Em gatos, a administração da cisplatina provoca edema pulmonar agudo e efusão pleural, podendo ser fatal, pelo que a sua utilização nesta espécie está contra-indicada (Frimberger, 2005).

A bleomicina tem uma ampla distribuição pela pele e pelos pulmões, está associada à ocorrência de úlceras cutâneas e fibrose pulmonar severa, respectivamente. A sua toxicidade pulmonar resulta da acção dos radicais livres sobre as fibras musculares (Lana, 2003).

1.4.10. Toxicidade pancreática/ Toxicidade hepática

A administração da L-asparginase e a terapia combinada com a ciclofosfamida, a vincristina, a citarabina, a prednisona e a doxorrubicina estão associados a casos de pancreatite aguda. Os sinais clínicos de pancreatite desenvolvem-se 1 a 5 dias após o início da terapia e caracterizam-se por vómito, anorexia e depressão. A prevenção da pancreatite é difícil uma vez que não é previsível (Couto, 2003).

A hepatotoxicidade associada aos fármacos anti-neoplásicos é extremamente rara no cão e no gato não tendo significado clínico, com excepção da indução das alterações enzimáticas induzidas pelos corticosteróides no cão (Frimberger, 2005).

1.4.11. Síndrome de líse tumoral aguda

A síndrome líse tumoral aguda (SLTA) constitui uma urgência oncológica mas é relativamente rara em Medicina Veterinária. É provocada pela rápida libertação de compostos, provenientes da destruição massiva de células tumorais, para a circulação sanguínea. Consequentemente, desenvolvem-se alterações electrolíticas e metabólicas graves que podem causar a morte do animal (Lana, 2003).

A SLTA está descrita em cães com linfomas tratados com fármacos anti-neoplásicos e/ou radioterapia e caracteriza-se por hiperfosfatemia, com ou sem azotemia, hipercalemia, hipocalcemia e acidose metabólica. Os sinais clínicos incluem a depressão, o vómito e a diarreia, algumas horas após o início da quimioterapia oncológica. O diagnóstico precoce da SLTA e o tratamento atempado são fundamentais para salvar a vida do animal (Couto, 2003).

2. Objectivos

O objectivo deste trabalho consiste em estudar a influência do tratamento cíclico, com fármacos anti-neoplásicos em parâmetros fisiológicas de cães aos quais foram diagnosticados linfomas e osteossarcomas, de modo a averiguar o seu potencial efeito tóxico. Os fármacos anti-neoplásicos utilizados no tratamento do linfoma foram a doxorrubicina, a vincristina e a ciclofosfamida. Nos animais com OSA a quimioterapia adjuvante foi feita com administração da carboplatina e da doxorrubicina. Para cada animal foram feitas recolhas de sangue para hemograma e registados dados relativos à toxicidade sobre o TGI, à alteração do pêlo, à ocorrência de reacções de hipersensibilidade e às variações do peso corporal.

3. Material e Métodos

3.1. Definição do local

O presente trabalho consiste num estudo retrospectivo de cães submetidos a tratamentos com fármacos anti-neoplásicos no Hospital Veterinário do Baixo Vouga (HVBV), Águeda, Portugal.

3.2. Casuística

Os dados obtidos para este estudo foram retirados de fichas clínicas dos animais consultados no referido Hospital desde 2008 até 31 de Maio de 2010. A selecção de casos foi limitada a cães com linfoma e osteossarcoma, cujos proprietários optaram pelo tratamento de quimioterapia oncológica no HVBV.

Os diagnósticos definitivos foram feitos por citologia e/ou histologia (Laboratórios Gram, Laboratório de Anatomia Patológica Veterinária, Maia, Portugal e Laboratórios Inno, Laboratório Veterinário, Coimbra, Portugal). No que diz respeito aos 9 casos de linfoma, em 5 o diagnóstico fez-se através de histologia, nos restantes 4 casos o diagnóstico foi por citologia. No grupo de animais com OSA o diagnóstico foi realizado através da histopatologia, após o envio das amostras dos segmentos ósseos, para os laboratórios acima citados. Estes dados estão esquematizados nos anexos IV e V.

3.3. Protocolos quimioterápicos adoptados

Todos os ciclos de quimioterapia oncológica foram realizados no internamento do HVBV. Os tratamentos para linfoma consistiam em ciclos de quimioterapia oncológica em que o protocolo adoptado foi o *UW Short*. No tratamento quimioterápico adjuvante dos animais com OSA utilizou-se um protocolo combinando a carboplatina com a doxorrubicina.

Os protocolos utilizados no HVBV no tratamento dos animais com linfoma e OSA estão descritos nos quadros 7 e 8, respectivamente.

Quadro 7- Protocolo utilizado no tratamento do linfoma canino: *UW Short* [c] (adaptado de Withrow e MacEwen's, 2007).

	Semana															
	1	2	3	4	6	7	8	9	11	12	13	14	16	17	18	19
Citostático /Dosagem																
Vincristina (0.5–0.7 mg/m²IV)	✎		✎		✎		✎		✎		✎		✎		✎	
Ciclofosfamida[a] (250 mg/m² IV/PO)		✎				✎				✎				✎		
Doxorubicina [b] (30 mg/m²IV) (1mg/kg IV em cães <15kg)				✎				✎				✎				✎
Prednisona	2mg/kg POx7d; depois 1,5mg/kgPOq24hx7d; depois 1mg/kg PO q24h x7d; depois 0,5mg/kg PO q24h; STOP															

[a] furosemida (1mg/kg) administrada IV e associada a ciclofosfamida para reduzir a incidência da cistite hemorrágica estéril;

[b] em caso de doença cardíaca ou défices de contractilidade substituída por mitoxantrone;

[c] descontinuar o tratamento 5-7 dias se a contagem de neutrófilos for < 3000células/µl

Quadro 8- Protocolo utilizado no tratamento do OSA (adaptado de Withrow e MacEwen's, 2007).

Protocolo [a,b]	**Dose**
Doxorrubicina	30 mg/m^2 (1mg/kg em animais com <15kg)
Carboplatina	300mg/m^2 (10mg/kg em animais com <15kg)

[a] alternam-se os fármacos anti-neoplásicos a cada 21 dias até completar 6 ciclos

[b] descontinuar o tratamento 5-7 dias se a contagem dos neutrófilos for < 3000células/µl

3.4. Recolha de dados dos animais

A seguinte informação foi obtida a partir das fichas clínicas individuais de cada animal: raça, sexo, idade ao diagnóstico, sinais clínicos apresentados, método do diagnóstico, peso

corporal no início de cada ciclo, tratamentos efectuados e exames complementares de controlo como hemograma e bioquímica sérica.

Antes de cada ciclo procedeu-se à recolha das amostras de sangue. As amostras foram colocadas em tubos de K3 EDTA (IDEXX Vetcollecte™). Os hemogramas foram realizados com recurso a citometria de fluxo, utilizando o sistema IDEXX LaserCyte® Hematology Analyzer. Os valores de referência utilizados para a análise do leucograma foram os fornecidos pela IDEXX (anexo VI).

Do hemograma foram avaliados os seguintes parâmetros: índice de anisocitose dos eritrócitos (RDW); número absoluto de glóbulos vermelhos (RBC), hematócrito (HTC), hemoglobina (HGb), volume celular médio (VCM), concentração média hemoglobina corpuscular (CMHC), reticulócitos (RET), número absoluto de glóbulos brancos (WBC), número absoluto de neutrófilos (NEU), número absoluto de linfócitos (LIN), número absoluto de monócitos (MON), número absoluto de eosinófilos (EOS), número absoluto de basófilos (BAS) e o número total de plaquetas (PLQ).

A administração do fármaco anti-neoplásico foi adiada 3 a 5 dias sempre que se registou neutropenia <3000 células/µl e/ou toxicidade TGI grave. A dose administrada foi ajustada se no dia do ciclo, os valores de neutropenia fossem inferiores a 1500 células/µl, se fossem observados efeitos TGI muito agressivos ou se o animal manifestasse insuficiência hepática e/ou renal (Vail, 2009).

As informações relativas à toxicidade sobre o TGI, os efeitos dermatológicos, as reacções de hipersensibilidade desenvolvidas pelo animal, os efeitos cardiotóxicos, os efeitos no sistema urinário e as alterações comportamentais (quadro 9) após os ciclos de tratamento, foram registadas durante a anamnese e/ou recolhidas durante o exame físico realizado ao animal.

As toxicidades hematológica e do TGI associadas ao tratamento com os fármacos anti-neoplásicos contra o linfoma e o osteossarcoma foram classificadas de 1-5 de acordo com "*Veterinary Co-operative Oncology Group Common Terminology Criteria for Adverse Events (version 1)*".

Quadro 9- Descrição dos parâmetros fisiológicos avaliados nos animais sujeitos a tratamento de quimioterapia oncológica.

Efeitos adversos do TGI	Vómitos /náuseas Anorexia Diarreia Tenesmo/obstipação
Efeitos dermatológicos	Alopécia Mudança da pelagem Atraso crescimento
Reacções de hipersensibilidade	
Cardiotoxicidade	Arritmias Cardiomiopatia dilatada
Trato urinário	Cistite hemorrágica estéril Nefrotoxicidade
Alterações comportamentais	Sonolência Letargia

Nas fichas clínicas constavam ainda informações sobre o tempo de sobrevivência dos animais (i.e. da data do diagnóstico até à morte) à semelhança do referido no estudo desenvolvido por Frank *et al.* (2007).

3.5. Análise estatística

A análise estatística foi feita com recurso ao programa Microsoft® Excel 2007 (Microsoft Office - Microsoft Corporation ©, USA)

4. Resultados

4.1. Amostragem

Para a realização deste trabalho foram utilizados dados de 9 casos de cães com linfoma e 3 casos de cães com OSA, todos os animais foram submetidos a tratamentos de quimioterapia oncológica.

4.2. Características dos animais

Os animais com linfoma eram das seguintes raças: Pinsher, Boxer, Cocker Spaniel Inglês, Pastor Alemão, Labrador Retriever e Fox Terrier de pêlo curto e três animais eram de raça indeterminada (SRD). Os animais com OSA eram das raças Poodles, Boxer e São Benardo. Os dados dos animais com linfoma e OSA relativos à idade, ao peso, ao sexo, podem ser consultados no quadro 10. No anexo VII referimos as características de cada animal individualmente.

Nos casos de linfoma, os sinais clínicos apresentados no momento da consulta dos animais incluíam vómito, diarreia, perda de peso, anorexia e a letargia. Ao exame físico, as alterações encontradas englobavam perda da condição corporal, membranas pálidas e linfadenomegalia generalizada. Após o diagnóstico citológico e/ou histopatológico de linfoma, os animais foram sujeitos a tratamento cíclico com fármacos anti-neoplásicos no HVBV.

Nos animais com OSA apresentaram história de claudicação e dor nos membros. Apesar do diagnóstico definitivo ter sido estabelecido através de histopatologia, as alterações ósseas já eram visíveis ao RX (figura 4).

Quadro 10- Dados dos animais com linfoma e osteossarcoma.

	Linfomas	Osteossarcomas
Nº animais	9	3
Idade média (anos) ±DP Amplitude (anos)	5,89± 4,86 1-13	9,33± 1,53 8-11
Peso médio (kg) ±DP Amplitude (kg)	16,9± 12,48 3,7-37	31,33± 20,53 11,5-52,5
Sexo Machos Castrados Fêmeas Castradas	 3(33,3%) 0 6(66,6%) 3(50%)	 1(33,3%) 0 2(66,6%) 2(100%)

Figura 4- Rx lateral da tíbia distal evidenciando lesão cortical osteolítica e osteoprodutiva, perda das trabéculas ósseas e invasão do OSA para os tecidos moles (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).

4.3. Classificação e estadiamento

No quadro 11 podem ser consultados os dados relativos à classificação do estadio, subestadio, imunofenótipo e alterações bioquímicas dos animais com linfoma e OSA. Relativamente ao linfoma foram identificadas a forma do linfoma intestinal, do linfoma cutâneo (figura 5) e do linfoma multicêntrico. Um dos animais com linfoma cutâneo apresentou envolvimento ocular (figura 6).

Quadro 11- Classificação, estadiamento, imunofenótipo e alterações bioquímicas nos animais com linfomas e osteossarcomas.

	Linfomas n=9 (%)	Osteossarcomas n=3 (%)
Linfoma intestinal Linfoma cutâneo Linfoma multicêntrico	1 (11,1) 2 (22,2) 6 (66,7)	NA
Estadio Clínico I II III IV V	 1 (11,1) - 1 (11,1) 6 (66,7) 1 (11,1)	 - - - - -
Grau I II	NA	 3 (100)
Subestadio a b	 6 (66,7) 3 (33,3)	NA
Sem dados Células T Células B	6 (66,7) 1 (11,1) 2 (22,2)	NA
Localização do tumor Membro Posterior Direito Tíbia proximal Fémur proximal Esquerdo Tíbia distal	 NA	 3 (100) 2 (66,7) 1 1 1 (33,3) 1
Inicio da quimioterapia desde tratamento cirúrgico (dias) Média Intervalo	NA	 31 18-41
Hipercalcemia[>12mg/l] Sim Não Sem dados	 2 (22,2) 5 (55,6) 2 (22,2)	 - 3 (100) -
Aumento da ALP [>254 U/l]	NA	2 (22,2)

NA- não aplicável

Figura 5- Linfoma cutâneo não epiteliotrópico (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).

Figura 6- Envolvimento intraocular e dos tecidos perioculares de um animal com linfoma cutâneo epiteliotrópico (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).

4.4. Avaliação da toxicidade

4.4.1. Registo dos efeitos adversos provocados pelos fármacos anti-neoplásicos nos animais com linfoma

4.4.1.1.Toxicidade hematológica

Neste estudo não estão contabilizados os dados relativos aos ciclos em que por motivos de substituição ou pelos animais seguirem o protocolo de resgate, se utilizaram outros fármacos anti-neoplásicos que não a doxorrubicina, a ciclofosfamida e a vincristina.

Ao longo dos ciclos de tratamento de quimioterapia oncológica ocorreram várias situações de neutropenia e trombocitopenia, em separado ou em simultâneo, após a realização dos ciclos de tratamento. Estes dados podem ser consultados no quadro 12.

Quadro 12- Registos da ocorrência de neutropenia e trombocitopenia dos animais com linfoma.

Animal	Nº Ciclos	Episódios de trombocitopenia [<175000 PLQ/µl]	(%)	Episódios de neutropenia [<3000 células/ µl]	(%)	Adiamento do ciclo	Hospitalização*
1	1	1	100	1	100	-	-
2	2	2	100	-	0	-	-
3	1	-	0	-	0	-	-
4	5	-	0	-	0	-	-
5	18	6	33,3	4	22,2	2	1
6	12	2	16,7	3	25	1	-
7	24	1	4,2	4	16,7	2	1
8	9	-	0	2	22,2	-	-
9	7	1	14,3	4	57,1	2	-
Total	**79**	**13**	**16,5**	**18**	**22,8**	**7**	**2**

*: Hospitalização com consequente adiamento do ciclo de quimioterapia oncológica

Os dados relativos aos episódios de toxicidade hematológica associados aos diferentes fármacos anti-neoplásicos podem ser consultados no quadro 13.

Quadro 13- Registos da ocorrência de toxicidade hematológica associada a cada fármaco anti-neoplásico durante o tratamento do linfoma.

Nºciclos	Doxorrubicina n=17(%)	Ciclofosfamida n=18(%)	Vincristina n=44(%)
Efeitos			
Anemia	8(47,1)	8(44,4)	23(52,3)
Trombocitopenia	5(29,4)	2(11,1)	6(13,6)
GrauI	-	-	1(16,7)
Grau II	2(40)	1(50)	2(33,3)
gGrauIII	1(20)	-	2(33,3)
Grau IV	2(40)	1(50)	1(16,7)
Neutropenia	1(5,9)	6(33,3)	11(25)
GrauI	1(100)	5(83,3)	6(54,5)
Grau II	-	1(16,7)	3(27,3)
GrauIII	-	-	2(18,2)
GrauIV		-	-
Redução de dose	1*(5,9)	-	8(18,2)
Adiamento do ciclo	-	2(11,1)	7(15,9)
Necessidade de hospitalização	-	-	2(4,5)

* devido a Insuficiência Renal

- Neutropenia:
GrauI ≤3000 células/µl; **GrauII:** 1000-1500 células/µl; **GrauIII:** 500-999 células/µl; **GrauIV** <500 células/µl

- Trombocitopenia:
GrauI ≥100000, **GrauII:** 50000-99000 **GrauIII:** 25000-49000/µl; **GrauIV** <25000/µl

4.4.1.2. Efeitos adversos sobre o trato gastrintestinal

Neste estudo, a toxicidade gastrintestinal provocada pelos tratamentos com fármacos anti-neoplásicos foi comum embora de baixa intensidade (quadro 14).

Quadro 14- Registos da ocorrência dos efeitos adversos do TGI após ciclos de tratamento em animais com linfoma.

Nºciclos	Doxorrubicina n=17(%)	Ciclofosfamida n=18(%)	Vincristina n=44(%)
Efeitos			
Vómito/Náusea/ Anorexia	3(17,6)	2(11,1)	7(15,9)
Grau 1	2(66,7)	2(100)	4(57,1)
Grau 2	1(33,3)	-	3(42,9)
Grau 3	-	-	-
Grau 4	-	-	-
Diarreia	2(11,8)	-	2(4,5)

- Critérios dos efeitos adversos sobre o TGI

Grau 0: sem sinais de anorexia nem vómito; **Grau 1:** <3 episódios de vómito em 24h; Mudança na dieta e cuidados especiais "*Tender Love and Care"* foram necessários para manter apetite; **Grau2:** 3-5 episódios de vómito em 24 h ou <3 episódios por dia entre 2-5dias; alteração do consumo por 3 dias; **Grau3:** >5 episódios de vómito em 24h, ou episódios de vómito por >4 dias; fluidoterapia indicada; anorexia por 3-5 dias com perda de peso; **Grau4:** Vómito pode levar a colapso hemodinâmico.

4.4.1.3. Outras alterações nos parâmetros fisiológicos

Outras alterações nos parâmetros fisiológicos registadas após as administrações dos fármacos anti-neoplásicos estão esquematizadas no quadro 15.

Observámos a alteração do tipo e da cor do pêlo de um cão tratado com doxorrubicina (figura 7). Outros dois animais expressaram seborreia seca após administração de diferentes quimioterápicos.

Um animal desenvolveu cistite hemorrágica estéril devido à administração da ciclofosfamida. Houve outro caso em que após a análise da urina tipo II, o animal desenvolveu uma ligeira hematúria (figura 8), procedendo-se, em ambos os casos, à substituição da ciclofosfamida pelo clorambucil.

A doxorrubicina foi substituída por mitoxantrone nos 2 animais que expressaram reacções anafiláticas durante a sua administração (figura 9).

Quadro 15- Registos da ocorrência de alterações em parâmetros fisiológicos, após ciclos de tratamento de animais com linfoma.

Nº ciclos	Doxorrubicina n=17(%)	Ciclofosfamida n=18(%)	Vincristina n=44(%)
Alterações registadas			
Queda de pêlo/ Mudança da pelagem	1(5,9)	-	-
Seborreia seca	-	1(5,6)	1(2,3)
Hematúria	-	2(11,1)	-
Reações anafiláticas	2(11,8)	-	-
Arritmias	-	-	1(2,3)

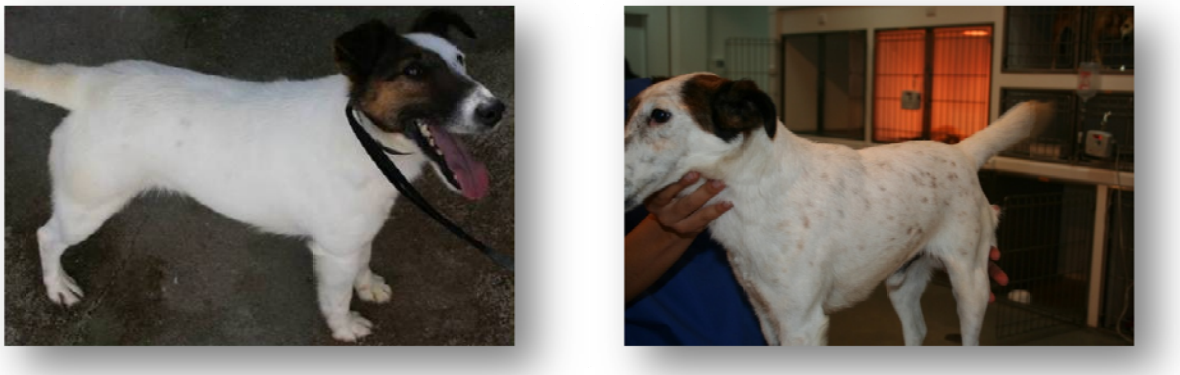

Figura 7- Padrão da pelagem antes e após tratamento quimioterápico, respectivamente (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).

Figura 8- Observação de hematúria num animal tratado com ciclofosfamida, compatível com cistite hemorrágica estéril (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).

Figura 9- Edema facial num animal com reacção anafilática após a administração da doxorrubicina (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena, HVBV).

4.4.2. Registo dos efeitos adversos provocados pelos fármacos anti-neoplásicos nos animais com osteossarcoma

4.4.2.1. Toxicidade hematológica

Foram efectuados 9 ciclos com a doxorrubicina e 9 ciclos com a carboplatina. O registo da ocorrência da neutropenia e da trombocitopenia de cada animal, individualmente, pode ser consultado no quadro 16.

A ocorrência da toxicidade hematológica associada a cada fármaco anti-neoplásico está organizada no quadro 17. Não houve necessidade de adiar os ciclos de quimioterapia oncológica nem de reduzir as doses dos fármacos quimioterápicos oncológicos. Nenhum animal necessitou de hospitalização em consequência da toxicidade hematológica.

Quadro 16- Registos da ocorrência da neutropenia e de trombocitopenia nos animais com osteossarcoma.

Animal	**Nº de ciclos**	**Episódios de trombocitopenia [<175000 PLQ/µl]**	**(%)**	**Episódios de neutropenia [<3000 células/µl]**	**(%)**
1	6	-	0	1	16,7
2	6	-	0	-	0
3	6	-	0	1	16,7
Total	**18**	**-**	**0**	**2**	**11,1**

Quadro 17- Registos da ocorrência de toxicidade hematológica associada a cada fármaco anti-neoplásico durante o tratamento do osteossarcoma.

Nº de ciclos	**Doxorrubicina n=9(%)**	**Carboplatina n=9(%)**
Efeitos		
Anemia	2(22,2)	2(22,2)
Trombocitopenia	-	-
GrauI	-	-
Grau II	-	-
GrauIII	-	-
Neutropenia	-	2(22,2)
GrauI	-	2(22,2)
Grau II	-	-
GrauIII	-	-
GrauIV	-	-

- Neutropenia:
GrauI ≤3000 células/µl; **GrauII:** 1000-1500 células/µl; **GrauIII:** 500-999 células/µl; **GrauIV** <500 células/µl

- Trombocitopenia:
GrauI ≥100000, **GrauII:** 50000-99000 **GrauIII:** 25000-49000/µl; **GrauIV** <25000/µl

4.4.2.2. Efeitos adversos sobre o TGI

Os dados relativos ao desenvolvimento da toxicidade sobre o TGI nos animais sujeitos ao tratamento com a doxorrubicina e a carboplatina, encontram-se organizados no quadro 18.

Quadro 18- Registos da ocorrência dos efeitos adversos no TGI após ciclos de tratamento de animais com osteossarcoma.

Nºciclos	Doxorrubicina n=9(%)	Carboplatina n=9(%)
Efeitos		
Vómito/Náusea/Anorexia	6(66,7)	4(44,4)
GrauI	5(83,3)	4(100)
GrauII	1(16,7)	-
GrauIII	-	-
Grau IV	-	-
Diarreia	-	-

- Critérios dos efeitos adversos no TGI

Grau 0: sem sinais de anorexia nem vómito; **Grau 1:** <3 episódios de vómito em 24h; Mudança na dieta e cuidados especiais "*Tender Love and Care"* foram necessários para manter apetite; **Grau2:** 3-5 episódios de vómito em 24 h ou <3 episódios por dia entre 2-5dias; alteração do consumo por 3 dias; **Grau3:** >5 episódios de vómito em 24h, ou episódios de vómito por >4 dias; fluidoterapia indicada; anorexia por 3-5 dias com perda de peso; **Grau4:** Vómito pode levar a colapso hemodinâmico

4.4.2.3. Outras alterações nos parâmetros fisiológicos

Após as administrações dos fármacos anti-neoplásicos observou-se apenas a ocorrência de alopécia num animal com pêlo de crescimento contínuo (quadro 19).

Quadro 19- Registos da ocorrência de alterações em parâmetros fisiológicos, após ciclos de tratamento de animais com OSA.

Nº ciclos	Doxorrubicina n=9(%)	Carboplatina n=9(%)
Alterações registadas		- (0)
Alopécia	1(11,1)	- (0)

4.5. Resposta ao tratamento, duração de remissão, tempo de sobrevida

A maioria dos animais respondeu ao tratamento, atingindo a remissão parcial ao fim de 2 tratamentos. Dos 9 casos de animais com linfoma apenas três completaram o protocolo *UW short* conseguindo alcançar a remissão clínica total, sendo que destes apenas dois continuam vivos. Outros dois animais ainda estão em tratamento. Os dados encontram-se esquematizados no quadro 20.

Nos casos do OSA, após o tratamento cirúrgico todos os animais concluíram os ciclos de quimioterapia adjuvante, mas apenas um dos três animais permanece vivo (quadro 21). Num dos animais foi visível ao RX a ocorrência de metástases pulmonares (figura 10).

Quadro 20- Relação entre o diagnóstico, número total de ciclos, duração de remissão e tempo de sobrevida nos animais com linfoma.

Nº	**Idade (anos), Sexo, Raça**	**Diagnóstico**	**Estadio/ Subestadio**	**Nº total ciclos**	**Resposta Tratamento**	**Duração da 1ª remissão (dias)**	**Tempo de sobrevida (dias após diagnóstico)**
1	7,♀*, SRD	Linfoma cutâneo não epiteliotrópico (Linfócitos B)	V a	1	-	-	13
2	13,♀*, Pastor Alemão	Linfoma intestinal	V b	2	-	-	11
3	1,♀, Boxer	Linfoma cutâneo (LinfócitosT)	III b	1	-	-	19
4	13,♂, SRD	Linfoma multicêntrico	IV b	5	Sim	27	55
5	5,♀, Retriever de Labrador	Linfoma multicêntrico	IV a	25	Sim	176	277
6	1,♀*, Pinsher	Linfoma multicêntrico	I a	16	Sim	137[b]	166[a]
7	4,♂, Fox Terrier	Linfoma multicêntrico	III a	24	Sim	243[b]	607[a]
8	4,♀, Cocker	Multicêntrico (Linfócitos B)	IV a	9	Sim	63[b]	133[a]
9	5,♂, SRD	Linfoma multicêntrico	IV a	9	Sim	55[b]	104[a]
						Média±DP	153,9±191

♀-fêmea; ♂-macho; *castradas; [a] vivos até 31 Maio de 2010; [b] até dia 31 Maio 2010

Quadro 21- Relação entre o número de ciclos e o tempo de sobrevida nos animais com osteossarcoma.

Nº	**Idade (anos), Sexo, Raça**	**Nº ciclos**	**Resposta tratamento**	**Tempo de sobrevida (dias após diagnóstico)**
1	9,♀*, Poodle	6	Sim	224
2	8,♂, Boxer	6	Sim	319[a]
3	11,♀, São Benardo	6	Não	158
Média±DP				233,7±80,9

♀-fêmea; ♂-macho; *castradas; [a] vivo até 31 Maio de 2010

Figura 10- Rx lateral de um animal com OSA evidenciando diversas metástases pulmonares (foto gentilmente cedida pelo Dr. Hugo Vilhena).

5. Discussão

Os protocolos de quimioterapia oncológica com diferentes fármacos anti-neoplásicos associando diferentes mecanismos de acção constituem a abordagem terapêutica mais comummente adoptada no tratamento das neoplasias sistémicas e metástases (Saba *et al*., 2009).

É necessário ressalvar que a casuística analisada ao longo deste estudo, 9 animais com linfoma e apenas 3 animais com OSA, é muito reduzida comparativamente a estudos anteriormente desenvolvidos por outros investigadores com o objectivo de avaliar a eficácia e a toxicidade associadas aos diferentes protocolos de quimioterapia oncológica.

No que diz respeito às características dos animais com linfoma acompanhados neste estudo, a média das idades foi de 5,89 anos, com animais cujas idades variavam de 1 até aos 13 anos. A média do peso corporal foi de 16,9kg, havendo animais com 3,7 até 37kg. Não se registaram variações expressivas no peso ao longo do tratamento quimioterápico em nenhum dos animais.

Nos casos com linfomas, verificámos que foram afectados um maior número de fêmeas, contudo a diferença quanto ao género não foi significativa, sendo estes resultados plausíveis devido ao reduzido número de casos ou, como é referido na bibliografia, por não existir predisposição sexual para a ocorrência do linfoma canino (Frank *et al.,* 2007). Os sinais clínicos apresentados pelos animais com linfoma, no momento da consulta, foram inespecíficos, sendo idênticos ao documentado por outros autores (MacDonald *et al*., 2005, Hosoya *et al*., 2007; Brodsky *et al*., 2009).

No nosso estudo, nos animais com OSA, a média da idade dos animais em estudo, foi aproximadamente de 9,33 anos, cujo intervalo variava entre os 8 e os 11 anos. A média do peso corporal foi de 31,33 kg (intervalo 11,5-52,5kg), não se tendo observado variações de peso relevantes ao longo dos seis ciclos de tratamento. Todos os animais com OSA apresentavam história de claudicação e dor no momento da consulta. Estes dados estão de acordo com o documentado por Dernell (2003) e Withrow e Khanna (2010) no estudo em que referiram os factores predisponentes da doença e os principais sinais clínicos que constituíam o motivo da consulta.

À semelhança do referido por Gavazza e seus colaboradores (2001) num estudo em que avaliaram a associação da incidência do linfoma canino em áreas industrializadas e por Rutley e MacDonald (2007) numa revisão sobre o linfoma, no nosso trabalho, a forma anatómica mais

comum foi o linfoma multicêntrico com 66,7% dos casos. A forma anatómica do linfoma cutâneo representou 22,2% dos casos e o linfoma intestinal representou 11,1% dos casos.

No nosso estudo, a maioria dos animais apresentou-se à consulta em estadios avançados da doença, à semelhança do referido por outros autores (Withrow e Vail, 2007; Rutley e MacDonald, 2007). Apenas um dos animais foi diagnosticado no estadio I de acordo com a OMS (1980). No que diz respeito ao subestadio, somente 3 dos 9 animais foram à consulta sem manifestações sistémicas da doença (subestadio b). O perfil do imunofenótipo realizou-se em apenas 3 animais, dois deles com linfoma cutâneo, sendo que num caso, o tumor tinha origem nos linfócitos B e no outro tinha origem nos linfócitos T. O animal com linfoma multicêntrico teve origem nos linfócitos B.

No presente estudo, apenas dois animais apresentaram hipercalcemia, com valores do Ca^{2+} corrigido de 12,1mg/dl e de 14,8mg/dl, ambos com o diagnóstico de linfoma cutâneo. A presença de hipercalcemia, associada frequentemente ao linfoma com origem nos linfócitos T, constitui um factor de prognóstico negativo (Williams *et al.*, 2004; Brosky, 2009).

No nosso estudo, a classificação do tumor nos animais com OSA foi de osteossarcoma produtivo de Grau II. Nos 3 casos a localização do tumor foi nos membros posteriores. O tumor em 66,7% dos animais localizou-se no membro posterior direito, sendo um na tíbia proximal e outro no fémur proximal e 33,3% dos casos no membro posterior esquerdo, com localização na tíbia distal. Withrow e Khanna (2010) referem que 77% do OSA surge nas metáfises dos ossos longos.

No presente estudo, observou-se um aumento da enzima ALP com valores máximos de 496U/l e 296U/l em dois dos animais com OSA. Contudo devido ao facto de a actividade da enzima mensurada não ser exclusivamente uma isoenzima óssea, de poder estar elevada em consequência da prévia administração de corticosteróides e/ou ao reduzido número de animais neste estudo, este dado não pode ser considerado como um factor de prognóstico neste estudo. No entanto, existem estudos que consideram que o aumento da actividade da ALP constitui um factor de prognóstico negativo (Ehrhart *et al*., 1998; Garzotto *et al*., 2000).

Estão descritos diversos protocolos de quimioterapia oncológica para o tratamento do linfoma canino, a eficácia e a toxicidade associadas são semelhantes entre si (Legendre, 2007). Apesar da mielossupressão e dos sinais gastrintestinais registados, o protocolo *Madison-Wisconsin short* constitui uma abordagem terapêutica bastante tolerada pelos animais com linfoma, à semelhança do registado por Williams e seus colaboradores (2004).

No nosso estudo, a toxicidade hematológica dos animais com linfoma e tratados com fármacos anti-neoplásicos manifestou-se por anemia, trombocitopenia e neutropenia. No grupo

de animais com linfoma o fármaco anti-neoplásico que provocou maior percentagem de anemia foi a vincristina (52,3%), contudo não se observaram complicações clínicas associadas à sua administração. Segundo Nelson e Couto (2003) a anemia induzida pela quimioterapia oncológica é rara em cães, e se ocorrer é de estabelecimento tardio, devido ao facto do tempo de trânsito na medula e o tempo de semi-vida dos glóbulos vermelhos, no cão, ser aproximadamente 7 e 120 dias, respectivamente. Porém alguns factores relacionados com o animal (como a má nutrição, a idade, ou uma disfunção orgânica concomitante) e factores relacionados com o tumor (como a infiltração da medula óssea ou a disseminação das metástases) podem interferir no grau de citopenia (Nelson e Couto, 2003).

O tempo de trânsito da medula óssea e tempo de semi-vida das plaquetas, no cão, é aproximadamente 3 e 4/6 dias, respectivamente. A trombocitopenia, após a administração dos fármacos anti-neoplásicos, embora comum, não é suficientemente grave para provocar sintomatologia clínica (Nelson e Couto, 2003). No nosso estudo registaram-se episódios de trombocitopenia em 16,5% dos ciclos realizados. No nosso trabalho, 66,7% dos animais expressaram toxicidade hematológica sobre a forma de trombocitopenia. Esta foi transitória, pelo que nenhum dos animais teve sinais clínicos como petéquias ou hemorragias, não sendo necessárias a rectificação das doses devido às contagens das plaquetas, o que vai de encontro ao referido pelos autores acima citados.

No nosso estudo, a doxorrubicina provocou episódios de trombocitopenia em 29,4% dos ciclos em que foi utilizada, sendo responsável por dois episódios de grau IV, com valores de 23000 plaquetas/µl e 15000 plaquetas/µl, em diferentes animais. Fox (2008) refere que a doxorrubicina pode causar trombocitopenias com *nadir* entre 7 a 10 dias. A vincristina provocou trombocitopenia em 13,6% dos ciclos, atingindo num dos casos valores de 19000 plaquetas/µl. A ciclofosfamida foi o fármaco anti-neoplásico que provocou a menor percentagem de trombocitopenia (11,1%), contudo registou-se um episódio no grau IV, com valores de 16000 plaquetas/µl. Em determinados ciclos observámos trombocitoses ligeiras, à semelhança do referido nos estudos de Mischke e Eberle (2009). O efeito na contagem das plaquetas está bem documentado na utilização da vincristina, a uma ligeira diminuição inicial (com o *nadir* no 2º dia) segue-se um aumento gradual acima dos valores base (com o pico no oitavo dia após a administração) retornando ao normal ao 14º dia (Mackin *et al*., 1995).

O tempo de trânsito da medula óssea e o tempo de semi-vida dos neutrófilos é de 6 dias e 4/8 horas, respectivamente. A neutropenia é limitante da dose e pode provocar septicemia com risco de vida para o animal (Nelson e Couto, 2003).

No nosso estudo, registaram-se episódios de neutropenia em 22,8% dos ciclos realizados. O fármaco anti-neoplásico com que se registou um maior número de episódios de neutropenia foi a ciclofosfamida, em 33,3% dos ciclos em que foi administrada. Seguiu-se a vincristina, em 25% e finalmente a doxorrubicina em 5,9% dos ciclos em que foi administrada. Segundo a bibliografia consultada, a doxorrubicina e a ciclofosfamida são fármacos anti-neoplásicos com elevado poder mielossupressivo, contrariamente, a vincristina tem um efeito mielossupressivo leve a moderado (Nelson e Couto, 2003; Frimberger, 2005; Fox, 2008). Em 4,5% das administrações da vincristina houve necessidade de hospitalizar 2 animais: um com valores dos neutrófilos de 950 células/µl e outro com valores dos neutrófilos de 510 células/µl. Este animal sofreu redução na dose da vincristina nos ciclos subsequentes da quimioterapia oncológica.

À semelhança do estudo de Brodsky e seus colaboradores (2009) em que avaliaram o efeito dos fármacos anti-neoplásicos em cães com linfoma multicêntrico, no nosso trabalho, a neutropenia foi a principal causa do adiamento dos ciclos de tratamento e consequente modificação dos protocolos: em 11,4% dos ciclos houve necessidade de adiar o ciclo de quimioterapia por 3 a 5 dias. Foi necessário adiar os ciclos em 15,9% dos casos em que se utilizou a vincristina e 11,1% dos casos em que se administrou a ciclofosfamida. Após a administração da doxorrubicina não foi necessário adiar nenhum ciclo, resultados idênticos foram observados no trabalho de Chun e seus colaboradores (2000) e Garret e seus colaboradores (2002).

No nosso estudo as rectificações na posologia, devido a toxicidade, associaram-se todas à vincristina, em 18,2% dos ciclos em que foi administrada. Devido a insuficiência renal concomitante reduziu-se 25% da dose da doxorrubicina num animal. Contrariamente ao que observámos no nosso estudo, no estudo de Chun e seus colaboradores (2000), a doxorrubicina foi o fármaco anti-neoplásico em que mais ocasiões, se procedeu à rectificação da dose, seguido da ciclofosfamida e da vincristina. Esse estudo, envolvendo uma amostragem de 104 animais com linfoma, pretendeu avaliar a eficácia e toxicidade associada ao protocolo CHOP usando doses mais elevadas comparativamente ao protocolo convencional. A maior toxicidade verificou-se no momento na administração da vincristina na dose de 0,7mg/m^2. Surpreendentemente, a toxicidade não esteve associada ao aumento da dose, pois dos treze animais que morreram apenas cinco receberam doses altas. Dos animais que receberam doses mais elevadas de CHOP, 34,7% revelaram necessidade em adiar os ciclos de tratamento, em que a maioria das ocasiões (81,2%) ocorreu após a administração de vincristina e nas restantes ocasiões (18,8%), o adiamento do tratamento ocorreu após a administração da ciclofosfamida, à semelhança dos nossos resultados.

No estudo de Garret e seus colaboradores (2002) comparou-se os efeitos do protocolo *Madison-Wisconsin* modificado administrado a 53 animais com linfoma com os efeitos registados com o protocolo *Madison-Wisconsin* convencional no tratamento de outros 55 animais. A vincristina pareceu ser responsável pela toxicidade registada, contudo os efeitos foram controláveis. Dos 21 adiamentos dos ciclos de tratamento, 20 resultante da mielossupressão e um devido a toxicidade gastrintestinal. Os fármacos anti-neoplásicos responsáveis, à semelhança dos nossos resultados, foram a vincristina (em maior número de episódios), seguida da ciclofosfamida. As rectificações de dose, à semelhança dos resultados do nosso estudo, ocorreram em maior percentagem após toxicidade com a vincristina e em menor percentagem com a doxorrubicina. A hospitalização devido a toxicidade ocorreu devido a neutropenia e febre após administração de vincristina e L-asparginase e devido a toxicidade gastrintestinal após a administração da doxorrubicina. No nosso estudo, ambos as hospitalizações ocorreram após a administração de vincristina.

Simon e seus colaboradores (2006) estudaram o tratamento do linfoma em 77 animais durante 12 semanas utilizando L-asparaginase, vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina e prednisolona e registaram toxicidade hematológica tolerável, observando neutropenia nos graus III/IV em 12% dos casos e uma morte associada ao tratamento.

A toxicidade gastrintestinal é bastante comum nos animais sujeitos a tratamento com fármacos anti-neoplásicos (Lana, 2003; Frimberger, 2005). No nosso estudo, os efeitos adversos sobre o TGI foram leves, não obstante, todos os animais expressaram pelo menos um efeito adverso. O fármaco anti-neoplásico com o qual se observou um maior número de efeitos secundários (anorexia/náusea/vómito) foi a doxorrubicina em 17,6% dos casos, sendo estes de intensidade leve a moderada, seguindo-se a vincristina em 15,9% dos casos e a ciclofosfamida em 11,1% dos casos. A ocorrência de diarreia ocorreu em 11,8% dos ciclos em que se administrou a doxorrubicina e em 4,5% dos ciclos em que se administrou a vincristina.

Num estudo realizado com 42 cães com linfoma tratados apenas com doxorrubicina registou-se que 14 animais manifestaram sinais de toxicidade gastrintestinal de intensidade leve, 3 apresentaram sinais moderados, 3 apresentaram sinais severos e nos restantes animais não se registou qualquer sinal de toxicidade (Mutsaers *et al*., 2002).

Num estudo de Brodsky e colaboradores (2009) em que se avaliou o efeito do protocolo com L-asparginase, mecloretamina, vincristina, prednisona e procarbazina em 50 animais com linfoma, os episódios de toxicidade gastrintestinal foram leves a moderados e resolveram-se com cuidados de suporte, à semelhança do observado no nosso estudo.

Hosoya e seus colaboradores (2007) compararam o protocolo COAP (ciclofosfamida, vincristina, citosina arabinósideo, prednisona) administrado em 71 animais com o *Madison-Wisconsin* usado em 30 animais, observando maior toxicidade hematológica e gastrintestinal nos animais em que foi aplicado este último protocolo. Observaram ainda um caso de SLTA com o protocolo COAP e dois casos de SLTA com o protocolo *Madison-Wisconsin.*

O extravasamento, a alopécia, o atraso no crescimento do pêlo e a hiperpigmentação são diferentes tipos de toxicidade dermatológica. A hiperpigmentação cutânea que envolva a face, o abdómen ventral e os flancos é associada a protocolos contendo doxorrubicina e bleomicina (Nelson e Couto, 2003). No nosso estudo, um dos animais ao longo do tratamento, começou progressivamente a mudar de pelagem e a perder pêlo, adquirindo um novo padrão durante o tratamento. Dois animais desenvolveram seborreia seca após a administração da vincristina e da ciclofosfamida. A bibliografia consultada refere apenas a possibilidade de ocorrência de alopécia associados à administração destes compostos (Lana, 2003; Nelson e Couto, 2003; Fox, 2008).

A ciclofosfamida está relacionada com o desenvolvimento de lesões na mucosa urinária devido à acção dos seus metabolitos (Lana, 2003). No nosso estudo, este fármaco anti-neoplásico provocou hematúria compatível com cistite hemorrágica estéril em 22,2% dos animais, pelo que, se procedeu à substituição deste fármaco anti-neoplásico pelo clorambucil. Analogamente, no estudo de Garret e colaboradores (2002), 15% dos animais desenvolveram cistite hemorrágica estéril. Hosoya e seus colaboradores (2007) também observaram o desenvolvimento de cistite hemorrágica em 2,8% dos animais tratados com COAP.

A doxorrubicina é frequentemente associada a reacções de hipersensibilidade (Fox, 2008). No nosso estudo, 22,2% dos animais manifestaram uma reacção anafilática durante a sua administração, pelo que nos seguintes ciclos substituiu-se este anti-neoplásico por mitoxantrone.

No presente trabalho, um dos animais registou arritmias no ECG após a administração da vincristina, contudo poderá não estar relacionado com o tratamento oncológico. Ao exame ecocardiográfico nenhum dos animais registou redução da fracção de encurtamento do ventrículo após a administração da doxorrubicina. Contrariamente, Chun e colaboradores (2000) interromperam a administração deste mesmo composto, depois de registarem a diminuição da fracção de encurtamento do ventrículo num dos animais.

Diversos estudos referem que a quimioterapia oncológica com agentes platinantes constitui uma boa opção terapêutica, nos animais com OSA submetidos a tratamento cirúrgico prévio (Straw *et al*., 1991; Berg *et al*., 1995). No entanto, os cães tratados com carboplatina devem ser cuidadosamente monitorizados devido aos efeitos adversos na medula óssea e no TGI (Phillips *et al*., 2009). No nosso trabalho, foram avaliados os efeitos adversos da carboplatina e

da doxorrubicina, em três animais com OSA sujeitos a tratamento quimioterápico adjuvante. Ao longo dos 18 ciclos, tanto a carboplatina como a doxorrubicina foram responsáveis por dois episódios de anemia. Não se registaram episódios de trombocitopenia após a administração de nenhum destes compostos. Ambos os episódios de neutropenia ligeira ocorreram após a administração da carboplatina em diferentes animais, com valores de 2270 neutrófilos/µl e 2510 neutrófilos/µl. Fox (2008) refere o poder mielossupressor deste composto. Chun e seus colaboradores (2000) durante o tratamento do OSA a 16 animais, num total de 64 sessões com doxorrubicina não verificaram a necessidade de adiar os tratamentos, mas foi necessária a redução da dose em 2 animais devido à ocorrência de neutropenia. À semelhança do que ocorreu no nosso estudo, nenhum animal necessitou descontinuar a terapia devido aos efeitos adversos.

No estudo de Kent e colaboradores (2004) após intervenção cirúrgica para o tratamento de OSA, 32 cães receberam a carboplatina e a doxorrubicina, com o objectivo de determinar a eficácia da quimioterapia oncológica, a toxicidade e os factores de prognóstico associados ao OSA. Num total realizaram-se 88 administrações de carboplatina e 82 administrações de doxorrubicina. A carboplatina foi responsável por 73,3% dos episódios de neutropenia ocorridos, 66,7% dos episódios de trombocitopenia e por todos os adiamentos dos ciclos necessários. Todas as toxicidades da carboplatina foram de grau I ou II, não se observando sinais clínicos de toxicidade grave em nenhum dos animais.

No nosso estudo, à semelhança do observado por Chun e seus colaboradores (2000) ocorreram efeitos gastrintestinais adversos, embora de intensidade leve. Em 66,7% dos ciclos em que se administrou a doxorrubicina registaram-se episódios de náusea/anorexia, em grau I (83,7%) e grau II (16,7%). A carboplatina provocou sintomatologia gastrintestinal leve em 44,4% dos ciclos em que foi utilizada. Em nenhum dos ciclos de tratamento se observou a existência de diarreia.

No que diz respeito à toxicidade gastrintestinal, Kent e colaboradores (2004) observaram que a carboplatina foi responsável por 66,7% dos episódios de anorexia e 45,3% dos episódios de vómito. Os três episódios de diarreia referidos pelos proprietários foram atribuídos à doxorrubicina. A dose da carboplatina foi reduzida num animal por duas vezes e a dose da doxorrubicina foi rectificada por quatro vezes em diferentes animais. Paralelamente, no nosso estudo não houve necessidade de adiar os ciclos nem de reduzir as doses dos quimioterápicos. À semelhança do nosso estudo, nenhum animal precisou de hospitalização devido a toxicidades.

Num outro estudo realizado por Chun e seus colaboradores (2005), após a amputação do membro a 35 cães com OSA apendicular foram submetidos a quatro ciclos de quimioterapia com cisplatina e doxorrubicina com intervalos de 21 dias, com o objectivo de determinar a eficácia e

a toxicidade da quimioterapia combinada. Devido aos efeitos adversos no TGI, 5,7% dos animais precisaram de redução da dose da doxorrubicina. Outros 5,7% dos animais descontinuaram a administração deste composto devido aos sinais clínicos de cardiomiopatia dilatada e a anorexia grave. Boyles (2010) avaliou através de questionários realizados aos proprietários a qualidade de vida dos 22 animais que receberam carboplatina como tratamento adjuvante do OSA e observou que 57% dos animais tiveram vários efeitos adversos incluindo letargia, vómito ou perda de apetite. A qualidade de vida do animal diminuiu comparativamente à data anterior ao diagnóstico, mas após o início do tratamento, concluiu-se que a carboplatina é bem tolerada pelos animais.

No nosso estudo, nos animais com OSA sujeitos a quimioterapia adjuvante observámos a ocorrência de alopécia num animal de raça Poodle. Lana (2003) refere essa possibilidade após tratamento com fármacos anti-neoplásicos, sendo mais comum em raças com pêlo de crescimento contínuo.

No que diz respeito à resposta ao tratamento, remissão clínica e tempo de sobrevida total, dos nove animais com linfoma estudados neste trabalho, quatro animais continuam vivos (44,4%), dos quais dois ainda permanecem em tratamento. Seis animais (66,7%) responderam ao tratamento, contudo, apenas três animais (33,3%) completaram os 16 ciclos de tratamento. Contudo dois deles recidivaram meses depois, reiniciando os ciclos de quimioterapia oncológica. Apenas um conseguiu novamente a remissão total, não estando actualmente em tratamento.

No nosso estudo, os animais com linfoma sobreviveram em média 153,9 dias após o diagnóstico (intervalo entre 11 e 607 dias). Os animais cujo diagnóstico surgiu nos estadios V, ou seja, quando já havia envolvimento do sangue, da medula óssea e de outros órgãos, resistiram durante poucos dias após o diagnóstico. O animal com linfoma cutâneo sobreviveu durante 13 dias e o animal com linfoma intestinal sobreviveu durante 11 dias, sendo estes tipos de neoplasias associadas a um mau prognóstico (Moore *et al*., 1994; Frank *et al*., 2007; Rassnick *et al*., 2009). Nelson e Couto (2003) documentam uma fraca resposta à quimioterapia nos cães com linfoma intestinal, referindo a morte dos animais poucas semanas após o diagnóstico. Num estudo de Rassnick e seus colaboradores (2009) em que se avaliou a eficácia da quimioterapia combinada em 30 animais com linfoma gastrintestinal, a diarreia foi referida como um sinal clínico associado a uma reduzida sobrevivência e simultaneamente um indicador de reduzida qualidade de vida. Nesse mesmo estudo, a média da sobrevida dos animais que não responderam à quimioterapia foi de 10 dias, tendo sido justificado que a maioria dos casos (67%) tinha origem nos linfócitos T e que a este imunofenótipo está associado a um comportamento biológico mais agressivo, tornando o tumor menos responsivo à quimioterapia oncológica. Segundo Chun e

colaboradores (2000), os animais com linfoma multicêntrico em que se administrou o protocolo CHOP sem fase de manutenção e o protocolo *standard* tiveram duração média de remissão e tempo de sobrevida médio similares, 300 dias contra 197 dias e 270 dias contra 318 dias, respectivamente.

Os animais com OSA alcançaram um tempo de sobrevida médio de 233,7 dias após o diagnóstico (com intervalo de 158 a 319 dias). Durante os ciclos de tratamento de quimioterapia adjuvante, no RX de um animal já eram visíveis metástases pulmonares, tendo sobrevivido apenas 158 dias após o diagnóstico de OSA. O período médio de remissão de 48 cães após quatro ciclos com carboplatina foi de 257 dias (Endicott, 2003). No estudo de Chun e seus colaboradores (2000) o tempo de sobrevida dos 16 animais com OSA submetidos a quimioterapia adjuvante foi de aproximadamente de 540 dias. Num estudo de Bailey e seus colaboradores (2003) avaliou-se a eficácia do tratamento para OSA, através da administração da doxorrubicina e da carboplatina obteram um tempo médio de sobrevida de 235 dias, para os 24 animais submetidos a tratamento. Kent e colaboradores (2004) após a administração destes mesmos compostos observaram que o tempo médio de sobrevida livre da doença dos 32 animais no estudo com OSA foi de 227 dias (intervalo de 180-274 dias) e o tempo médio de sobrevida total foi de 320 dias (intervalo de 153-487 dias). A taxa de sobrevivência no primeiro ano foi de 48% e no segundo ano foi de 18%. Um outro estudo realizado por Phillips e seus colaboradores (2009) que utilizou apenas a carboplatina em 155 cães com OSA, a média do tempo de sobrevida foi de 307 dias, em que 36,8% sobreviveu um ano, 18,7% dois anos e 11% três anos.

6. Considerações finais

Tendo em consideração os objectivos iniciais deste estudo, os conhecimentos adquiridos ao longo da realização deste trabalho e os resultados obtidos podemos concluir:

- Na prática clínicas de animais de companhia, as neoplasias constituem uma doença cada vez mais frequente, podendo este dado ser explicado pelo aumento da esperança média de vida dos animais de companhia, o que resulta indirectamente das melhores condições de vida a que estão sujeitos;
- A quimioterapia oncológica é um dos principais tratamentos disponíveis contra as neoplasias sistémicas como os linfomas e as metástases do OSA; aumentando o tempo de sobrevida dos animais e assegurando uma melhor qualidade da sua vida;
- Os protocolos recentes visam modular a toxicidade por manipulação da dose administrada ou variando os intervalos da administração, sem comprometimento da sua eficácia;
- No grupo dos animais com linfoma, apesar da mielossupressão e dos sinais gastrintestinais registados, o protocolo *Madison-Wisconsin short* constitui uma abordagem de tratamento bem tolerada pelos animais;
- No grupo dos animais com OSA, a doxorrubicina e a carboplatina provocaram mielotoxicidade leve e efeitos adversos gastrintestinais de baixa intensidade;
- O número de casos estudados nesta dissertação de mestrado é reduzido comparativamente a trabalhos desenvolvidos em centros de referência para o estudo das doenças oncológicas dos animais de companhia. Contudo, a realização de uma dissertação de mestrado em tão curto período de tempo, a sensibilidade dos proprietários e os custos inerentes a este tipo de tratamento, podem considerar-se condicionantes na obtenção de uma amostragem maior;
- Apesar de este estudo não nos permitir correlacionar os fármacos anti-neoplásicos com os diferentes efeitos adversos nos parâmetros fisiológicos do animal, sensibilizou-nos para este tema podendo no futuro, se as condições assim o permitirem, serem desenvolvidos novos estudos nesse sentido.

7. Referências bibliográficas

- Altena R, Perik PJ, Veldhuisen DJ, Vries EG, Gietema JA. 2009. Cardiovascular toxicity caused by cancer treatment: strategies for early detection. *Lancet Oncol* 10: 391–99;
- Argyle DJ; Brearley MJ, Turek, MM. 2008. Decision making in Small Animal Oncology. *widy backwell;*
- Bailey D, Erb H, Williams L. 2003. Carboplatin and doxorubicin combination chemotherapy for the treatment of appendicular osteosarcoma in the dog. *J Vet Intern Med*;17:199-205;
- Berg J, Weinstein MJ, Springfield DS.1995. Results of surgery and doxorubicin chemotherapy in dogs with osteossarcoma. *J Am Vet Med Assoc* 206:1555–1560.
- Blackwood L, Sullivan M, Lawson H. 1997. Radiographic abnormalities in canine multicentric lymphoma: A review of 84 cases. *J Small Anim Pract* 38:62-69;
- Bowles DB, Robson MC, Galloway PE, Walker L. 2010. Owners' perception of carboplatin in conjunction with other palliative treatments for cancer therapy. *Journal of Small Animal Practice* 51: 104–112;
- Boyce KL, Kitchell BE. 2000; Treatment of canine lymphoma with COPLA/LVP. *J Am Anim Hosp Assoc* 36: 395-403;
- Calvert CA, Leifer CE, MacEwen EG. 1982. Vincristine for treatment of transmissible venereal tumor. *J Am Vet Med Assoc* 181:163-164;
- Charney SC, Bergman PJ, Hohenhaus AE, McKnight JA. 2000. Cyclophosphamide associated sterile hemorrhagic cystitis. A retrospective examination and determination of impact of concurrent furosemide administration. *Proc Vet Cancer Soc* 20:39;
- Chen B, Peng XPL, Penstassuglia L, Lim CC, Sawyer DB. 2007. Molecular and cellular mechanisms of anthracycline cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol* 7:114–121;
- Chun R, Garrett L, MacEwen EG. 2001. Cancer Chemotherapy, in Withrow SJ and MacEwen EG. Small Animal Clinical Oncology (ed 3). Philadelphia, PA, Saunders, pp 92-118;
- Chun R, Garrett LD and Vail DM. 2000. Evaluation of a High-Dose Chemotherapy Protocol with No Maintenance Therapy for Dogs with Lymphoma. *J Vet Intern Med* 14:120–124;

- Chun R, Garrett LD, Henry C, Wall M, Smith A, Azene NM. 2005. Toxicity and Efficacy of Cisplatin and Doxorubicin Combination Chemotherapy for the Treatment of Canine Osteosarcoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 41: 382-387;
- Chun R, Hurzman ID, Couto CG, Klausner J, Henry C, MacEwen EG. 2000. Cisplatin and doxorubicin combination chemotherapy for the treatment of canine osteossarcoma: a pilot study. *J vet Interrn med* 14:495-498;
- Chun R. 2009. Lymphoma: Which chemotherapy protocol and why? *Saunders Elsevier;*
- Conder GA, Sedlacek HS, Boucher JF, Clemence RG. 2008. Efficacy and safety of maropitant, a selective neurokinin1 receptor antagonist, in two randomized clinical trials for prevention of vomiting due to motion sickness in dogs. *J Vet Pharmacol Therap* 31, 528–532;
- Coyle KA and Steinberg H. 2004. Characterization of Lymphocytes in Canine Gastrintestinal Lymphoma. *Vet Pathol* 41:141–146;
- Crump, KT. 2000. Cancer and Chemotherapy. *Animal Cancer Center*;
- De La Ponte-RedondoVA, Siedek EM, Benchaoui H A, Benchqui HA, Tilt N, Rown TG and Clemence RG.2007. The anti-emetic efficacy of maropitant (Cerenia) in the treatment of ongoing emesis caused by a wide range of underlying clinical aetiologies in canine patients in Europe. *Journal of Small Animal Practice* 48, 93–98;
- Dernell WS, Ehrhart NP, Straw RC. 2007. Tumors of the skeletal System. In: Withrow SJ, Vail DM, eds, Withrow and MacEwens's Small Clinical Oncology. 4ed. St Louis: *Saunders Elsivier* 540-582;
- Dernell WS. 2003. Tumours of the skeletal system in: BSAVA Manual of Canine e Feline oncology, Edited by Jane M Dobson and B Duncan Lascelles, 2nd edition;
- Dickinson RM. 2008. Canine lymphosarcoma: Overcoming diagnostic obstacles and introduction to the latest diagnostic techniques Oncology Corner. *CVJ* Vol 49;
- Dobson J. 2004. Classification of canine lymphoma: a step forward Cambridge. *Guest editorial / The Veterinary Journal* 167; 125–126;
- Edwards DS, Henley WE, Harding EF, Dobson JM, Wood JL. 2003. Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs, *Vet Comp Oncol* 1:200-206;
- Ehrhart N, Dernell WS, Hoffmann WE. 1998. Prognostic importance of alkaline phosphatase activity in serum from dogs with appendicular osteosarcoma: 75 cases (1990–1996). *J Am Vet Med Assoc* 213:1002–1006;

- Endicott M. 2003. Principles of treatment for osteossarcoma. *Clinical Techniques in Small animal Pratice* 18, nº2; pp110-114;
- Ettinger SN. 2003. Principles of treatment for canine Lymphoma. *Clinical techniques in small Animal Pratice; Elsevier Inc* Vol 18, Nº2; pp 92-97;
- Ewer MS and Lenihan DJ. 2008. Left Ventricular Ejection Fraction and Cardiotoxicity: Is Our Ear Really to the Ground? *Journal of clinical Oncology,* Editorial, vol.26, nº 8;
- Fischer PM, Glover DM, Lane DP. 2004. Targeting the cell cycle; Drug Discovery Today: *Therapeutic Strategies* Vol. 1, No. 4;
- Fox L. 2008. Antineoplastic drugs In: Handbook of Veterinary Pharmacology. Walter H. Su. *Wiley-Blackwell;*
- Frank JD, Reimer SB, Kass PH, Kiupel M. 2007. Clinical outcomes of 30 cases (1997–2004) of canine gastrintestinal lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 43: 313–321;
- Frimberger AE, Moore AS, Rassnick KM, Cotter SM, O'Sullivan JL, Quesenberry PJ. 2006. A combination chemotherapy protocol with dose intensification and autologous bone marrow transplant (VELCAP-HDC) for canine lymphoma. University School of Veterinary Medicine, North Grafton, USA. *J Vet Intern Med* 20(2):355-64;
- Frimberger AE. 2005. Principles of chemotherapy in Textbook of Internal Medicine, volume 2. Ed Saunders, 6th edition, Ettinger SJ, Feldman; 708-719;
- Garret LD, Thamm DH, Chun R. 2002. Evaluation of a 6 month chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* 16:704–709;
- Garzotto CK, Berg J, Hoffmann WE. 2000. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase activity in canine appendicular osteosarcoma. *J Vet Intern Med* 14:587–592;
- Gavazza A, Lubas G, Valori E, Gugliucci B. 2008. Retrospective survey of malignant lymphoma cases in the dog: clinical, therapeutical and prognostic features. *Vet Res Commun 32* (Suppl 1):S291–S293;
- Gavazza A, Presciuttini S, Barale R, Lubas G, Gugliucci B. 2001. Association between canine malignant lymphoma, living in industrial areas, and use of chemicals by dog owners; Dipartimento di Clinica Veterinaria, University of Pisa, Italy. *J Vet Intern Med* 15(3):190-5;
- Gellash KL, Kalscheur VL, Clayton MK. 2002. Fatigue microdamage in the radial predilection site for osteossarcoma in dogs. *Am J Vet Res* 63 (6):896-899;
- Golden DL, Langston VC. 1988. Uses of vincristine and vinblastine in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 193:1114–1117;

- Goloni-Bertollo EM, Tajara EH, Manzato AJ. 1992. Sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in lymphocytes of nurses handling antineoplastic drugs. *Int J Cancer* 50:341-344;
- Gottesman M. 2002. Mechanisms of cancer drug resistence. *Annu. Rev. Med.* 53:615–27;
- Hahn KA, McEntee MF, Daniel GB, Legendre AM, Nolan ML.1997. Hematologic and systemic toxicoses associated with carboplatin administration in cats. *Am J Vet Res* 58:677-679;
- Hosoya K, Kisseberth WC, Lord LK, Alvarez FJ, Garcia AL, Kosarek CE, London CA et Couto CG. 2007. Comparison of COAP and UW-19 Protocols for Dogs with Multicentric Lymphoma. *J Vet Intern Med* 21:1355–1363;
- Huang RS and Ratain MJ. 2009. Pharmacogenetics and Pharmacogenomics of Anticancer Agents. *CA Cancer J Clin* 59; 42-55;
- Huitema AD, Smits KD, Mathôt RAA, Ron AA, Schellens JHM, Rodenhuis S, Beijnen JH. 2000. The clinical pharmacology of alkylating agents in high-dose chemotherapy; Review paper. *Anti-Cancer Drugs* 11, pp. 515±533;
- Imondi AR, Della Torre P, Mazué G, Sullivan TM, Robbins TL, Hagerman LM, Podestà A, Pinciroli G. 1996. Dose-response relationship of dexrazoxane for prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice, rats and dogs. *Cancer Res* 56: 4200-4204;
- Johnson AL, Hulse DA. 2005. Bone neoplasms. In: Fossum TW. Small Animal surgery. 2nd ed; p.1165-1176;
- Keller ET, MacEwen EG, Rosenthal RC. 1993. Evaluation of prognostic factors and sequential combination chemotherapy with doxorubicin for canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 7:289-295;
- Keller RL, Avery AC, Burnett RC, Walton JA, Olver CS. 2004. Detection of neoplastic lymphocytes in peripheral blood of dogs with lymphoma by polymerase chain reaction for antigen receptor gene rearrangement. *Vet Clin Path* 33:145–149;
- Kent MS, Strom A, London CA *et* Seguin B. 2004. Alternating Carboplatin and Doxorubicin as Adjunctive Chemotherapy to Amputation or Limb-Sparing Surgery in the Treatment of Appendicular Osteosarcoma in Dogs. *J Vet Intern Med* 18:540–544;
- Kisseberth WC, Vail DM, Yaissle J, Jeglum KA, Couto CG, Ward H, Khanna C, Obradovich JE. 2008. Phase I clinical evaluation of carboplatin in tumor-bearing cats: a Veterinary Cooperative Oncology Group study. *J Vet Intern Med* 22(1):83-8;

- Lana, SE. 2003. Chemotherapy in: BSAVA Manual of canine and feline oncology, 2nd edition; 86-103;
- Legendre AM. 2007. Treatment of Dogs with Lymphoma: A Work in Progress; University of Tennessee, Editorial. *J Vet Intern Med* 21:1166–1167;
- Lowe AD. 2004. Alimentary lymphossarcoma in a 4-year-old Labrador retriever. *Can Vet J* 45, *610–612*;
- MacDonald VS, Thamm DH, Kurzman ID, Turek MM. and Vail DM. 2005. Does L-Asparaginase Influence Efficacy or Toxicity When Added to a Standard CHOP Protocol for Dogs with Lymphoma? *J Vet Intern Med* 19:732–736;
- Mackin AJ, Allen DG, Johnstone .B. 1995. Effects of vincristine and prednisone on platelet numbers and function in clinically normal dogs. *American Journal of Veterinary Research* 56, 100–108.
- Madewell BR, Feldman BF.1980. Characterization of anemias associated with neoplasia in small animals. *J Am Vet Med Assoc* 176:419–425;
- Madewell BR. 1986. Hematologic and bone marrow cytological abnormalities in 75 dogs with malignant lymphoma. *J An Anita Hosp Assoc* 22:235-240;
- McKnight JA. 2003. Principles of Chemotherapy. *Clinical techniques in small Animal Pratice. Elsevier Inc* 18; Nº2; pp 67-72;
- Miller SC, Lloyd RD, Bruenger FW. 2003. Comparisons of the skeletal locations of putative plutonium-induced osteossarcomas in humans with those in beagle dogs and with naturally occurring tumors in both species. *Radiat Res* 160 (5): 517-523;
- Mischke R, Eberle N. 2009. Influence of a cyclic combination chemotherapeutic protocol on primary haemostasis in dogs suffering from malignant lymphoma. *The Vet Journal,* Hanover School of Veterinary Medicine, Germany;
- Moore AS, Cotter SM, Rand WM, Wood CA, Williams LE, London CA, Frimberger AE, L'Heureux DA. 2001. Evaluation of discontinuous treatment protocol (VELCAP-S) for canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 15:348-354;
- Moore PF, Olivry T and Naydant D. 1994. Animal Model, Canine Cutaneous Epitheliotropic Lymphoma (Mycosis Fungoides) Is a Proliferative Disorder of CD8+ T Cells; Amenican Society for Investigative Pathology. *American Journal of Pathology* 144, No. 2;

- Moore PF, Olivry T, Naydan D. 1994. Canine cutaneous epitheliotropic lymphoma (mycosis fungoides) is a proliferative disorder of CD8+ T cells. *Am J Pathol* 144:421-429;
- Mutsaers AJ, Glickman NW, DeNicola DB, Widmer W R, Bonney PL, Hahn KA, Knapp DW. 2002. Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 220, No. 12, June 15;
- Nelson RW, Couto CG. 2003; Chemotherapy complications of cancer. *Small Animal Internal Medicine*. Ed Mosby, 3rd edition; 1073-1080;
- Northrup NC, Rassnick KM, Snyder LA. 2002. Neutropenia associated with vincristine and L-asparaginase induction chemotherapy for canine lymphoma. *J Vet Intern Med* 16:570–575.
- Ogilvie G.1998. Chemotherapy and the surgery Patient: Principles and recent advances. *Clinical techniques in small Animal Pratice, Saunders Company* 13, nº1; pp22-32;
- Page RL, Thrall DE, Dewhirst MW, Macy DW, George SL, McEntee MC, Heidner GL, Novotney CA, Allen SA, Withrow SJ. 1991. Phase I study of melphalan and whole body hyperthermia in dogs with malignant melanoma. *Int J Hyperthermia* 7(4):559-66;
- Pluen A, Boucher Y, Ramanujan S. 2001. Role of tumor-host interactions in interstitial diffusion of macromolecules. *Annu Rev Med* 53:615-627;
- Polovich M. 2004. Safe handling of hazardous drugs. Southern Regional Health System in the South suburban Atlanta area, USA;
- Ponce F, Magnol JP, Ledieu D, Marchal T, Turinelli V, Chalvet-Monfray K, Fournel-Fleury C. 2003. Prognostic significance of morphological subtypes in canine malignant lymphomas during chemotherapy. *The Vet Journal* 167:158-166;
- Raschi E, Vasina V, Ursino MG, Boriani G, Martoni A, De Ponti F. 2010. Anticancer drugs and cardiotoxicity: Insights and perspectives in the era of targeted therapy. *Pharmacology & Therapeutics,* 125:196–218;
- Rassnick KM, McEntee MC, Erb HN, Burke BP, Balkman CE, Flory AB, Kiselow MA, Autio K, Gieger TL. 2007. Comparison of protocols for treatment afect induction of remission in dogs with lymphoma. *J vet Intern Med* 21:1364-1373;
- Richardson G *et* Dobish R. 2007. Chemotherapy induced diarrhea. *J Oncol Pharm Practice* 13: 181–198;
- Rutley M, MacDonald V. 2007. Managing the canine lymphosarcoma patient in general practice. *Radiation Oncology; CVJ;*

- Saba CF, Hafeman SD, Vail DM and Thamm DH. 2009. Combination Chemotherapy with Continuous L-Asparaginase, Lomustine, and Prednisone for Relapsed Canine Lymphoma. *Vet Intern Med* 23:1058–1063;
- Sedlacek HS, Ramsey DS, Boucher JF, Eagleson JS, Conder GA, Clemence RG. 2008. Comparative efficacy of maropitant and selected drugs in preventing emesis induced by centrally or peripherally acting emetogens in dogs. *J Vet Pharmacol Therap* 31, 533–537;
- Simon D, Moreno SN, Hirschberger J. 2008. Efficacy of a continuous, multiagent chemotherapeutic protocol versus a short-term single-agent protocol in dogs with lymphoma. *J Am Ver Med Ass* 232:879-885;
- Simon D, Nolte I, Eberle N. 2006. Treatment of dogs with lymphoma using a 12-week, maintenance-free combination chemotherapy protocol. *J Vet Intern Med* 20:948–954.
- Spodnick GJ, Berg J, Rand WM, Schelling SH, Couto G, Harvey HJ, Henderson RA, MacEwen G, Mauldin N, McCaw DL. 1992. Prognosis for dogs with appendicular osteosarcoma treated by amputation alone: 162 cases (1978–1988). *J Am Vet Med Assoc* 200:995–999;
- Stenberg P, Macdonald TP, Jackson CW. 1995. Disruption of microtubules in vivo by vincristine induces large membrane complexes and other cytoplasmatic abnormalities in megakaryocytes and platelets of normal rats like those in human and Wistar Furth rat hereditary macrothrombocytopenias. *Journal of Cellular Physiology* 162: 86–102.
- Stevenson S, Holm RB, Pohler OE. 1982. Fracture-associated sarcoma in the dog. *J Am Vet Med Assoc* 180:1189;
- Straw RC, Withrow SJ, Richter SL. 1991. Amputation and cisplatin for treatment of canine osteosarcoma. *J Vet Intern Med* 5:205–210;
- Straw RC. 1996. Tumors of the skeletal system. In: Withrow SJ, MacEwen EG: Small animal clinical oncology. 2.ed. Philadelphia: *WB Saunders;* p.287-315;
- Vail DM, MacEwan EG, Young KM. 2001.Canine lymphoma and lymphoid leukemias. In: withrow S.J. Small Animal Clinical Oncology; 3rd Edition, Philadelphia: *Saunders*;
- Vail DM, Rodabaugh HS, Conder GA, Boucher JF and Mathur S. 2007. Efficacy of injectable maropitant (Cerenia TM) in a randomized clinical trial for prevention and treatment of cisplatininduced emesis in dogs presented as veterinary patients; Pfizer, Inc. *Journal compilation Blackwell Publishing Ltd;*
- Vail DM. 2003. Lymphoproliferative and myeloprolierative disorders; in: BSAVA Manual of canine and feline Oncology; 2nd edition;

- Vail, DM. 2009; Supporting the Veterinary Cancer Patient on Chemotherapy: Neutropenia and Gastrintestinal Toxicity. *Saunders Elsevier;*
- Valerius KD, Ogilvie GK, Mallinckrodt CH, Getzy DM. 1997. Doxorubicin alone or in combination with asparginase, fllowed by ciclofosfamide, vincristine, and prednisone for treatment of multicentric lymphoma in dogs: 121 cases (1987.1995). *J Am Vet Med Ass*;
- Veterinary Co-operative Oncology Group. Veterinary cooperative oncology group common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.0. 2004. *Vet Compar Oncol* 2:194–213;
- Weir EC, Norrdin RW, Matus RE, Brooks MB, Broadus AE, Mitnick M, Johnston SD, Insogna KL. 1988. Humoral hypercalcemia of malignancy in canine lymphosarcoma. *Endocrinology* 122: 602–608;
- Withrow SJ *et* Khanna C. 2010. Bridging the gap between experimental animals and humans in osteossarcoma. *Cancer treatment and research* Vol:152, 439-446;
- Withrow SJ, Vail DM. Withrow and MacEwen's. 2007. Canine lymphoma and lymphoid leukemias. In: Small Animal Clinical Oncoloy (4ed); Missouri: *Saunders Elsivier;*
- World Health Organization. 1980. TNM Classification of tumours in Domestic Animals, Geneva. WHO Pr.

ANEXOS

ANEXO I

Protocolos mais utilizados no tratamento do linfoma (citado por Chun, 2009).

Protocolo	Dose	Observações
Prednisolona	2mg/kg/d x14d depois 1,5mg/kg/d x 14d depois 1mg/kg/14d depois 1mg/kg indefinidamente	Controlo por 1-2 meses
Doxorrubicina	30mg/m^2IV cada 21 d x 5 tratamentos; cães com < 15kg dose:1mg/kg	Controlo da doença ~7meses; Sobrevivência média de 9 meses;
COP (indução) **Vincristina** **Ciclofosfamida** **prednisolona**	6 Ciclos semanalmente: Dia 1:0,7mg/m^2 IV Dias 4-7:50mg/m^2 PO Dias 1-7:20mg/m^2 PO BID	Duração média da resposta~3 meses
COP (manutenção) **Metotretrexato** **Ciclofosfamida** **Prednisolona**	Repetir semanalmente até recaída Dia 1 e 5: 5mg/m^2 PO Dia 3:100mg/m^2 PO Dia 1,3,5,7:20 mg/m^2 PO	

ANEXO II

Aspectos comparativos do osteossarcoma no cão e no Homem (adaptado de Dernell *et al*., 2007 e de Withrow e Khanna, 2010).

Variável	**Cão**	**Homem**
Predisposição de idade	7 anos	14 anos
Predisposição racial	Raças puras ou gigantes	Nenhuma
Peso corporal	90% >20 kg	Pesados
Localização	77% metáfises ossos longos Radio distal> úmero proximal> Fémur distal> tíbia	90 % metáfises ossos longos Fémur distal> tíbia proximal>úmero proximal
Etiologia	Geralmente desconhecida	Geralmente desconhecida
Percentagem clinicamente confinada ao membro no momento da apresentação	80-90%	80-90%
Prcentagem alto Grau histológico	95%	85-90%
Índice ADN	75% aneuplóide	75% aneuplóide
Indicadores de prognóstico	Idade jovem, fosfatase alcalina	Fosfatase alcalina, MDR 1*
Taxa metastática sem quimioterapia	90% antes de 1º ano	80% antes dos 2 anos
Localizações das metátases	Pulmão>osso>tecido mole	Pulmão>osso>tecido mole
Aumento de sobrevivência com quimioterapia	Sim	Sim
Metástases nos linfonódulos regionais	Prognóstico reservado, <5%	Prognóstico reservado

* Gene de resistência a múltiplos fármacos

ANEXO III

Conversão de peso (kg) para Área superficie corporal (m^2) (Cão) (adaptado de Withrow e MacEWen's, 2007).

Kg	m²	kg	m²	Kg	m²	kg	m²
0.5	0.064	**13.0**	0.553	**26.0**	0.886	**39.0**	1.162
1.0	0.101	**14.0**	0.581	**27.0**	0.909	**40.0**	1.181
2.0	0.160	**15.0**	0.608	**28.0**	0.931	**41.0**	1.201
3.0	0.210	**16.0**	0.641	**29.0**	0.953	**42.0**	1.220
4.0	0.255	**17.0**	0.668	**30.0**	0.975	**43.0**	1.240
5.0	0.295	**18.0**	0.694	**31.0**	0.997	**44.0**	1.259
6.0	0.333	**19.0**	0.719	**32.0**	1.018	**45.0**	1.278
7.0	0.370	**20.0**	0.744	**33.0**	1.029	**46.0**	1.297
8.0	0.404	**21.0**	0.769	**34.0**	1.060	**47.0**	1.302
9.0	0.437	**22.0**	0.785	**35.0**	1.081	**48.0**	1.334
10.0	0.469	**23.0**	0.817	**36.0**	1.101	**49.0**	1.352
11.0	0.500	**24.0**	0.840	**37.0**	1.121	**50.0**	1.371
12.0	0.529	**25.0**	0.864	**38.0**	1.142		

ANEXO IV

Método de diagnóstico utilizado nos casos dos animais com linfoma

Nº	Idade/Sexo/Raça	Método de diagnóstico	Diagnóstico	Estadio/ Subestadio
1	7,♀*, SRD	Citologia+Histologia (imuno-histoquímica)	Linfoma cutâneo não epiteliotrópico (Linfócitos B)	V a
2	13,♀*, Pastor Alemão	Citologia	Linfoma intestinal	V b
3	1,♀, Boxer	Citologia+Histologia (imuno-histoquímica)	Linfoma cutâneo (Linfócitos T)	III b
4	13, ♂, SRD	Citologia	Linfoma multicêntrico	IV b
5	5,♀, Retrievier de Labrador	Citologia	Linfoma multicêntrico	IV a
6	1,♀*, Pinsher	Citologia+ Histotogia	Linfoma multicêntrico	I a
7	4, ♂, Fox Terrier	Citologia	Linfoma multicêntrico	III a
8	4,♀, Cocker	Citologia+ Histopatologia (imuno-histoquímica)	Multicêntrico (linfócitos B)	IV a
9	5, ♂, SRD	Citologia+ Histopatologia	Linfoma multicêntrico	IV a

ANEXO V

Método de diagnóstico utilizado nos casos dos animais com osteossarcoma.

Nº	Idade/Sexo/Raça	Método de diagnóstico	Diagnóstico
1	9,♀*, Poodle	Histopatologia	Osteossarcoma osteoblástico produtivo
2	8,♂, Boxer	Histopatologia	Osteossarcoma produtivo Grau II
3	11,♀, São Benardo	Histopatologia	Osteossarcoma condroblástico

ANEXO VI

Valores de Referência do hemograma (cão)

RBC	**5,5-8.5M/ µL**
HTC	37-55%
HGB	12-18g/dl
VCM	60-77 fL
CMH	18,5-30pg
CMHC	30-37,5g/dl
WBC	5,50 - 16,90 x10^3 células/µL
NEU	2,0 - 12,0 x10^3 células/µL
LIN	0,5 - 4,90 x10^3 células/µL
MON	0,3 - 2,0 x10^3 células/µL
EOS	0,1 - 1,49 x10^3 células/µL
BAS	0,0 - 0,10 x10^3 células/µL
PLQ	175-500 K/µL

ANEXO VII

Características individuais dos animais com linfoma e osteossarcoma, respectivamente.

Caso nº	Idade (A)	Sexo	Peso(Kg)	Raça
1	7	♀	4,45	SRD
2	13	♀	30	Pastor Alemão
3	1	♀	25	Boxer
4	13	♂	19,5	SRD
5	5	♀	37	Retrievier de Labrador
6	1	♀	3,7	Pinsher
7	4	♂	8,35	Fox Terrier
8	4	♀	13,6	Cocker
9	5	♂	10,5	SRD

Caso nº	Idade (A)	Sexo	Peso(Kg)	Raça
1	9	♀	11,5	Caniche
2	8	♂	30	Boxer
3	11	♀	52,5	São Benardo