

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



IMUNOSSUPRESSÃO E TOXICIDADE RENAL COMO EFEITOS ADVERSOS DE  
QUIMIOTERAPIA METRONÓMICA NO TRATAMENTO DE NEOPLASIAS EM PEQUENOS  
ANIMAIS

INÊS MENDES CARDOSO

ORIENTADOR(A):

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São  
Braz

TUTOR(A):

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2023

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



IMUNOSSUPRESSÃO E TOXICIDADE RENAL COMO EFEITOS ADVERSOS DE  
QUIMIOTERAPIA METRONÓMICA NO TRATAMENTO DE NEOPLASIAS EM PEQUENOS  
ANIMAIS

INÊS MENDES CARDOSO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Anabela de Sousa Santos Silva  
Moreira

VOGAIS:

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São  
Braz  
Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix  
Lourenço

ORIENTADOR(A):

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São  
Braz

TUTOR(A):

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2023

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Inês Mendes Cardoso

Título da Tese ou Dissertação: Imunossupressão e toxicidade renal como efeitos adversos de quimioterapia metronómica no tratamento de neoplasias em pequenos animais

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2023

Designação do curso de  
Mestrado ou de  
Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica  Produção Animal e Segurança Alimentar  
 Morfologia e Função  Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 5 de Janeiro de 2023

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: Inês Cardoso

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar tenho de agradecer aos meus pais. Pela educação, valores e aprendizagens que me passaram, por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos, por estarem lá em todos os momentos e me apoiarem incondicionalmente. À minha irmã pela disponibilidade incondicional para me ouvir, por se aventurar comigo em algumas das minhas ideias “peregrinas”, mas também por me chamar à razão quando necessário. À minha restante família pela paciência e compreensão nestes longos seis anos.

À minha orientadora, professora Berta São Braz, por ter ingressado na aventura de me aceitar como sua orientanda, mesmo já tendo uma lista interminável. Pelo apoio e incentivo quando já estava prestes a desmotivar e por toda a ajuda neste longo processo que foi a tese.

Ao Dr. Gonçalo Vicente pela partilha de conhecimento e experiência, pelo divertimento e alegria constante. Pela sua disponibilidade, ajuda, paciência, calma e mostrar que tudo tem solução, mesmo tendo todo um hospital e detentores à sua porta.

A toda a equipa do Hospital HEV, que me acolheu, me permitiu adquirir mais conhecimento e prática e me fez crescer mais um pouco. Em especial à Dra. Ana Coelho pela amizade e por me inspirar a querer ser melhor e a seguir os meus sonhos.

A todos os meus colegas e amigos estagiários, que tornaram esta etapa mais leve e divertida, em especial à Mafalda Cardoso, pela amizade e por ser a companheira de oncologia.

Ao Miguel, à Beatriz e à Ana por todos os momentos engraçados e embaraçosos que vivemos. Obrigada por não me deixarem para trás mesmo tendo estado meia desaparecida.

Ao meu padrinho Miguel Carvalho, por ter aceite este cargo, sem preparação prévia, e me ter acompanhado nesta aventura, partilhando todos os conselhos e ensinamentos que tinha.

Às melhores pessoas que a FMV me deu, Ana, Carlota, Inês, Mariana e Sandra. À Ana pelo companheirismo e risos no 723, ponderação e preocupação com os outros. À Carlota pelas viagens de última hora e partilha de pensamentos. À Inês pelas suas ideias e histórias mirabolantes, mas também pelos conselhos sinceros. À Mariana pela sua maneira especial de narrar histórias e procura de conhecimento. À Sandra por me fazer correr atrás de autocarros e mostrar que podemos fazer tudo. Obrigada a todas pela amizade incondicional e por celebrarmos as vitórias de cada uma como se fossem nossas.

A ti avó, por todas as histórias, ensinamentos e incentivo. Já não estás cá, mas sei que estarias muito orgulhosa.

## **Imunossupressão e toxicidade renal como efeitos adversos de quimioterapia metronómica no tratamento de neoplasias em pequenos animais**

### **Resumo**

A imunossupressão e a toxicidade renal são possíveis efeitos adversos em quimioterapia metronómica. Embora, em medicina veterinária, a imunossupressão não seja um efeito adverso muito documentado, em medicina humana foram publicados vários estudos que comprovam a sua. Em relação à toxicidade renal, esta poderá ocorrer pelo facto de o protocolo de quimioterapia metronómica poder incluir a administração, a longo prazo, de um anti-inflamatório não esteroide. Assim, este estudo teve como objetivos perceber, num grupo de animais submetidos a quimioterapia metronómica, se estes tipos de efeitos secundários ocorrem e qual a frequência de ocorrência. Outro objetivo foi perceber se a linfopenia demonstrada pelos animais estaria relacionada com o protocolo terapêutico instituído.

Por ser um estudo retrospectivo, os animais incluídos no estudo, dependendo das análises clínicas realizadas, foram incluídos num ou em ambos os grupos de estudo: grupo de estudo de imunossupressão e grupo de estudo de toxicidade renal. Nos animais incluídos no grupo de estudo da imunossupressão, apesar de não ter sido observada a ocorrência de neutropenia, ocorreu leucopenia em 12,5% dos animais e linfopenia em 56,25%. As leucopenias foram todas documentadas na espécie felina, no entanto, as linfopenias foram divididas pelas duas espécies aqui estudadas. Em relação à toxicidade renal, nos animais incluídos neste grupo, observou-se que os valores de creatinina se encontravam acima do limite superior do intervalo de referência, com um aumento de 4%.

Por último, apesar de não ter sido possível relacionar estatisticamente o protocolo de quimioterapia metronómica utilizado com a ocorrência de linfopenias nos animais, colocou-se a hipótese de a ocorrência de linfopenia estar de algum modo relacionada com o facto de o animal apresentar doença renal crónica concomitante.

Estes resultados sugerem que a quimioterapia metronómica pode apresentar algum grau de imunossupressão, demonstrado pelas alterações leucocitárias, e toxicidade renal como efeitos adversos. Permitem ainda abrir espaço para a realização de novos estudos relacionados com a imunossupressão como efeito adverso e com a possível relação deste efeito secundário com a doença renal e o protocolo de quimioterapia metronómica instaurado.

**Palavras-chave:** quimioterapia metronómica, ciclofosfamida, imunossupressão, toxicidade renal, AINEs

## **Immunosuppression and renal toxicity as adverse events of metronomic chemotherapy in the treatment of neoplasia in small animals**

### **Abstract**

Immunosuppression and renal toxicity are possible adverse effects of metronomic chemotherapy. While immunosuppression is not a well-documented adverse effect in veterinary medicine, in human medicine several studies have been published that prove its occurrence. Regarding renal toxicity, this may occur because metronomic chemotherapy protocol may include a long-term administration of a non-steroidal anti-inflammatory drug. Thus, the aim of this study was to understand, in an animal group submitted to metronomic chemotherapy, if these side effects occur and their frequency. Another aim was to understand if lymphopenia exhibited by the animals was related to the established therapeutic protocol.

Because it is a retrospective study, the animals included in the study, depending on the clinical analysis performed, were included in one or both study groups: immunosuppression study group and renal toxicity group. The animals included in the immunosuppression study group, although any neutropenia was observed, leukopenia occurred in 12,5% animals and lymphopenia in 56,25% animals. All leukopenia were documented in the feline species however lymphopenias were divided between the two study species. Relative to the renal toxicity, the animals included in this study group, was observed that creatinine values were above the upper limit of interval reference, with an increase of 4%.

At last, even though it was not possible to statistically relate the used metronomic chemotherapy protocol with the occurred lymphopenias, the hypothesis was raised that the occurrence of lymphopenia to be somehow related with the fact of the animal has concomitant chronic kidney disease.

These results indicate that metronomic chemotherapy may have some degree of immunosuppression, demonstrated by leukocyte changes, and renal toxicity as an adverse event. They also allow for space for new studies about immunosuppression as adverse effect and the possible relationship between immunosuppression, chronic kidney disease and the established metronomic chemotherapy protocol.

**Keywords:** metronomic chemotherapy, cyclophosphamide, immunosuppression, renal toxicity, NSAIDs

## Índice

Agradecimentos.....	iii
Resumo .....	v
Abstract.....	vi
Lista de Figuras .....	ix
Lista de Tabelas.....	x
Lista de Gráficos .....	xi
Lista de Abreviaturas .....	xii
<b>I. Descrição das Atividades Desenvolvidas Durante o Estágio .....</b>	<b>1</b>
<b>II. Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>4</b>
1. Generalidades .....	4
2. Diagnóstico .....	5
3. Estadiamento.....	6
4. Tratamento .....	7
4.1. Cirurgia.....	7
4.2. Radioterapia.....	7
4.3. Imunoterapia.....	8
4.4. Inibidores de Tirosina Quinase.....	8
4.5. Quimioterapia de alta dose .....	9
4.6. Quimioterapia Metronómica .....	9
4.6.1. Compostos Quimioterápicos .....	12
4.6.2. Vantagens e Desvantagens .....	12
4.6.3. Associação com Outros Fármacos .....	13
4.6.3.1. Anti-inflamatórios Não Esteroides .....	13
5. Hematologia .....	14
6. Toxicidade Renal .....	16
<b>III. Imunossupressão e Toxicidade Renal em Animais Submetidos a Quimioterapia Metronómica.....</b>	<b>18</b>
1. Objetivos.....	18
2. Materiais e Métodos.....	18
2.1. Animais .....	18
2.2. Protocolo de Tratamento.....	19
2.3. Parâmetros a Avaliar .....	19
2.4. Análise Estatística.....	20
3. Resultados .....	20
3.1. Caracterização da Amostra.....	20

3.1.1. Imunossupressão.....	20
3.1.2. Toxicidade Renal .....	22
3.2. Distribuição de Frequências de Imunossupressão e Toxicidade Renal .....	24
3.2.1. Imunossupressão.....	24
3.2.2. Toxicidade Renal .....	25
3.3. Associação entre Ocorrência de Linfopenia e o Protocolo Terapêutico Realizado .....	25
4. Discussão .....	26
5. Conclusão.....	33
Bibliografia.....	34
Anexos .....	43

## **Lista de Figuras**

<b>Figura 1. Mecanismos de ação da quimioterapia metronómica.....</b>	<b>11</b>
<b>Figura 2. Vias de síntese de prostaglandina E2 e seu papel no desenvolvimento de tumores.....</b>	<b>14</b>

## **Lista de Tabelas**

<b>Tabela 1. Vantagens e desvantagens da análise citológica e da análise histopatológica. ....</b>	<b>5</b>
<b>Tabela 2. Valores de referência do Hospital Escolar Veterinário .....</b>	<b>20</b>
<b>Tabela 3. Frequências absoluta e relativa das citopenias.....</b>	<b>24</b>
<b>Tabela 4. Frequências absoluta e relativa de toxicidade renal .....</b>	<b>25</b>
<b>Tabela 5. Significância estatística da associação entre a ocorrência de linfopenia e o protocolo terapêutico .....</b>	<b>25</b>

## **Lista de Gráficos**

<b>Gráfico 1. Frequência absoluta da distribuição do tipo de tumores por espécie no grupo de estudo de imunossupressão.....</b>	<b>21</b>
<b>Gráfico 2. Frequência dos diferentes protocolos de quimioterapia aplicados.....</b>	<b>22</b>
<b>Gráfico 3. Frequência absoluta da distribuição tipo de tumores por espécie no grupo de estudo de toxicidade renal.....</b>	<b>23</b>
<b>Gráfico 4. Frequências relativas da distribuição dos animais por diferentes anti-inflamatórios não esteroides no estudo de toxicidade renal .....</b>	<b>24</b>

## **Lista de Abreviaturas**

AINEs – anti-inflamatórios não esteroides

TC – tomografia computadorizada

Treg – linfócitos T reguladores

COX-2 – cicloxigenase-2

COX-1 – cicloxigenase-1

SDMA – dimetilarginina simétrica

$H_0$  – hipótese nula

$H_A$  – hipótese alternativa

## I. Descrição das Atividades Desenvolvidas Durante o Estágio

O estágio curricular decorreu no período de 4 de setembro a 25 de março, num total de 1036 horas, no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV ULisboa). Neste, a estudante integrou a equipa médica dos vários serviços, de forma rotativa, desempenhando diferentes funções na área de clínica de animais de companhia. Durante os turnos de 8 horas, acompanhou animais de diversas espécies, entre as quais a espécie canina, felina, lagomorfos e répteis.

No serviço de cirurgia, a estudante foi responsável por receber os animais na sala de espera, conferindo com os detentores dos mesmos as informações constadas na ficha de *checklist* pré-cirúrgica e se os animais cumpriam os requisitos para a realização do procedimento de forma segura. Foi ainda permitido à estudante realizar diversas tarefas no pré-cirúrgico, entre as quais preparação e administração de pré-medicações, colocação de cateteres e tubos endotraqueais e preparação do campo cirúrgico, e no pós cirúrgico, transferência de animais para o internamento, remoção do tubo endotraqueal e de cateteres e ainda entrega de animais aos respetivos detentores após os procedimentos. Quanto a procedimentos cirúrgicos, a estudante teve oportunidade de ver e realizar: procedimentos de avaliação e tratamento integrado da cavidade oral – realização de radiografias intraorais, extrações dentárias, destartarizações e polimentos; cirurgias de tecidos moles – ovariectomias, orquiectomias, cesarianas, remoção de corpos estranhos, remoção de neoplasias, cistotomias, entre outras; cirurgias ortopédicas – resolução de luxação de patela, hérnias discais, resolução de fraturas ósseas. Quando não lhe foi possível participar em procedimentos cirúrgicos, a estudante realizou monitorizações anestésicas.

No serviço de imagiologia – radiologia e tomografia computadorizada –, a estudante teve oportunidade de posicionar corretamente o animal, de induzir e monitorizar anestésias para a realização de exames, administrar o contraste, por via endovenosa, necessário à realização de tomografias computadorizadas e avaliação e elaboração de relatórios dos exames em conjunto com o médico veterinário responsável. Neste serviço, foi ainda possível participar na realização de uma mielografia.

Ainda no âmbito da imagiologia, mas agora no serviço de ecografia a estudante teve a oportunidade de assistir a diferentes exames ecográficos, tanto a nível abdominal como a nível cardíaco, de diagnóstico, estadiamento clínico e de controlo. Durante estes exames foi ainda possível auxiliar em variados procedimentos como lavagem de bypass ureteral subcutâneo (SUB), cistocenteses, punções com agulha fina e drenagem de derrames. Nesta rotação, a estudante teve ainda a oportunidade de realizar exames ecográficos e cistocenteses.

No serviço de oncologia foram acompanhadas de primeira vez, de seguimento, de segunda opinião e de referência. Em algumas destas consultas a estudante foi responsável

pela recolha da anamnese e por realizar o exame de estado geral dos animais. Neste serviço, a estudante teve ainda a possibilidade assistir à elaboração de planos de diagnóstico, estadiamento e tratamento, de proceder a recolhas de sangue e de participar nos protocolos de quimioterapia, ao preparar e administrar os fármacos antineoplásicos.

No serviço de oftalmologia, a estudante acompanhou consultas de seguimento e de referência, onde foi possível efetuar o exame oftalmológico detalhado e participar na elaboração dos relatórios médicos. Nesta rotação, a estudante teve ainda a oportunidade de assistir a algumas cirurgias da especialidade e a exames específicos da especialidade como eletrorretinografia.

No serviço de medicina interna, a estudante pôde assistir, tal como em rotações anteriores, a consultas de primeira e segunda opinião e de seguimento e recolher o historial clínico dos animais, auxiliar na elaboração de relatórios médicos e de recolha de sangue e urina. Neste departamento foi ainda possível participar em procedimentos como rinoscopias, gastroscopias e colonoscopias.

No serviço de medicina geral a estudante foi responsável por, fazer a recolha da história clínica, executar o exame de estado geral, proceder à recolha de sangue e de urina por cistocentese ecoguiada, realizar medições da pressão arterial, fazer punções aspirativas por agulha fina para citologia, administrar medicamentos e vacinas e fazer planos de vacinação e desparasitação, auxiliar na realização de drenagens de fluidos abdominal e torácicos e na colocação de *transponders* de identificação animal e conseqüente preenchimento de boletins sanitários e registos na plataforma SIAC. Neste serviço a estudante teve ainda a possibilidade de assistir e auxiliar em consultas de urgência por suposta ingestão de tóxicos, traumas e problemas respiratórios, prestando primeiros socorros, realizando exames complementares e posterior hospitalização do animal. Ainda nesta rotação, foi possível discutir, com o médico veterinário responsável, os casos clínicos de modo a elaborar a lista de diagnósticos diferenciais, perceber quais os exames complementares de diagnóstico mais adequados e decidir o plano de tratamento.

Durante o tempo de rotação na unidade de isolamento e contenção biológica (UICB) não estiveram animais internados, por isso, nesse tempo a estudante teve oportunidade de discutir, com a médica veterinária responsável, casos clínicos, planos de diagnóstico e de tratamento de doenças infecciosas

Na rotação de dermatologia, a estudante assistiu a consultas de primeira e de segunda opinião e também de referência. Nestas teve a responsabilidade de fazer a recolha da anamnese, proceder ao exame de estado geral dos animais e exames complementares de diagnóstico dermatológico, nomeadamente citologias auriculares e de pele, seguidas da sua observação e interpretação, bem como recolha de amostras para cultura microbiológica. Pôde também auxiliar na realização de biópsias de pele e na elaboração de relatórios

médicos. A estudante teve ainda oportunidade de discutir com o médico veterinário responsável os diagnósticos diferenciais e possíveis tratamentos.

No serviço de internamento, a estudante realizou ainda três turnos diurnos e oito turnos noturnos, ambos de 12 horas. Neste serviço, foi-lhe permitido assistir à passagem dos casos clínicos, fazer monitorização clínica e realizar exames de estado geral dos animais hospitalizados, preparar e administrar medicação, colocar sondas de alimentação nasogástricas, fazer *eco fast* (exame ecográfico rápido que auxilia na abordagem clínica), colheitas de sangue e elaborar relatórios para alta dos animais.

## **II. Revisão Bibliográfica**

### **1. Generalidades**

O cancro não é uma doença singular, nem simples, mas sim um amplo número de doenças cujos fatores comuns são o crescimento e a proliferação de células não controlados (Modiano and Kim 2020). Este pode surgir por mutações hereditárias, devido a erros de replicação no ADN e/ou por fatores ambientais, sendo as mutações por erros de replicação no ADN o principal fator. Em suma, o cancro é uma doença genética, contudo nem sempre hereditária. No entanto, é necessário mais do que uma mutação para que a doença se desenvolva (Tomasetti et al. 2017).

Os canídeos e felinos domésticos são dos mamíferos com maiores taxas de cancro (Albuquerque et al. 2018), estimando-se que 1 em cada 3-4 canídeo e 1 em cada 5 felino domésticos irá desenvolver um tumor no decorrer da sua vida (Pang and Argyle 2009). Para além da elevada incidência, esta doença é a maior causa de morbilidade e mortalidade em animais de companhia (Garden et al. 2018).

Nos vários estudos realizados ao longo dos anos, a pele e tecidos moles e a glândula mamária continuam a ser os principais locais de desenvolvimento de tumores na espécie canina (Dobson et al. 2002; Brønden et al. 2010; Grüntzig et al. 2015; Baioni et al. 2017), o que vai ao encontro ao registado em Portugal (Registo Oncológico Animal 2020). No estudo de Dobson et al. (2002), na Dinamarca, os histiocitomas cutâneos, seguidos pelos lipomas, adenomas, sarcomas de tecidos moles e mastocitomas são referidos como as neoplasias mais frequentes. Mais recentemente, Brønden et al. (2010), no Reino Unido, concluíram que os adenomas são os tumores mais comuns e só depois os lipomas, adenocarcinomas e mastocitomas. Em Portugal, as neoplasias mais comuns em cães são os mastocitomas, lipomas e o adenoma complexo mamário (Registo Oncológico Animal 2020).

Na espécie felina, tal como nos canídeos domésticos, a pele e tecidos moles, juntamente com a glândula mamária, são os locais mais prováveis ao desenvolvimento de neoplasias (Vascellari et al. 2009; Graf et al. 2015; Manuali et al. 2020). Em relação aos tipos de tumores apresentados por esta espécie, Graf et al. (2015) referem os tumores epiteliais, mesenquimatosos e linfoides como os mais comuns. Manuali et al. (2020) vão mais além afirmando que os principais tipos histológicos são os adenocarcinomas/carcinomas, linfomas, mastocitomas, sarcomas e carcinomas de células escamosas. Em Portugal, os mais frequentes são os carcinomas de células escamosas e os adenocarcinomas mamários tubular e túbulo-papilar (Registo Oncológico Animal 2020).

## 2. Diagnóstico

A partir do momento em que exista a possibilidade de estar presente um processo neoplásico, é importante determinar o tipo do tumor para saber quais os passos seguintes no manejo do animal. Assim, as amostras para diagnóstico podem ser obtidas por punção com agulha fina, com ou sem aspiração, para análise citológica, ou por biópsia para análise histopatológica (Biller et al. 2016).

As vantagens e desvantagens das duas análises encontram-se descritas na tabela 1.

**Tabela 1. Vantagens e desvantagens da análise citológica e da análise histopatológica** (Sharkey et al. 2007; Sharkey and Wellman 2011; Biller et al. 2016; Ku et al. 2017).

	<b>Análise citológica</b>	<b>Análise Histopatológica</b>
<b>Vantagens</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Minimamente invasiva</li><li>- Não necessita de anestesia geral</li><li>- Menor taxa de complicações</li><li>- Resultados rápidos</li><li>- Baixo custo</li><li>- Avaliação da morfologia das células individualmente</li><li>- Pode permitir a diferenciação entre processos neoplásicos, infecciosos e inflamatórios</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Poderá permitir obter um diagnóstico definitivo quando não obtido por citologia</li><li>- Conhecimento da estrutura dos tecidos</li><li>- Relação arquitetural</li><li>- Classificação da neoplasia quanto ao grau</li></ul>
<b>Desvantagens</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Resultados inconclusivos por baixa celularidade ou artefacto</li><li>- Interpretação errada por ausência de arquitetura tecidual</li><li>- Não permite a classificação da neoplasia quanto ao grau</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Requer anestesia</li></ul>

O citobloco é outra maneira de obter um diagnóstico, caracterizando-se essencialmente microbiópsias fixadas em formol e incorporadas em parafina. Este representa preparações concentradas e enriquecidas de células que permitem avaliar a arquitetura celular bem como realizar teste auxiliares de diagnóstico (Satturwar and Pantanowitz 2021), o que leva a uma melhor interpretação citopatológica (Shidham 2019).

Além disso, pode evitar a necessidade de realizar um procedimento mais invasivo, como biópsias de tecido (Satturwar and Pantanowitz 2021).

O conhecimento da classificação do grau histológico da neoplasia pode orientar nas decisões de tratamento e fornecer informação quanto ao prognóstico (Biller et al. 2016).

Outros exames como a imunocitoquímica (realizada na amostra citológica) ou a imunohistoquímica (realizada em amostra histopatológica) podem ser necessários para determinar o tipo específico de tumor presente. Quando todas as pesquisas anteriormente referidas não permitem obter um diagnóstico definitivo, ou se pretende confirmar o diagnóstico dado pelas mesmas, pode-se realizar, por exemplo, uma PARR (PCR para detecção do rearranjo dos recetores antigénicos dos linfócitos) ou citometria de fluxo. Tal como as análises citológica e histopatológica, todos estes exames adicionais dão informação complementar quanto ao prognóstico e possíveis alvos terapêuticos (Ruple et al. 2020).

### **3. Estadiamento**

O estadiamento da doença oncológica refere-se à extensão da doença com base no tamanho e grau de invasão local do tumor (T), envolvimento dos linfonodos (N) e presença de metástases à distância (M) (Avallone et al. 2021). A realização do exame físico, de análises clínicas (hemograma, bioquímicas e urianálise) e de exames imagiológicos são componentes essenciais ao estadiamento clínico (Biller et al. 2016).

Para avaliar o tamanho do tumor, no caso de neoplasias externas, pode-se recorrer ao exame físico. Contudo, em neoplasias internas, o melhor método é a imagiologia – radiografia, ecografia, tomografia computadorizada (TC) ou ressonância magnética. Esta última é utilizada também para perceber o grau de invasão local (Biller et al. 2016).

Na doença oncológica pode-se suspeitar do envolvimento de linfonodos, detetando a sua alteração através do exame físico, da radiografia torácica, da ecografia abdominal e da TC. No entanto, o seu envolvimento só é confirmado através de citologia ou histopatologia (Dobson 2011).

A presença de metástases à distância é avaliada através do exame físico e da imagiologia (Biller et al. 2016). Assim, a radiografia é geralmente utilizada na pesquisa de metástases pulmonares; já a ecografia é útil na pesquisa de metástases abdominais, com a vantagem de se poder obter, de forma ecoguiada, amostras de tecidos; a TC, *gold standard* na pesquisa de metástases pulmonares, permite obter biópsias TC-guiadas; e a ressonância magnética, permite uma melhor avaliação dos tecidos moles e cérebro, em relação à TC (North and Banks 2009).

## **4. Tratamento**

A escolha do tratamento adequado depende do tipo de tumor presente, do grau histológico, do estadiamento da doença e do próprio animal (MacDonald 2009; Biller et al. 2016). O estabelecimento do diagnóstico e a realização do estadiamento são pontos essenciais e indispensáveis ao desenvolvimento de um plano de tratamento apropriado para o animal (McKnight 2003).

A cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia continuam a ser as principais modalidades terapêuticas tumorais, e o seu papel continua a evoluir, mas a imunoterapia também tem sido aplicada e tem ganho destaque nos últimos anos (Smith 2014; Gyles 2015; Gorbet and Ranjan 2020). Enquanto a excisão cirúrgica é muitas vezes a primeira escolha para diagnóstico e tratamento, as abordagens multimodais são frequentemente importantes (Smith 2014). Uma abordagem multimodal tem como objetivo maximizar os benefícios do tratamento e o potencial de cura, ao mesmo tempo que diminui os efeitos adversos, resultando numa taxa de sucesso mais elevada e num maior controlo da doença a longo prazo (Mutsaers 2007; Liptak 2009a; Smith 2014).

### **4.1. Cirurgia**

A cirurgia como tratamento da doença oncológica é um dos procedimentos habitualmente realizado e que providencia a melhor oportunidade de cura de um tumor nos animais de companhia (Liptak 2009b). Esta pode ser aplicada com o objetivo de curar ou de tratar paliativamente, mas também pode ser usada na prevenção da ocorrência de tumores. São exemplos a realização da ovariectomia e da orquiectomia na prevenção de tumores de mama e de tumores de células de Sertoli em criptorquídicos, respetivamente (Liptak 2009b; Boston and Henderson 2014).

Para além de poder ser aplicada *a solo*, a cirurgia pode ser combinada com outros tipos de tratamento como a radioterapia, a quimioterapia e a imunoterapia (Liptak 2009b; Boston and Henderson 2014).

Este procedimento é vantajoso face a tratamentos como a radioterapia e a quimioterapia por ser menos imunossupressor e não ser carcinogénico, porém torna-se desvantajoso dada a morbilidade associada (comprometimento funcional e questões estéticas) (Liptak 2009b).

### **4.2. Radioterapia**

A radioterapia tem sido usada no tratamento de doentes oncológicos há muitos anos (Nolan and Dobson 2018). É usada de forma paliativa, para reduzir a morbilidade associada ao tumor, e assim, melhorar a qualidade de vida do animal, e no tratamento definitivo para

atingir a resposta completa e prolongada (Smith et al. 2019). Este tipo de tratamento pode ser usado isoladamente ou em conjunto com a cirurgia (pré ou pós-cirurgicamente) e/ou quimioterapia, mas requer sempre anestesia (McEntee 2006) e é muito dependente de formas de diagnóstico imagiológico avançadas (Kent et al. 2018).

Os efeitos secundários associados à radioterapia ocorrem nos tecidos irradiados localmente e dependem do protocolo usado e da área a ser tratada (McEntee 2006; Nolan and Dobson 2018). O protocolo de tratamento definitivo envolve geralmente o uso de doses mais baixas por fração com uma maior frequência, e está mais associado a efeitos secundários agudos e menos efeitos secundários tardios (McEntee 2006). Contrariamente, o protocolo de tratamento paliativo envolve maiores doses de radiação por fração, mas menos frequentes, sendo menos associado a efeitos adversos agudos, mas aumenta o risco de efeitos adversos tardios (McEntee 2006; Nolan and Dobson 2018). Os efeitos adversos agudos ocorrem em tecidos de divisão rápida sendo habitualmente bem controlados com tratamento sintomático (McEntee 2006; Smith et al. 2019). Por sua vez, os efeitos adversos tardios são potencialmente sérios e irreversíveis e, normalmente, desenvolvem-se 1 a 2 anos após a radioterapia em tecidos com baixa taxa de renovação celular (Smith et al. 2019). No entanto, a baixa taxa de sobrevida, principalmente no protocolo de tratamento paliativo, não permite que estes tipo de efeitos adversos se desenvolva (McEntee 2006).

### **4.3. Imunoterapia**

A imunoterapia é atualmente reconhecida como um dos pilares de tratamento de pacientes oncológicos tal como cirurgia, radioterapia e quimioterapia (Bergman 2019). Esta nova classe terapêutica, ao estimular os sistemas imunitários inato e adaptativo a eliminar as células tumorais, oferece uma abordagem mais direcionada e mais precisa no tratamento de neoplasias (Bergman 2019; Gorbet and Ranjan 2020).

Alguns exemplos de imunoterapia incluem os modificadores de resposta biológica, as citocinas recombinantes e as vacinas para tumores (Bergman 2019).

Uma das desvantagens desta modalidade é o tempo de resposta lento, o que pode variar de semanas a meses. Bergman (2019) afirma ainda que a imunoterapia parece funcionar melhor na doença residual mínima, o que traz a vantagem de poder ser usada como tratamento adjuvante a terapias locais, como a cirurgia e/ou radioterapia e que, no futuro, poderá também ser usada em conjunto com a quimioterapia.

### **4.4. Inibidores de Tirosina Quinase**

Segundo Frezoulis and Harper (2022), o uso de inibidores de tirosina quinase nos doentes oncológicos tem ganho uma importância significativa na última década. Em medicina veterinária estão licenciadas duas substâncias ativas: o fosfato de toceranib e o

masitinib. Numa fase inicial, eram apenas utilizados em mastocitomas recorrentes ou não operáveis em canídeos domésticos. Atualmente, o fosfato de toceranib é também utilizado noutros tipos de tumores sólidos.

Os dois inibidores de tirosina quinase acima referidos apresentam algumas vantagens como serem administrados por via oral e poderem ser aplicados em felinos domésticos (Dubreuil et al. 2009; Daly et al. 2011; Londhe et al. 2019). A combinação de fosfato de toceranib com a radioterapia, a quimioterapia de alta dose e a quimioterapia metronómica, ainda é alvo de estudos (Londhe et al. 2019). Em relação ao masitinib, recentemente este demonstrou ser benéfico, em monoterapia ou quando combinado com quimioterapia de alta dose, em tumores da mama na espécie canina (Ustun-Alkan et al. 2021).

Os efeitos adversos causados por este tipo de terapia são similares em canídeos e felinos domésticos, sendo os mais comuns os gastrointestinais, os hematológicos e as alterações de parâmetros bioquímicos (Biller et al. 2016).

#### **4.5. Quimioterapia de alta dose**

A quimioterapia de alta dose ou quimioterapia de dose máxima tolerada consiste na administração de um composto quimioterápico na dose máxima recomendada, seguida de um período de recuperação (Biller et al. 2016). Esta é comumente usada como modalidade de tratamento em oncologia veterinária, sendo o tratamento de eleição para alguns tipos de tumores sistémicos e neoplasias metastáticas (Klopfleisch et al. 2016). Pode ser utilizada como terapia isolada ou associada à cirurgia ou à radioterapia (MacDonald 2009; Klopfleisch et al. 2016). Os resultados desta terapêutica podem ser uma remissão completa, diminuição do tamanho do tumor e prolongamento da vida do animal em tumores metastáticos (MacDonald 2009).

MacDonald (2009) indica ainda a mielossupressão, as alterações gastrointestinais e a alopecia como efeitos secundários da quimioterapia. Destes, a neutropenia é normalmente a citopenia mais grave e dose limitante associada aos quimioterápicos. Refere também que a maioria dos fármacos é administrada por via endovenosa, havendo o risco de extravasão e conseqüente necrose dos tecidos. Contudo, o maior fator limitante ao sucesso deste tipo de terapêutica é a resistência a fármacos, tanto intrínseca como adquirida (Zandvliet and Teske 2015).

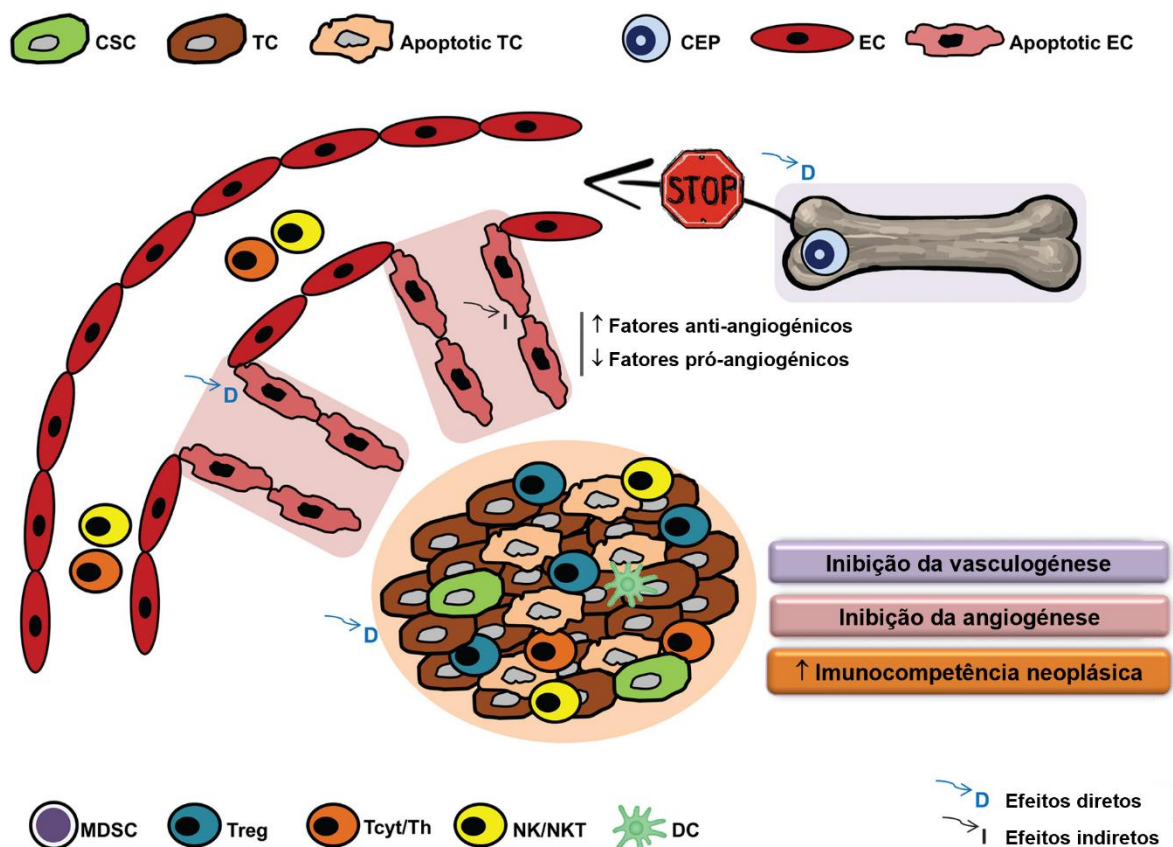
#### **4.6. Quimioterapia Metronómica**

Segundo Gaspar et al. (2018), a quimioterapia metronómica, também conhecida como quimioterapia de baixa dose, é caracterizada pela administração oral de um composto quimioterápico em baixas doses num esquema de tratamento frequente ou contínuo, sem

intervalos prolongados entre administrações, o que difere da quimioterapia de alta dose anteriormente referida.

É descrita como uma terapia com vários alvos, sendo os mecanismos de ação mais relevantes (Figura 1) (Gaspar et al. 2018):

- A inibição da angiogénese por ação direta do fármaco citotóxico nas células endoteliais e por ação indireta através da modulação dos fatores angiogénicos (regulação positiva dos fatores anti-angiogénicos – por exemplo, trombospondina 1 – e negativa dos fatores pró-angiogénicos – por exemplo, fatores de crescimento do endotélio vascular) e inibição da vasculogénese, bloqueando a mobilização e inibindo a viabilidade das células progenitoras endoteliais, importantes para a formação de novos vasos;
- A imunomodulação, através da diminuição seletiva do número e função dos linfócitos T reguladores (Treg);
- O efeito nas células tumorais e células-tronco tumorais ao causar a erradicação e disrupção do nicho das células-tronco tumorais;
- E a indução do estado de dormência tumoral, o que leva a um controlo assintomático da doença a longo prazo.



**Figura 1. Mecanismos de ação da quimioterapia metronômica.** CSC, célula-tronco tumoral; TC, célula tumoral; CEP, célula progenitora endotelial circulante; EC, célula endotelial; MDSC, célula supressora de origem mieloide; Treg, célula T reguladora; Tcyt, célula T citotóxica; Th, célula T helper; NK, célula natural killer; NKT, célula T natural killer; DC, célula dendrítica (adaptado de Gaspar et al. 2018).

Em termos de indicações clínicas, a quimioterapia de baixa dose tem três tipos de indicação: tratamento de primeira linha, terapia de consolidação e terapia de manutenção (Gaspar et al. 2018), tendo um efeito benéfico em diferentes tipos de tumores (Elmslie et al. 2008; Tripp et al. 2011; Leach et al. 2012; Schrempp et al. 2013; Wendelburg et al. 2015; Finotello et al. 2017; Polton et al. 2018). Está indicada como tratamento de primeira linha nos casos de animais diagnosticados com doença avançada e/ou incurável. É utilizada como terapia de consolidação quando seguida de outras modalidades de tratamento e se pretende prolongar o estado de remissão atingido num paciente com alto risco de recidiva ou com o objetivo de destruir células tumorais residuais ou micrometástases. Quando aplicada como substituto temporário de protocolos de alta dose com o intuito de promover uma melhor qualidade de vida, é indicada como terapia de manutenção (Gaspar et al. 2018).

Quando aplicada isoladamente em tumores macroscópicos, a taxa de resposta é baixa, com 3-11% dos casos a atingir uma resposta parcial ou completa (Tripp et al. 2011; Schrempp et al. 2013; Spugnini et al. 2014). Contudo, nestes mesmos estudos, a

estabilização ou uma progressão mínima da doença foi notada em 30-67% dos casos, o que permite concluir que a quimioterapia de baixa dose é uma opção para o tratamento paliativo.

#### **4.6.1. Compostos Quimioterápicos**

O composto quimioterápico mais usado neste tipo de modalidade terapêutica, em medicina veterinária (Gaspar et al. 2018) e em medicina humana (Wichmann et al. 2020), é a ciclofosfamida. Porém, outros compostos como a lomustina (Tripp et al. 2011) e o clorambucilo (Leach et al. 2012; Schrempp et al. 2013; Custead et al. 2017) também têm sido descritos como fármacos utilizados em quimioterapia metronômica.

#### **4.6.2. Vantagens e Desvantagens**

Nos vários estudos realizados com ciclofosfamida, a dose do fármaco quimioterápico variou entre 5 e 49 mg/m<sup>2</sup>, uma vez por dia ou em dias alternados (Lana et al. 2007; Marchetti et al. 2012; Leo et al. 2014; Chan et al. 2016; Harper and Blackwood 2017). Tal como em medicina humana (Wichmann et al. 2020), a dose e o tempo de tratamento ideais em medicina veterinária permanecem incertos, o que se torna uma desvantagem deste tipo de modalidade (Petrucci et al. 2021).

De forma geral, a quimioterapia metronômica é bem tolerada e tem baixa toxicidade, o que reduz a necessidade de tratamento de suporte. Além disso, é mais conveniente para os detentores pois podem tratar os seus animais em casa, o que torna também uma terapia menos stressante, principalmente em felinos domésticos (Leo et al. 2014; Gaspar et al. 2018; Petrucci et al. 2021). Adicionalmente, este tipo de tratamento tem um baixo custo, diminui a possibilidade de indução de resistência adquirida aos fármacos e permite a associação com outras terapias dirigidas (Gaspar et al. 2018).

No entanto, segundo Harper and Blackwood (2017), a administração de ciclofosfamida, neste tipo de tratamento, tem uma elevada incidência de efeitos adversos em canídeos domésticos (49%), apesar de ser geralmente de baixo grau e muitas vezes ter um impacto mínimo na qualidade de vida do animal, o que vai ao encontro dos estudos de Elmslie et al. (2008) e Finotello et al. (2017).

O principal efeito adverso descrito, provocado pela ciclofosfamida nesta modalidade de tratamento é a cistite hemorrágica estéril, com uma incidência que varia de 0% a cerca de 33% (Elmslie et al. 2008; Marchetti et al. 2012; Sá 2016; Milevoj et al. 2022), cujo risco de desenvolvimento aumenta com a duração do tratamento e com a dose (Matsuyama, Woods, et al. 2017; Matsuyama, Poirier, et al. 2017). Alguns autores demonstraram que a administração concomitante de furosemida reduz a incidência e o risco de desenvolvimento de cistite hemorrágica estéril, sugerindo que esta possa ter um efeito protetor (Chan et al. 2016; Setyo et al. 2017). Também têm sido descritos efeitos secundários gastrointestinais

com uma incidência que varia entre 0% e 44%, porém muitos estudos são retrospectivos e a ciclofosfamida é aplicada em terapia associada aos anti-inflamatórios não esteroides. Desta forma, muitos dos efeitos gastrointestinais são atribuídos aos AINEs (Sá 2016; Finotello et al. 2017; Harper and Blackwood 2017; Milevoj et al. 2022).

Na avaliação da toxicidade da ciclofosfamida em baixa dose nos felinos domésticos, Leo et al. (2014) concluíram que, para além desta terapêutica ser bem tolerada e ter poucos incidentes de toxicidade (29%), os efeitos adversos demonstrados foram de natureza leve a moderada, referindo como principais os de origem renal e gastrointestinal. Apesar de terem sido administrados AINEs concomitantes, os autores não excluíram a ciclofosfamida como causa.

#### **4.6.3. Associação com Outros Fármacos**

Este tipo de tratamento é muitas vezes combinado com inibidores de ciclooxigenases-2 (COX-2) para aumentar a atividade antiangiogénica, dado que a sua elevada expressão está diretamente ligada à angiogénese e com mecanismos pró-angiogénicos (Mander and Finnie 2018). Outros fármacos usados concomitantemente são os inibidores de tirosina quinase (Mitchell et al. 2012; Fonseca-Al and Calazans 2015).

Rasmussen et al. (2017) concluíram que, em canídeos domésticos portadores de neoplasias, a ciclofosfamida em doses baixas pode ser administrada com segurança concomitantemente com doxorrubicina. O mesmo foi descrito por Wendelburg et al. (2015) e Finotello et al. (2017) em canídeos domésticos com hemangiossarcomas.

##### **4.6.3.1. Anti-inflamatórios Não Esteroides**

Como referido anteriormente e também afirmado por Horikirizono et al. (2019), os AINEs são fármacos que podem ser usados em tumores malignos pelas suas propriedades antiangiogénicas.

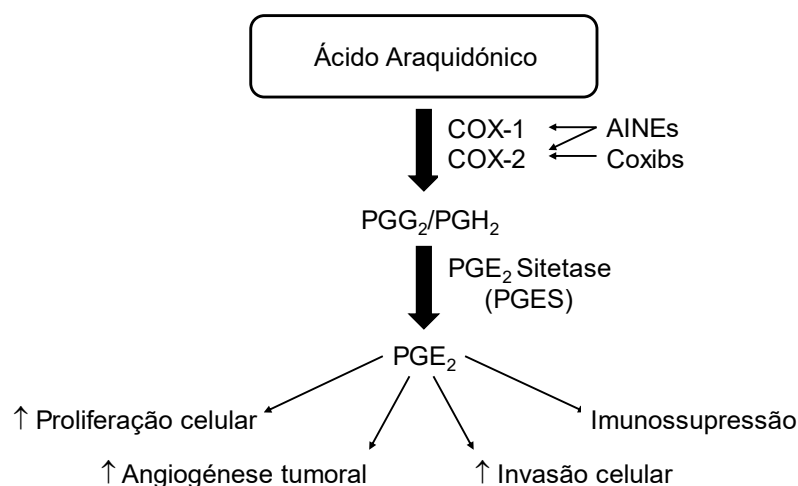
Este tipo de fármacos tem como mecanismo de ação a inibição das enzimas ciclooxigenases (COX) – ciclooxigenase-1 (COX-1) e ciclooxigenase-2 (COX-2) – e, consequentemente, a diminuição da produção de prostaglandinas envolvidas em diversos processos fisiológicos (Doré 2011; McLean and Khan 2018).

As COX-1, enzimas constitutivas, estão presentes naturalmente em várias células, tecidos e órgãos como estômago, rim, endotélio e plaquetas e são responsáveis pela produção de prostaglandinas envolvidas em processos fisiológicos e protetores, incluindo a autorregulação do fluxo sanguíneo renal. Por sua vez, as COX-2, enzimas maioritariamente indutivas, são primariamente responsáveis pela dor, inflamação e febre, mas também estão envolvidas na oncogénese. No entanto, as COX-2 também são expressas e necessárias

para a função normal dos tecidos gastrointestinal, neural, reprodutivo e renal (Lomas and Grauer 2015; McLean and Khan 2018; Szweda et al. 2019; Lees et al. 2022). Além disso, é provável que ambas as cicloxigenases promovam proteção renal na presença de hipotensão e hipovolémia (Lomas and Grauer 2015; Lees et al. 2022).

Em medicina veterinária, tal como ocorre em medicina humana, o aumento da expressão de COX-2 nos tecidos tumorais sugere que estas estão envolvidas na oncogénese de algumas neoplasias nas espécies canina, felina e equina. Alguns exemplos de tumores onde as enzimas cicloxigenase-2 se encontram aumentadas, na espécie felina e canina, são o carcinoma mamário, o carcinoma de células de transição e o carcinoma de células escamosas. Nos canídeos domésticos, este aumento ocorre também no carcinoma prostático (Doré 2011; Szweda et al. 2019).

A oncogénese é promovida pelo aumento da expressão de COX-2 por estas enzimas inibirem a apoptose, aumentarem a neoangiogénese, promoverem a metastização e suprimirem o sistema imunitário (Figura 2). Desta forma, o uso de AINEs, não-seletivos ou seletivos, para além das propriedades antiangiogénicas, também é benéfico na profilaxia de tumores, na inibição da progressão tumoral por influência negativa nas células tumorais e melhora os resultados do tratamento de pacientes com tumores (Mander and Finnie 2018; Szweda et al. 2019).



**Figura 2. Vias de síntese de prostaglandina E2 e seu papel no desenvolvimento de tumores.** COX-1, cicloxigenase-1; COX-2, cicloxigenase-2; PGE2, prostaglandina E2; PGH2, prostaglandina H2; PGE2 sintetase, prostaglandina E2 sintetase (adaptado de Doré 2011).

## 5. Hematologia

O leucograma é avaliado através da realização de um hemograma e engloba os leucócitos e sua contagem diferencial – neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos (Tvedten 2012). Os leucócitos presentes no sangue periférico, sendo componentes dos sistemas imunitários inato e adaptativo e tendo um importante papel na resposta imune

(DeClue and Spann 2017), permitem avaliar a presença ou ausência de imunossupressão num animal (Day 2011a; Day 2011b). O número de leucócitos circulantes é dinâmico e afetado por vários estímulos como infecção, inflamação, doenças autoimunes, lesão de tecidos, distúrbios mieloproliferativos, hormonas e fármacos (Tvedten 2012; DeClue and Spann 2017).

Por serem as maiores e mais dinâmicas populações de células leucocitárias, os neutrófilos e os linfócitos, estes últimos menos frequentemente, são os principais responsáveis pela leucocitose e pela leucopenia (Tvedten 2012; DeClue and Spann 2017). O aumento ou diminuição da população de monócitos, eosinófilos e basófilos são causas incomuns de leucocitose ou leucopenia, respetivamente, por representarem uma pequena percentagem de leucócitos (DeClue and Spann 2017).

Os neutrófilos podem ser considerados parte do sistema imunitário inato e serem células-chave nos estadios iniciais da resposta inflamatória (Day 2011b). Logo, a diminuição do número de neutrófilos em circulação resulta de uma mielossupressão e/ou de infeções graves, ao passo que as respostas neutrofilicas, com o aumento do número desta células, são observadas em casos de inflamação, infeção e neoplasia (Abrams-Ogg 2012; Tvedten 2012; DeClue and Spann 2017).

As células imunológicas mais importantes são os linfócitos (Day 2011b). A sua população circulante vai estar diminuída em situações fisiológicas (resposta ao stress em gatos), em casos de resposta ao stress inflamatório, em infeções virais e como efeito secundário de glucocorticoides. Este decréscimo de linfócitos vai contribuir para a diminuição do número total de leucócitos, porém não se espera que seja a origem da leucopenia. A linfocitose é encontrada em infeções crónicas e em várias neoplasias linfoides e leucemias. Apesar de ser raro, a linfocitose também pode estar presente em animais com hipoadrenocorticismo (Tvedten 2012; DeClue and Spann 2017).

Os eosinófilos têm um papel importante na inflamação, ocorrendo um aumento da sua quantidade em circulação em animais com reações de hipersensibilidade e doenças parasitárias. Outras causas para eosinofilia são a síndrome hipereosinofílica, leucemia eosinofílica e síndromes paraneoplásicas (Day 2011b; Mansfield 2012; DeClue and Spann 2017). A eosinopenia é difícil de detetar, porque uma contagem diferencial manual de leucócitos de 100 células nem sempre inclui algum eosinófilo (Tvedten 2012).

Os monócitos são formas sanguíneas imaturas dos macrófagos tecidulares. A monocitose pode ser encontrada em inflamações crónicas e lesões celulares e de tecidos, mas em canídeos domésticos é muitas vezes causada pelo tratamento com glucocorticoides (Tvedten 2012; DeClue and Spann 2017).

Por último, os basófilos são células sanguíneas raras tanto em canídeos como em felinos domésticos, por isso, quando mencionados em algum tipo de relatório hematológico

indicam basofilia. A basofilia normalmente está associada à eosinofilia, sendo a sua interpretação baseada nesta última. Quando sozinha, pode estar associada a lipemia ou alterações do metabolismo lipídico. Para além destas razões, o aumento do número de basófilos acima do valor de referência pode ser causado por neoplasias (Tvedten 2012).

## **6. Toxicidade Renal**

A nefrotoxicidade pode ser uma consequência da ingestão de determinadas plantas/alimentos ou da ingestão metais pesados através de alimentos contaminados ou ser um efeito secundário da administração de certos fármacos. Este tipo de patologia pode dar origem a uma lesão renal aguda, que poderá evoluir para doença renal crónica ou provocar uma agudização da doença renal crónica (Reynolds and Lefebvre 2013; Ross 2022).

A forma ideal de avaliar a função renal é a medição da taxa de filtração glomerular. Esta pode ser medida com base na depuração plasmática ou renal de um marcador de filtração exógeno, como a inulina e o iohexol. No entanto, este processo é clinicamente desafiante (Sargent et al. 2021).

Deste modo, a função renal é avaliada através do uso de marcadores substitutos, como o SDMA (dimetilarginina simétrica) e a creatinina sérica. A relação entre o SDMA e a creatinina sérica e a taxa de filtração glomerular é muito semelhante (Sargent et al. 2021).

O SDMA tem demonstrado ser um marcador precoce de doença renal e não é influenciado pela massa muscular. No entanto, alguns investigadores afirmam que este parece ser influenciado por outras doenças concomitantes (Yerramilli et al. 2016; Sargent et al. 2021).

A creatinina sérica é um marcador indireto da taxa de filtração glomerular, estando inversamente relacionada com a mesma. No entanto, tem algumas limitações, entre as quais a baixa sensibilidade e ser influenciada por fatores não-renais (Finch 2014; Sargent et al. 2021). Apesar das suas limitações, a creatinina continua a ser o padrão para a avaliação da função renal em medicina humana e veterinária (Cobrin et al. 2013; Yerramilli et al. 2016). Além disso, estudos recentes realizados por Pelander et al. (2019) e Brans et al. (2021), demonstraram que a creatinina sérica e o SDMA são igualmente bons marcadores para a deteção da diminuição da taxa de filtração glomerular tanto em canídeos como em felinos domésticos clinicamente estáveis.

Outro marcador da função renal é a densidade urinária (Sargent et al. 2021). Esta reflete a capacidade de os túbulos renais concentrarem ou diluírem a urina de acordo com as necessidades do organismo de modo a equilibrar a ingestão e excreção de água. Por este motivo, a massa renal influencia a capacidade máxima de concentração da urina. No entanto, a densidade urinária também é influenciada por fatores não renais como fármacos (ex. diuréticos), dieta e a ingestão de líquidos (Finch 2014). Este marcador, juntamente com

a creatinina e o SDMA, permite o diagnóstico de animais com doença renal crónica em estadio 2 a 4 (IRIS 2023a).

A proteinúria renal demonstrada através da medição do rácio creatinina:proteína urinária é outro método de deteção de lesão renal. A persistência de uma proteinúria renal, ou seja, de um rácio creatinina:proteína urinária aumentado, permite o diagnóstico de animais no estadio 1 e 2 de doença renal crónica para além de ajudar no subestadiamento dos variados estadios desta doença. No entanto, é influenciada por inflamação ou hemorragia do trato urinário (IRIS 2023a; IRIS 2023b).

### **III. Imunossupressão e Toxicidade Renal em Animais Submetidos a Quimioterapia Metronómica**

#### **1. Objetivos**

A utilização da quimioterapia metronómica, em medicina humana, tem demonstrado, em vários estudos, ter como efeito adverso alterações leucocitárias. Além disso, ao composto quimioterápico, como referido anteriormente, pode ser associado um anti-inflamatório não esteroide que, em utilização prolongada, pode provocar alterações renais.

Assim, o objetivo deste estudo consiste na determinação da ocorrência de imunossupressão, demonstrada por alterações leucocitárias, e de toxicidade renal como efeitos adversos, em animais das espécies canina e felina com doença oncológica, durante o protocolo de tratamento com quimioterapia metronómica. Outro objetivo deste estudo é perceber se existe relação entre a ocorrência de linfopenia e o protocolo terapêutico aplicado.

#### **2. Materiais e Métodos**

##### **1.1. Animais**

A recolha de informação para a realização deste estudo retrospectivo consistiu na análise do historial clínico dos pacientes, desde o diagnóstico até à data em que pararam o tratamento ou até à última informação disponível, do Hospital Escolar Veterinário e do Centro Veterinário do Jamor, desde maio de 2017 a agosto de 2022, através do programa GuruVet.

Os critérios de inclusão para a realização deste estudo foram animais, canídeos e felinos domésticos, de qualquer raça, sexo, idade e estado reprodutivo, diagnosticados com doença neoplásica, submetidos a tratamento quimioterápico com ciclofosfamida em baixa dose ou com terapia combinada de ciclofosfamida em dose baixa e anti-inflamatório não esteroide (meloxicam, piroxicam ou robenacoxib) e que no início da terapia tivessem análises clínicas, hemogramas e/ou bioquímicas renais sem alterações. Quando apresentaram resultados para ambas as análises clínicas, os animais foram incluídos nos 2 estudos: estudo da imunossupressão (grupo 1) e estudo da toxicidade renal (grupo 2).

No estudo de imunossupressão como efeito adverso foram excluídos animais que não regressaram após instituição do plano de tratamento, que não realizaram hemogramas durante o tratamento oncológico, que foram submetidos a outros tratamentos quimioterápicos, com inibidores de tirosina quinase ou glucocorticoides concomitantes ou apresentassem outras comorbilidades causadoras de alterações no leucograma. Excluíram-se também animais cujos tratamentos anteriormente mencionados tivessem terminado há

menos de 1 semana, no caso dos inibidores de tirosina quinase, e 1 mês, no caso da quimioterapia de alta dose.

Do estudo da toxicidade renal como efeito adverso foram excluídos os animais que não regressaram após instituição do plano de tratamento, tinham doença renal crónica ou alteração dos parâmetros bioquímicos renais antes de iniciar o tratamento, não realizaram análises bioquímicas com parâmetros renais durante a terapêutica ou foram submetidos a outros tratamentos quimioterápicos ou com inibidores de tirosina quinase concomitantes.

## **1.2. Protocolo de Tratamento**

Neste tipo de tratamento, antes de se associar o anti-inflamatório não esteroide ao protocolo, são realizadas análises bioquímicas séricas renais de modo a perceber se existe doença renal prévia. Em caso afirmativo, o animal continua o tratamento apenas com ciclofosfamida. Caso não esteja presente doença renal crónica, o protocolo passa a incluir um anti-inflamatório não esteroide.

A ciclofosfamida foi prescrita na dose 10-15 mg/m<sup>2</sup>, uma vez por dia, por via oral e de forma contínua. Quando o anti-inflamatório não esteroide fez parte do protocolo de quimioterapia metronómica, o mesmo foi prescrito, de forma contínua, e nas dose: 0,05 mg/kg de meloxicam, 0,3 mg/kg de piroxicam, ou 1-2 mg/kg de robenacoxib. Todos os anti-inflamatórios não esteroides foram administrados uma vez por dia e por via oral.

Ao longo da terapêutica foram realizados hemogramas e análises bioquímicas séricas renais ao fim do 1º mês e depois de 3 em 3 meses. Alterações leucocitárias detetadas nos hemogramas não implicam paragem de tratamento, ao passo que aumento dos valores de bioquímicas renais acima do intervalo de referência leva a paragem do anti-inflamatório não esteroide em curso.

## **1.3. Parâmetros a Avaliar**

A imunossupressão foi avaliada através do número total de leucócitos e de neutrófilos e linfócitos presente nos hemogramas de controlo realizados ao longo do período de tratamento. A sua alteração foi classificada em leucopenias, neutropenias e linfopenias.

O valor de creatinina, classificado em dentro do intervalo de referência ou acima o intervalo de referência, permitiu identificar a ausência ou presença de toxicidade renal, respetivamente.

Os valores de referência a partir dos quais foram identificadas a imunossupressão e a toxicidade renal encontram-se descritos na tabela 2.

**Tabela 2. Valores de referência do Hospital Escolar Veterinário**

<b>Leucograma</b>		
<b>Parâmetro</b>	<b>Cão</b>	<b>Gato</b>
<b>Leucócitos (leucopenia)</b>	< 6 x 10 <sup>3</sup> /μL	< 5.5 x 10 <sup>3</sup> /μL
<b>Neutrófilos (neutropenia)</b>	< 3000 /μL	< 2500 /μL
<b>Linfócitos (linfopenia)</b>	< 1000 /μL	< 1500 /μL
<b>Bioquímicas Sanguíneas</b>		
<b>Parâmetro</b>	<b>Cão</b>	<b>Gato</b>
<b>Creatinina</b>	> 1.640 mg/ dl	> 2.040 mg/dl

#### **1.4. Análise Estatística**

A análise estatística aplicada neste estudo consistiu em estatística descritiva, através do cálculo de frequências absolutas e relativas, tendo sido utilizado para o efeito o programa *Microsoft Office 365 Excel*.

Para avaliar a relação entre ocorrência de linfopenia, ao longo do protocolo terapêutico, e a inclusão de anti-inflamatório não esteroide no protocolo terapêutico foi realizado o teste estatístico Exato de Fisher, sendo considerado significativo os valores de  $p < 0,05$ . Neste teste são avaliadas duas hipóteses: hipótese nula ( $H_0$ ), onde não há associação entre a ocorrência de linfopenia e a inclusão de anti-inflamatório não esteroide no protocolo terapêutico, que é aceite quando  $p < 0,05$  e rejeitada quando  $p > 0,05$ ; e hipótese alternativa ( $H_A$ ), onde há associação entre a ocorrência de linfopenia e a inclusão de anti-inflamatório não esteroide no protocolo terapêutico.

### **3. Resultados**

#### **3.1. Caracterização da Amostra**

##### **3.1.1. Imunossupressão**

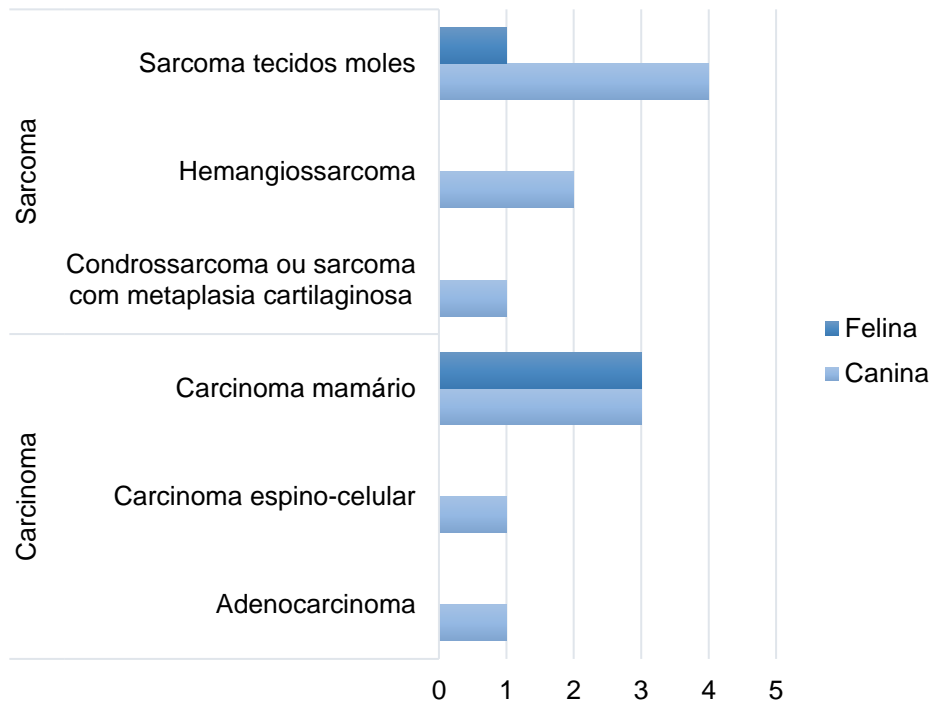
A amostra incluiu 16 animais, 12 canídeos (75%) e 4 felinos (25%) domésticos. Dos 12 canídeos domésticos, 7 eram do sexo feminino (58,33%) e 5 do sexo masculino (41,67%). Relativamente à espécie felina, os 4 animais eram do sexo feminino (100%).

No que se refere às raças, a mais representativa na espécie canina foi a sem raça definida [4/12 (33,33%)] e o Labrador retriever [2/12 (16,67%)]. Os restantes animais foram divididos equitativamente por cada uma das seguintes raças: Boerboel, Bulldog francês, Golden retriever, Perdigueiro português e Serra de Aires (8,33%). Da espécie canina foi ainda incluído um animal com características fenotípicas correspondentes a Pitbull. Na espécie felina, todos os animais pertenciam à raça doméstico de pêlo curto (100%).

A média de idade da amostra foi de 11,8 anos, sendo a idade mínima de 5 anos e a máxima de 17 anos.

Em relação aos tumores diagnosticados, os sarcomas (8/16) e carcinomas (8/16) mais representados foram os sarcomas de tecidos moles (62,5%) e o carcinoma mamário (75%), respetivamente (Gráfico 1).

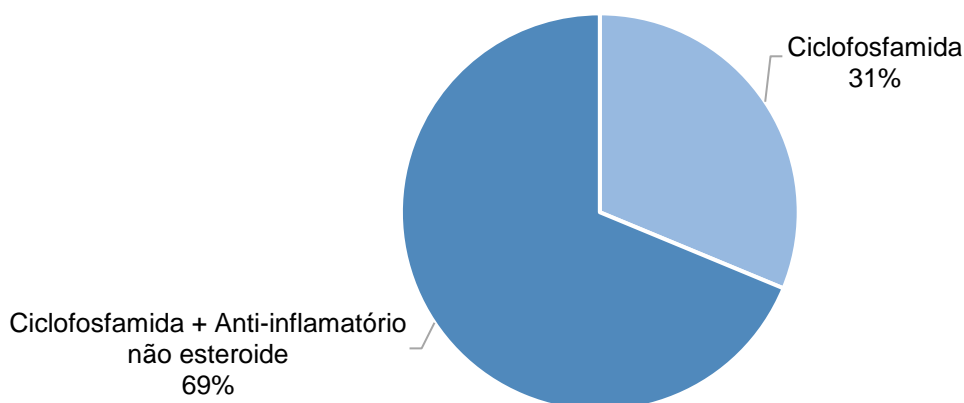
**Gráfico 1. Frequência absoluta da distribuição do tipo de tumores por espécie no grupo de estudo de imunossupressão**



De todos os animais que integraram a amostra em estudo, constatou-se que 8 (50%) foram submetidos a cirurgia, 3 (18,75%) a cirurgia e quimioterapia de alta dose e 1 (6,25%) a tratamento com fosfato de toceranib anteriormente ao tratamento com quimioterapia metronómica.

Quanto ao protocolo aplicado, a ciclofosfamida em monoterapia foi utilizada em 31% (5/16) dos casos e em terapia combinada em 69% (11/16) dos casos (Gráfico 2).

**Gráfico 2. Frequência dos diferentes protocolos de quimioterapia aplicados**



### **3.1.2. Toxicidade Renal**

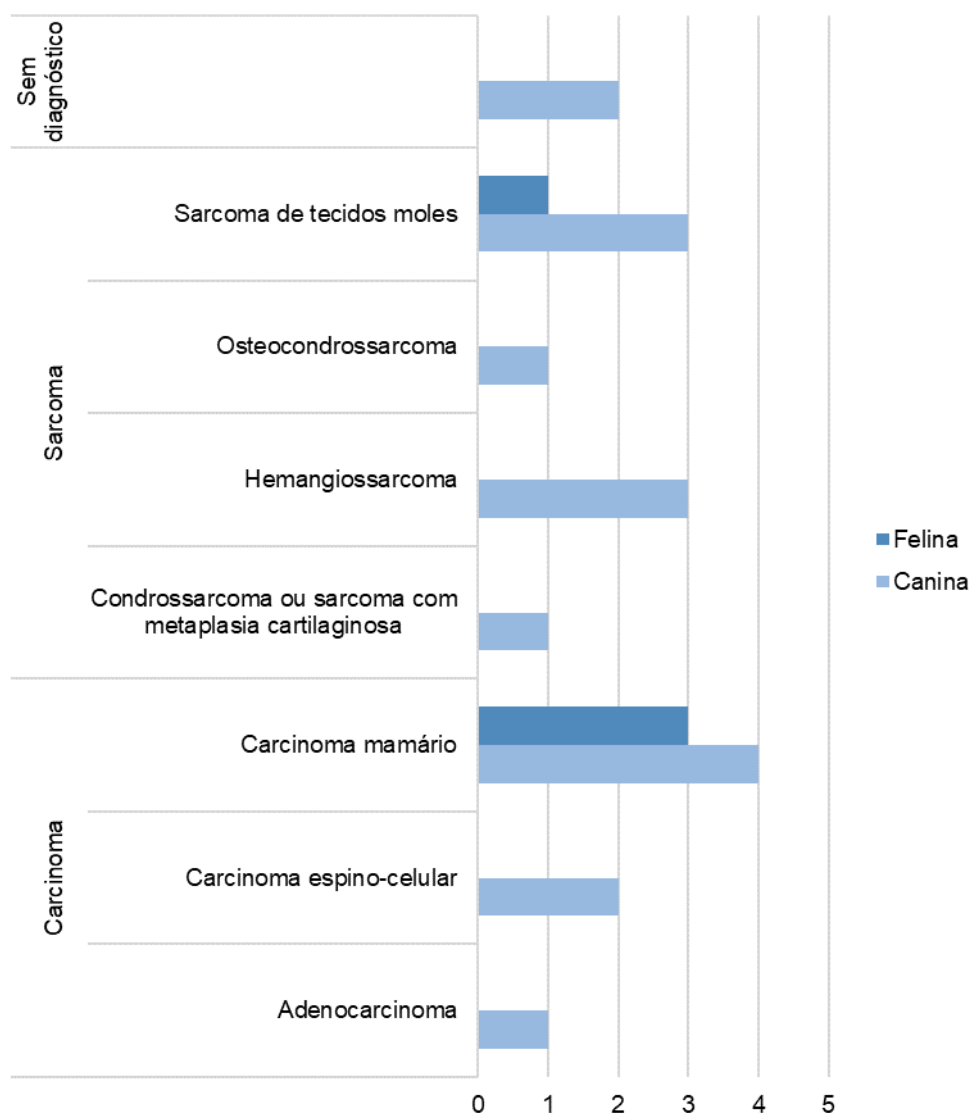
A amostra incluiu na totalidade 21 animais, 17 canídeos (80,95%) e 4 felinos domésticos (19,05%). Na espécie canina foram incluídos 7 machos (41,2%) e 10 fêmeas (58,8%) e na espécie felina 1 macho (25%) e 3 fêmeas (75%).

Em relação às raças, dos 17 animais da espécie canina, 9 eram sem raça definida (52,94%), 2 Labrador retriever (11,76%) e 1 Bulldog francês, Golden retriever, Perdigueiro português, Rafeiro alentejano e Serra de Aires (5,88%). Da espécie canina foi ainda incluído um animal com características fenotípicas correspondentes a Pitbull. Todos os animais da espécie felina pertenciam à raça doméstico de pêlo curto (100%).

A idade dos animais variou entre 5 e 17 anos e a idade média foi de 10,94 anos.

No que se refere às neoplasias diagnosticadas incluíram-se 10 carcinomas (47,62%), 9 sarcomas (42,86%) e 2 animais sem diagnóstico específico (9,52%). Dentro dos carcinomas e sarcomas, 70% (7/10) eram carcinomas mamários e 44,44% (4/9) sarcomas de tecidos moles (Gráfico 3).

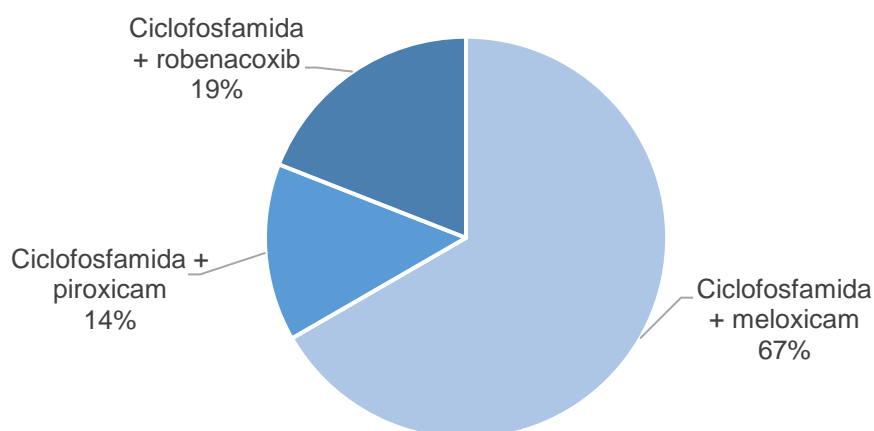
**Gráfico 3. Frequência absoluta da distribuição tipo de tumores por espécie no grupo de estudo de toxicidade renal**



Quanto a tratamentos anteriores, incluíram-se 11 animais que tinham sido submetidos a cirurgia (52,38%), 4 a cirurgia e quimioterapia de alta dose (19,05%) e 1 a tratamento com fosfato de toceranib (4,76%).

O protocolo aplicado foi a ciclofosfamida em associação com um anti-inflamatório não esteroide. Em 14 animais (67%), 4 da espécie felina e 10 da espécie canina, o anti-inflamatório não esteroide administrado foi o meloxicam, em 4 (19%) o robenacoxib e em 3 (14%) o piroxicam (Gráfico 4). Tanto o robenacoxib como o piroxicam foram apenas administrados a canídeos domésticos.

**Gráfico 4. Frequências relativas da distribuição dos animais por diferentes anti-inflamatórios não esteroides no estudo de toxicidade renal**



### 3.2. Distribuição de Frequências de Imunossupressão e Toxicidade Renal

#### 3.2.1. Imunossupressão

Do total de 16 animais incluídos, apenas 2 animais (2 felinos domésticos), ou seja 12,5% da amostra, apresentaram leucopenia durante protocolo de tratamento com quimioterapia metronômica. Nenhum animal apresentou diminuição do número de neutrófilos. No que se refere ao número de linfócitos, 9/16 (56,25%) dos animais apresentaram linfopenia, 5 canídeos (55,6%) e 4 felinos domésticos (44,4%) (Anexo 1).

Em termos de número de ocorrências, foram observadas na totalidade 20 ocorrências, 3 leucopenias (15%) e 17 linfopenias (85%). As 3 leucopenias foram observadas em 2 felinos domésticos. Em relação às linfopenias, 9 ocorreram na espécie felina e 8 na espécie canina.

O resumo dos resultados obtidos neste grupo de estudo encontra-se representado na tabela 3.

**Tabela 3. Frequências absoluta e relativa das citopenias**

Citopenia	Frequência absoluta (n=20)	Frequência relativa (n=20)	Canídeos domésticos (n=12)	Felinos domésticos (n=4)
Leucopenia	3	15%	0	2
Neutropenia	0	0%	0	0
Linfopenia	17	85%	5	4

### 3.2.2. Toxicidade Renal

Dos 21 animais incluídos, ocorreu um aumento da creatinina em 2 (9,5%) animais, 1 felino (25%) e 1 canídeo domésticos (5,88%) (Anexo 2).

Em relação ao protocolo aplicado, uma das alterações ocorreu no grupo com o anti-inflamatório não esteroide meloxicam [1/14 (7,14%)] e a outra no grupo com o piroxicam [1/3 (33,3%)].

Os resultados sobre toxicidade renal encontram-se resumidos na tabela 4.

**Tabela 4. Frequências absoluta e relativa de toxicidade renal**

Fármaco	Canídeo doméstico (n=17)	Felino doméstico (n=4)	Frequência absoluta de aumento da creatinina (n=2)	Frequência relativa de aumento de creatinina (n=2)	Canídeo doméstico com aumento de creatinina	Felino doméstico com aumento de creatinina
Meloxicam	10	4	1	7,14%	0	1
Piroxicam	3	0	1	33,3%	1	0
Robenacoxib	4	0	0	0%	0	0

### 3.3. Associação entre Ocorrência de Linfopenia e o Protocolo Terapêutico Realizado

Na tabela 5 apresenta-se o valor de significância obtido pelo teste Exato de Fisher, na análise estatística da associação entre a ocorrência de linfopenia e protocolo terapêutico aplicado, ciclofosfamida em monoterapia ou em terapia combinada de ciclofosfamida com anti-inflamatório não esteroide.

Em nenhum dos três tempos de tratamento avaliados – 1 mês, 4 meses e 7 meses –, o valor de  $p$  foi estatisticamente significativo. Deste modo, aceita-se a hipótese nula, não havendo associação entre a ocorrência de linfopenia e o tipo de protocolo terapêutico instaurado.

**Tabela 5. Significância estatística da associação entre a ocorrência de linfopenia e o protocolo terapêutico**

Tratamento	Linfopenia					
	1 mês	$p$	4 meses	$p$	7 meses	$p$
Ciclofosfamida	2 (100%)	0,11	5 (100%)	0,07	4 (100%)	0,33
Ciclofosfamida + Anti-inflamatório não esteroide	2 (22,2%)		3 (37,5%)		1 (50%)	

#### 4. Discussão

Recentemente, a quimioterapia metronômica tem ganho um interesse considerável, tanto em medicina veterinária (Gaspar et al. 2018) como em medicina humana (Wichmann et al. 2020).

Como já referido, a dose e o tempo de tratamento ideais, tanto em medicina humana como em medicina veterinária, são incertos. Em 2011, Burton et al. concluíram que a ciclofosfamida em doses diárias de 15 mg/m<sup>2</sup> tem efeitos imunomoduladores e anti-angiogénicos, ao passo que na dose de 12,5 mg/m<sup>2</sup> apresenta apenas efeitos imunomoduladores. Contudo, a maioria dos estudos com ciclofosfamida como composto anti-neoplásico de quimioterapia metronômica utiliza uma dose média de 10-15 mg/m<sup>2</sup>, uma vez por dia (Mitchell et al. 2012; Bracha et al. 2014; Leo et al. 2014; Harper and Blackwood 2017; Setyo et al. 2017; Matsuyama et al. 2018; Treggiari et al. 2020; Petrucci et al. 2021). Assim, o intervalo de dose de ciclofosfamida utilizado neste estudo é igual ao intervalo utilizado na maioria de outros estudos.

As suas características, levaram a que a quimioterapia metronômica se tenha tornado uma opção de tratamento popular, principalmente pela sua baixa toxicidade e facilidade de administração (Gaspar et al. 2018). Porém, poucos são os estudos publicados em medicina veterinária cujo objetivo principal seja a avaliação da toxicidade da quimioterapia em pequenos animais, sendo esta avaliação realizada de forma secundária.

No estudo de Elmslie et al. (2008), 30 canídeos domésticos diagnosticados com sarcoma de tecidos moles removidos cirurgicamente de forma incompleta, foram submetidos a um tratamento a longo prazo com administração diária de piroxicam e ciclofosfamida, na dose 10 mg/m<sup>2</sup>. Nenhum destes 30 animais apresentou alterações no leucograma. Igualmente com animais diagnosticados com sarcoma de tecidos moles em cães, Burton et al. (2011) investigaram a administração diária de ciclofosfamida durante 28 dias, nas doses 12,5 mg/m<sup>2</sup> e 15 mg/m<sup>2</sup>, em 11 animais, não relatando qualquer tipo de efeito adverso. Em 2012, Marchetti et al. também não encontraram qualquer efeito adverso na utilização de quimioterapia metronômica com ciclofosfamida (15 mg/m<sup>2</sup>/dia) e celecoxib em 15 animais da espécie canina.

Tanto no estudo de Spugnini et al. (2014) – com o propósito de perceber se a alcalinização melhora a resposta ao tratamento com quimioterapia metronômica, composta por ciclofosfamida (12,5 mg/m<sup>2</sup>/dia) e piroxicam, em canídeos domésticos com variados tumores – como na pesquisa de London et al. (2015) – com o objetivo de perceber o impacto da administração concomitantemente de fosfato de toceranib, ciclofosfamida em doses baixas (10 mg/m<sup>2</sup> em dias alternados) e piroxicam em animais da espécie canina com osteossarcoma apendicular pós cirurgia, como terapia de manutenção –, nenhum dos

grupos controlo, tratados com ciclofosfamida e piroxicam, apresentou qualquer tipo de alteração no leucograma.

Em 2017, Matsuyama, Poirier, et al. investigaram a utilização de quimioterapia metronómica com piroxicam e ciclofosfamida em diferentes doses – 10 mg/m<sup>2</sup> uma vez por dia, 15 mg/m<sup>2</sup> uma vez por dia e 25 mg/m<sup>2</sup> em dias alternados – após cirurgia e quimioterapia de alta dose em canídeos domésticos com hemangiossarcoma. Neste estudo, também não foram observadas alterações no leucograma dos 18 animais submetidos a quimioterapia metronómica. Ainda no mesmo ano, Matsuyama, Woods, et al. (2017) realizaram outro estudo com o objetivo de avaliar a toxicidade da aplicação de ciclofosfamida, na dose 25 mg/m<sup>2</sup> em dias alternados, em quimioterapia metronómica. Similarmente ao estudo anterior, os autores não encontraram qualquer tipo de efeito adverso nos leucócitos nos 50 animais incluídos.

Harper and Blackwood (2017), com o mesmo objetivo que Matsuyama, Woods, et al. (2017), mas com a administração de ciclofosfamida diária ou em dias alternados, numa dose mais baixa (10 mg/m<sup>2</sup>) e em terapia combinada com anti-inflamatórios não esteroides, não detetaram mielotoxicidade em nenhum dos 65 animais da espécie canina incluídos no estudo.

No estudo de Treggiari et al. (2020), foi comparada a utilização de quimioterapia de alta dose com antraciclina e a aplicação de quimioterapia metronómica em canídeos domésticos com hemangiossarcoma após cirurgia. No grupo em que foi utilizada a quimioterapia metronómica, cuja dose variou entre 10-15 mg/m<sup>2</sup>, uma vez por dia ou em dias alternados, apenas 1 dos 20 animais que estavam a fazer ciclofosfamida apresentou uma alteração leucocitária. Esta alteração leucocitária foi uma neutropenia, no entanto, o animal esteve anteriormente no grupo de quimioterapia de alta dose, onde recebeu um tratamento com epirrubina, mas por toxicidade passou para o grupo de quimioterapia metronómica, tendo este evento sido atribuído à epirrubina.

No passado mês de março, Milevoj et al. (2022), com a finalidade de avaliar a eficácia da quimioterapia metronómica no tratamento paliativo de animais da espécie canina com tumores orais variados, administraram ciclofosfamida, na dose 15-25 mg/m<sup>2</sup>/dia, combinada ou não com anti-inflamatório não esteroide a 12 animais. Tal como em estudos anteriormente referidos, nenhum destes animais apresentou qualquer tipo de alteração hematológica.

Em relação à investigação da toxicidade deste tipo de terapêutica em felinos domésticos, poucos são os estudos publicados. No estudo de Leo et al. (2014), foram utilizados vários protocolos de ciclofosfamida em baixa dose em felinos domésticos com neoplasias malignas várias. Os protocolos consistiram na administração de ciclofosfamida na dose média de 14 mg/m<sup>2</sup>, com frequências variadas – uma vez por dia, em dias

alternados, duas vezes por semana ou uma vez por semana – em monoterapia ou em terapia combinada. Estes autores concluíram que não havia qualquer tipo de alteração nos leucócitos em nenhum dos 22 animais.

Em 2021, Petrucci et al., com o objetivo de avaliar a eficácia e os efeitos adversos da quimioterapia com ciclofosfamida em baixas doses juntamente com meloxicam, como tratamento adjuvante, em comparação com quimioterapia de altas doses ou cirurgia isolada, em gatas com carcinoma mamário, formou um grupo controle de animais aos quais foi apenas administrada diariamente ciclofosfamida na dose 15 mg/m<sup>2</sup>. Dos vinte e três animais que constituíam este grupo controle, apenas três apresentaram mielotoxicidade de grau 1 como efeito adverso.

Na maioria dos estudos em medicina veterinária descritos anteriormente, as alterações leucocitárias não ocorrem como efeitos adversos. Pelo contrário, neste estudo agora realizado, cuja dose de ciclofosfamida variou entre 10-15 mg/m<sup>2</sup>, uma vez por dia, os resultados demonstram alterações leucocitárias na administração de ciclofosfamida em quimioterapia metronômica. Apesar de nenhum dos 16 animais presentes neste grupo do estudo ter apresentado neutropenias, 2 apresentaram leucopenias e 9 apresentaram linfopenias. Este tipo de resultados vai ao encontro de vários estudos realizados em medicina humana, onde alterações no leucograma compostas por leucopenias, neutropenias e/ou linfopenias foram efeitos adversos. Alguns exemplos são os estudos de Gebbia et al. (2012), Kummar et al. (2015), Kummar et al. (2016), Perroud et al. (2016), Wong et al. (2017) e Gupta et al. (2019).

A investigação de Gebbia et al. (2012) pretendeu estudar a eficácia e segurança da ciclofosfamida oral, com ou sem metotrexato, em mulheres com carcinoma mamário metastático após tratamento com quimioterapia de alta dose. Do grupo de 22 mulheres a que foi administrada apenas ciclofosfamida, 6 mulheres apresentaram leucopenias como efeito adverso, quatro de grau 1, uma de grau 2 e outra de grau 3. Kummar et al. (2015) obtiveram resultados semelhantes ao estudo anterior, uma vez que as leucopenias e linfopenias de grau 2 e 3 observadas foram os efeitos secundários mais comuns à administração de ciclofosfamida em monoterapia no tratamento de tumores do ovário e trompa de Falópio. Um ano depois, Kummar et al. (2016), analisaram o mesmo tipo de terapia, mas em mulheres com neoplasias mamárias, e 2 das 18 mulheres incluídas apresentaram apenas linfopenias de grau 3, sem leucopenia ou neutropenia associada. Segundo o estudo de Perroud et al. (2016), os efeitos adversos hematológicos associados à quimioterapia metronômica, constituída por ciclofosfamida e celecoxib, em 20 pacientes com tumores de mama metastáticos foram moderados, tendo incluído 4 leucopenias, duas de grau 1 e duas de grau 2, e 3 neutropenias, uma de grau 1 e duas de grau 2. Os mesmos autores concluíram ainda que este tipo de efeitos adversos é reversível com redução da

dose de ciclofosfamida. Em 2017, Wong et al. (2017), utilizando ciclofosfamida em baixa dose como terapia de manutenção ou de resgate em tumores de ovários, peritoneais primário e de trompa de Falópio, obteve como maior efeito secundário a mielossupressão. Por último, Gupta et al. (2019), compararam dois tratamentos de quimioterapia metronômica, ciclofosfamida em monoterapia e combinada com anti-inflamatório não esteroide. Ambos os grupos, constituídos por 26 pessoas, sofreram leucopenias de grau 2 e 3 e linfopenias de grau 2, como efeitos adversos. O grupo ao qual foi administrado apenas ciclofosfamida sofreu ainda leucopenias de grau 3.

Para o diagnóstico precoce de doença renal crônica, a monitorização a longo prazo da concentração sérica de creatinina tem sido sugerida como ferramenta por permitir desenvolver uma linha de base individual (Finch et al. 2018) e detetar incrementos da sua concentração mesmo dentro do intervalo de referência (IRIS 2023a). Pelo presente estudo ser retrospectivo, não foi possível criar linhas de base individuais para cana animal, assim a alteração da função renal, associada à administração de anti-inflamatórios não esteroides a longo prazo, foi detetada pela alteração do valor de creatinina acima do intervalo de referência.

A alteração da função renal associada à administração de anti-inflamatórios não esteroides está relacionada com a diminuição da produção de prostaglandinas vasodilatadoras que regulam o fluxo sanguíneo renal e a filtração glomerular (McLean and Khan 2018; Lees et al. 2022) e, em casos graves, pode mesmo levar a insuficiência renal aguda (Lomas and Grauer 2015). Lomas and Grauer (2015) afirmam ainda que, para além da administração prolongada no tempo, a administração em doses elevadas está associada a efeitos secundários.

Alguns dos anti-inflamatórios não esteroides aprovados para uso crónico na espécie canina são o carprofeno, firocoxib, meloxicam, robenacoxib e cimicoxib (Kukanich et al. 2012; McLean and Khan 2018). Segundo Sparkes et al. (2010), os fármacos deste grupo licenciados para uso prolongado em felinos domésticos eram o meloxicam e o robenacoxib, no entanto, este último só podia ser utilizado durante o período máximo de 6 dias. Mais recentemente, Lees et al. (2022) descreveram que estes dois anti-inflamatórios não esteroides podem ser usados de forma continuada na espécie felina, mas com a particularidade de o robenacoxib também estar registado para utilizações acima de 7 dias.

Gunew et al.(2008) descreveram que a administração de meloxicam na espécie felina, por um longo período de tempo e em baixa dose – 0,01-0,03 mg/kg –, é segura. O mesmo ocorreu na investigação de Charlton et al. (2013), onde foi administrado meloxicam a 22 animais da espécie felina numa dose semelhante ao estudo anterior. Por sua vez, as normas de orientação/*guidelines* de Sparkes et al. (2010) para o uso prolongado de anti-inflamatórios não esteroides em felinos domésticos, indicam uma dose de meloxicam um

pouco mais alta, 0,1 mg/kg no primeiro dia e depois 0,05 mg/kg como dose de manutenção. Quando utilizado em protocolos de quimioterapia metronômica, a dose a que o meloxicam é administrado varia entre 0,05 mg/kg e 0,2 mg/kg (Treggiari et al. 2020; Petrucci et al. 2021; Milevoj et al. 2022).

Em relação ao piroxicam, na maioria dos estudos onde foi utilizado como parte o protocolo de quimioterapia metronômica em animais da espécie canina, este foi administrado na dose 0,3 mg/kg (Elmslie et al. 2008; Spugnini et al. 2014; London et al. 2015; Treggiari et al. 2020; Milevoj et al. 2022).

Em 2011, King et al. analisaram a segurança da administração de robenacoxib em diferentes doses e tempos de tratamento em canídeos domésticos, tendo concluído que a administração diária de robenacoxib é bem tolerada no intervalo de doses de 10 a 40 mg/kg, até 1 mês de tratamento, e nas doses de 2 a 10 mg/kg, uma vez por dia, até 6 meses, sem qualquer tipo de toxicidade associada.

Deste modo, os anti-inflamatórios não esteroides utilizados neste estudo – meloxicam, piroxicam e robenacoxib – são os aprovados para uso crônico ou mais frequentemente aplicados nos estudos de quimioterapia metronômica, tal como as doses a que foram administrados.

Vários são os estudos que avaliam a toxicidade renal associada à administração de anti-inflamatórios não esteroides, como o estudo de Luna et al. (2007), onde foram administrados vários fármacos deste grupo, entre os quais estava o meloxicam, durante 90 dias, em 36 canídeos domésticos. Todos os animais mantiveram os seus valores de creatinina sérica dentro do intervalo de referência. Estes resultados levaram os autores a concluir que este grupo de anti-inflamatórios não esteroides não provocou qualquer evidência de lesão renal, avaliada por urianálise e análises bioquímicas séricas, após administração prolongada.

No estudo de Gunew et al. (2008) já anteriormente referido, também não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre os valores de creatinina do grupo de tratamento com meloxicam e de controlo, no tratamento de dor osteoartrítica em felinos domésticos. Apenas 1 dos 11 animais pertencentes ao grupo de tratamento desenvolveu insuficiência renal crónica. Charlton et al. (2013), apesar de terem observado um aumento da creatinina em 50% dos animais aos quais estava a ser administrado meloxicam, verificaram que apenas 1 dos 12 animais apresentou valores fora do intervalo de referência. Além disso, os valores iniciais e finais de creatinina sérica não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Em relação aos estudos realizados com utilização do robenacoxib, em particular no estudo de King et al. (2011) anteriormente mencionado, realizado com 30 animais da espécie canina, não se verificou a ocorrência de qualquer tipo de toxicidade renal. Foram

ainda realizados dois estudos com administração diária de robenacoxib na espécie felina, um em animais com osteoartrite durante 1 mês (King et al. 2016) e o outro em animais com doença musculoesquelética crônica no período de 4 a 12 semanas (King et al. 2021). No primeiro, não foram detetadas quaisquer evidências de lesão renal. Por sua vez, no segundo estudo foi descrito, como efeito adverso, insuficiência renal em 3 animais, 2 no grupo de tratamento e 1 no grupo de controle. Dado o número de animais incluído, 222 no grupo de tratamento e 227 no grupo de controle, a frequência de insuficiência renal neste estudo é baixa e similar entre grupos.

No que diz respeito aos estudos dos efeitos adversos dos anti-inflamatórios não esteroides na área da quimioterapia metronômica, na maioria deles a avaliação dos efeitos adversos é um objetivo secundário como referido anteriormente. Uma exceção é a investigação de Matsuyama, Woods, et al. (2017), cujo objetivo foi avaliar a toxicidade da quimioterapia metronômica em dias alternados em canídeos domésticos. Durante o período de tratamento, uma das alterações bioquímicas mais frequentes foi a creatinina elevada. Este aumento aconteceu em 7 animais (21%), 6 com meloxicam e 1 com deracoxib.

Desta vez em felinos domésticos, mas com uma frequência semelhante, 3 dos 15 animais (20%) apresentaram toxicidade renal ao fim de 2 meses de tratamento. No entanto, ao fim do 1º mês apenas foi descrita toxicidade renal em 1 dos 24 animais (4%) (Leo et al. 2014). No mesmo ano, Spugnini et al. (2014) não descreveram qualquer efeito adverso associado à administração de piroxicam com ciclofosfamida em baixas doses, em pequenos animais. Da mesma forma, nos resultados dos estudos de Elmslie et al. (2008) e de London et al. (2015) não foram encontradas alterações renais em animais da espécie canina com o mesmo esquema de tratamento.

Por fim, no estudo de Petrucci et al. (2021), 2 dos 23 animais a realizar ciclofosfamida em dose baixa combinada com meloxicam apresentaram toxicidade renal.

De forma geral, a frequência do efeito adverso toxicidade renal ocorrida no presente estudo é semelhante à frequência encontrada nos estudos cujo objetivo foi avaliar a toxicidade renal associada à administração de anti-inflamatórios não esteroides. Já no que se refere à frequência encontrada neste estudo em relação a outros estudos concretizados na área da oncologia, esta encontra-se dentro do intervalo 0% a 21% que tem sido relatado.

Analisando agora cada fármaco, o piroxicam é o anti-inflamatório não esteroide com maior frequência de alteração do valor de creatinina, seguido do meloxicam e por fim o robenacoxib, o que não está de acordo com Hunt et al. (2015), que afirmaram que a frequência de efeitos adversos relatados é similar entre moléculas. No caso do robenacoxib, apesar de não ter sido avaliado em nenhum estudo de quimioterapia metronômica, os resultados obtidos estão de acordo com os estudos de King et al. (2011), King et al. (2016) e King et al. (2021), onde foi avaliada a segurança deste fármaco. Em relação aos outros dois

anti-inflamatórios não esteroides, a frequência de aumento de creatinina no tratamento com meloxicam é muito inferior à do estudo de Matsuyama, Woods, et al. (2017). Pelo contrário, a frequência de aumento de creatinina no tratamento com piroxicam é muito superior à descrita nos vários estudos acima citados.

Relativamente à associação entre a ocorrência de linfopenia e o protocolo terapêutico aplicado, em todos os 3 tempos estudados, o valor de  $p$  foi sempre superior a 0,05, demonstrando não haver relação entre as duas situações. Todavia, é possível observar que todos os animais que realizaram ciclofosfamida em monoterapia, como protocolo de quimioterapia metronômica, sempre que avaliados apresentaram linfopenia.

O protocolo de ciclofosfamida em doses baixas em monoterapia foi utilizado nos animais cujos valores dos parâmetros bioquímicos renais apresentassem alterações ou já tivessem diagnóstico de doença renal crônica. Assim, colocou-se a hipótese desta leucopenia poder estar ligada ou ser exacerbada pela presença desta comorbidade.

No estudo de Yoon et al. (2006), em medicina humana, os autores descrevem uma diminuição do número de linfócitos em pessoas com doença renal em estadios finais em comparação com o grupo controle, pessoas sem doença renal. Na revisão da literatura de Vaziri et al. (2012) sobre os efeitos da uremia na estrutura e função do sistema imunitário, a doença renal no estadio final é associada a uma depressão do sistema imunitário. Esta depressão é levada a cabo por vários mecanismos, entre os quais a diminuição do número de células B e o aumento da renovação e apoptose das células T. O aumento da apoptose das células T foi também demonstrado em pessoas com doença renal crônica que não estavam no estadio final da doença. Mais recentemente, Freitas et al. (2019) publicaram um artigo com 2 objetivos, um dos quais perceber a relação entre a doença renal crônica em estadio final e a diminuição do número de linfócitos em circulação. Neste estudo, os autores concluíram que a doença renal crônica em estadio final está associada a uma redução global do número de linfócitos totais em circulação.

Em medicina veterinária, Kralova et al., em 2010, estudaram as mudanças na função de linfócitos e seus subgrupos em canídeos domésticos com doença renal crônica em vários estádios. Em todos os diferentes estádios de doença renal crônica ocorreu linfopenia, o que vai ao encontro dos estudos em medicina humana. Estes mesmos autores constataram a diminuição do número de linfócitos com o aumento dos sinais clínicos e da azotemia.

Pela sua natureza retrospectiva, o estudo apresentou algumas limitações, entre as quais a amostra reduzida e a ausência de registos médicos ou registos médicos incompletos, estas últimas pela falta de comparência ou o não regresso por parte de alguns detentores. Os registos médicos incompletos levaram também a que não fosse possível o estadiamento da doença renal, importante na parte da nefrotoxicidade e da relação entre a linfopenia e a doença renal crônica. A amostra reduzida tem como consequência um erro de

tipo II muito grande nos testes estatísticos realizados. Outra limitação deste teste foi não existir classificação quanto a graus para as alterações do número de leucócitos e linfócitos como efeitos adversos que quimioterapia.

## **5. Conclusão**

Este estudo permitiu concluir que a quimioterapia metronómica não é isenta de imunossupressão como efeito adverso, uma vez que 12,5% dos animais da amostra desenvolveu leucopenia e mais de metade (56,25%) desenvolveu linfopenia durante o protocolo de tratamento. Dado que, em medicina veterinária, este efeito adverso é muito raramente relatado e, quando relatado, é-o numa frequência absoluta e relativa muito inferior à encontrada neste estudo, é importante que se realizem mais estudos direcionados à avaliação da toxicidade neste tipo de tratamento, que corroborem os resultados apresentados. Estes novos estudos devem ser constituídos por uma amostra populacional maior, devem utilizar protocolos de quimioterapia com ciclofosfamida como composto quimioterápico e devem prever a realização de hemogramas e da sua avaliação de forma frequente e sistemática.

A toxicidade renal associada à administração de anti-inflamatórios não esteroides na quimioterapia não ocorreu com muita frequência, tal como descrito por outros autores. No entanto, recomenda-se a realização e a avaliação dos parâmetros bioquímicos renais antes de se introduzir o anti-inflamatório não esteroide como parte do protocolo de quimioterapia metronómica. Recomendadas são também avaliações periódicas e sistemáticas posteriores dos parâmetros renais, de modo que as alterações renais sejam detetadas de forma precoce. Este tipo de avaliações é também recomendado na literatura.

Em relação à associação entre a ocorrência de linfopenia e o protocolo quimioterápico instituído, apesar deste estudo não demonstrar uma relação estatisticamente significativa, a análise dos dados em termos de frequências parece indicar a ocorrência de algum tipo de associação pela presença de doença renal concomitante. Por ser um estudo preliminar e com uma baixa quantidade de dados a analisar, este tipo de relação deve ser melhor estudada e entendida. Assim devem ser realizados novos estudos para se compreender se a presença de leucopenia poderá estar associada ao protocolo utilizado em si ou à presença de outras comorbilidades, como é o caso da doença renal crónica, ou se estará ligada tanto ao protocolo instaurado como à presença de comorbilidades.

## Bibliografia

- Abrams-Ogg A. 2012. Neutropenia. In: Day MJ, Kohn B, editors. BSAVA manual of canine and feline haematology and transfusion medicine. 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association. p. 117–125.
- Albuquerque TAF, Drummond do Val L, Doherty A, de Magalhães JP. 2018. From humans to hydra: patterns of cancer across the tree of life. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 93(3):1715–1734. doi:10.1111/brv.12415.
- Avallone G, Rasotto R, Chambers JK, Miller AD, Behling-Kelly E, Monti P, Berlato D, Valenti P, Roccabianca P. 2021. Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. *Vet Pathol.* 58(5):809–828. doi:10.1177/0300985821999831.
- Baioni E, Scanziani E, Vincenti MC, Leschiera M, Bozzetta E, Pezzolato M, Desiato R, Bertolini S, Maurella C, Ru G. 2017. Estimating canine cancer incidence: findings from a population-based tumour registry in northwestern Italy. *BMC Vet Res.* 13(1):203. doi:10.1186/s12917-017-1126-0.
- Bergman PJ. 2019. Cancer Immunotherapies. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 49(5):881–902. doi:10.1016/j.cvsm.2019.04.010.
- Biller B, Berg J, Garrett L, Ruslander D, Wearing R, Abbott B, Patel M, Smith D, Bryan C. 2016. 2016 AAHA Oncology Guidelines for Dogs and Cats\*. *J Am Anim Hosp Assoc.* 52(4):181–204. doi:10.5326/JAAHA-MS-6570.
- Boston S, Henderson RA. 2014. Role of Surgery in Multimodal Cancer Therapy for Small Animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 44(5):855–870. doi:10.1016/j.cvsm.2014.05.008.
- Bracha S, Walshaw R, Danton T, Holland S, Ruaux C, Obradovich J. 2014. Evaluation of toxicities from combined metronomic and maximal-tolerated dose chemotherapy in dogs with osteosarcoma. *Journal of Small Animal Practice.* 55(7):369–374. doi:10.1111/jsap.12228.
- Brans M, Daminet S, Mortier F, Duchateau L, Lefebvre HP, Paepe D. 2021. Plasma symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations and glomerular filtration rate in cats with normal and decreased renal function. *J Vet Intern Med.* 35(1):303–311. doi:10.1111/jvim.15975.
- Brønden LB, Nielsen SS, Toft N, Kristensen AT. 2010. Data from the Danish veterinary cancer registry on the occurrence and distribution of neoplasms in dogs in Denmark. *Veterinary Record.* 166(19):586–590. doi:10.1136/vr.b4808.
- Burton JH, Mitchell L, Thamm DH, Dow SW, Biller BJ. 2011. Low-dose cyclophosphamide selectively decreases regulatory T cells and inhibits angiogenesis in dogs with soft tissue sarcoma. *J Vet Intern Med.* 25(4):920–926. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.0753.x.
- Chalifoux N v., Kaiman G, Drobotz KJ, Thawley VJ. 2021. Evaluation of renal and hepatic blood value screening before non-steroidal anti-inflammatory drug administration in dogs. *Journal of Small Animal Practice.* 62(1):12–18. doi:10.1111/jsap.13230.
- Chan CM, Frimberger AE, Moore AS. 2016. Incidence of sterile hemorrhagic cystitis in tumor-bearing dogs concurrently treated with oral metronomic cyclophosphamide

- chemotherapy and furosemide: 55 cases (2009-2015). *J Am Vet Med Assoc.* 249(12):1408–1414. doi:10.2460/javma.249.12.1408.
- Charlton AN, Benito J, Simpson W, Freire M, Lascelles BDX. 2013. Evaluation of the clinical use of tepoxalin and meloxicam in cats. *J Feline Med Surg.* 15(8):678–690. doi:10.1177/1098612X12473994.
- Cobrin AR, Blois SL, Kruth SA, Abrams-Ogg ACG, Dewey C. 2013. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice.* 54(12):647–655. doi:10.1111/jsap.12150.
- Custead MR, Weng HY, Childress MO. 2017. Retrospective comparison of three doses of metronomic chlorambucil for tolerability and efficacy in dogs with spontaneous cancer. *Vet Comp Oncol.* 15(3):808–819. doi:10.1111/vco.12222.
- Daly M, Sheppard S, Cohen N, Nabity M, Moussy A, Hermine O, Wilson H. 2011. Safety of Masitinib Mesylate in Healthy Cats. *J Vet Intern Med.* 25(2):297–302. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.0687.x.
- Day MJ. 2011a. Immunodeficiency Disease. In: *Clinical Immunology of the Dog and Cat.* 2nd ed. Manson Publishing Ltd. p. 287–314.
- Day MJ. 2011b. Basic Immunology. In: *Clinical Immunology of the Dog and Cat.* 2nd ed. Manson Publishing Ltd. p. 11–60.
- DeClue AE, Spann DR. 2017. Leukopenia, Leukocytosis. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* Vol. 1. 8th ed. Elsevier. p. 750–756.
- Dobson JM. 2011. Clinical staging and the TNM classification. In: Dobson JM, Lascelles BDX, editors. *BSAVA manual of canine and feline Oncology.* 3rd edition. British Small Animal Veterinary Association. p. 20–29.
- Dobson JM, Samuel S, Milstein H, Rogers K, Wood JLN. 2002. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J Small Anim Pract.* 43(6):240–6. doi:10.1111/j.1748-5827.2002.tb00066.x.
- Doré M. 2011. Cyclooxygenase-2 expression in animal cancers. *Vet Pathol.* 48(1):254–265. doi:10.1177/0300985810379434.
- Dubreuil P, Letard S, Ciufolini M, Gros L, Humbert M, Castéran N, Borge L, Hajem B, Lermet A, Sippl W, et al. 2009. Masitinib (AB1010), a potent and selective tyrosine kinase inhibitor targeting KIT. *PLoS One.* 4(9). doi:10.1371/journal.pone.0007258.
- Elmslie RE, Glawe P, Dow SW. 2008. Metronomic Therapy with Cyclophosphamide and Piroxicam Effectively Delays Tumor Recurrence in Dogs with Incompletely Resected Soft Tissue Sarcomas. *J Vet Intern Med.* 22(6):1373–1379. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0179.x.
- Finch N. 2014. Measurement of glomerular filtration rate in cats. *J Feline Med Surg.* 16(9):736–748. doi:10.1177/1098612X14545274.
- Finch NC, Syme HM, Elliott J. 2018. Repeated measurements of renal function in evaluating its decline in cats. *J Feline Med Surg.* 20(12):1144–1148. doi:10.1177/1098612X18757591.

- Finotello R, Henriques J, Sabattini S, Stefanello D, Felisberto R, Pizzoni S, Ferrari R, Marconato L. 2017. A retrospective analysis of chemotherapy switch suggests improved outcome in surgically removed, biologically aggressive canine haemangiosarcoma. *Vet Comp Oncol.* 15(2):493–503. doi:10.1111/vco.12193.
- Fonseca-Al CE, Calazans SG. 2015. Metronomic Chemotherapy in Small Animal Practice: An Update. *Asian J Anim Vet Adv.* 11(1):17–23. doi:10.3923/ajava.2016.17.23.
- Freitas GRR, da Luz Fernandes M, Agena F, Jaluul O, Silva SC, Lemos FBC, Coelho V, David-Neto E, Galante NZ. 2019. Aging and end stage renal disease cause a decrease in absolute circulating lymphocyte counts with a shift to a memory profile and diverge in treg population. *Aging Dis.* 10(1):49–61. doi:10.14336/AD.2018.0318.
- Frezoulis P, Harper A. 2022. The role of toceranib phosphate in dogs with non-mast cell neoplasia: A systematic review. *Vet Comp Oncol.* 20(2):362–371. doi:10.1111/vco.12799.
- Garden OA, Volk SW, Mason NJ, Perry JA. 2018. Companion animals in comparative oncology: One Medicine in action. *Vet J.* 240:6–13. doi:10.1016/j.tvjl.2018.08.008.
- Gaspar TB, Henriques J, Marconato L, Queiroga FL. 2018. The use of low-dose metronomic chemotherapy in dogs-insight into a modern cancer field. *Vet Comp Oncol.* 16(1):2–11. doi:10.1111/vco.12309.
- Gebbia V, Boussen H, Valerio MR. 2012. Oral metronomic cyclophosphamide with and without methotrexate as palliative treatment for patients with metastatic breast carcinoma. *Anticancer Res.* 32(2):529–36.
- Gorbet M-J, Ranjan A. 2020. Cancer immunotherapy with immunoadjuvants, nanoparticles, and checkpoint inhibitors: Recent progress and challenges in treatment and tracking response to immunotherapy. *Pharmacol Ther.* 207:107456. doi:10.1016/j.pharmthera.2019.107456.
- Graf R, Grüntzig K, Hässig M, Axhausen KW, Fabrikant S, Welle M, Meier D, Guscetti F, Folkers G, Otto V, et al. 2015. Swiss Feline Cancer Registry: A Retrospective Study of the Occurrence of Tumours in Cats in Switzerland from 1965 to 2008. *J Comp Pathol.* 153(4):266–77. doi:10.1016/j.jcpa.2015.08.007.
- Grüntzig K, Graf R, Hässig M, Welle M, Meier D, Lott G, Erni D, Schenker NS, Guscetti F, Boo G, et al. 2015. The Swiss Canine Cancer Registry: A Retrospective Study on the Occurrence of Tumours in Dogs in Switzerland from 1955 to 2008. *J Comp Pathol.* 152(2–3):161–171. doi:10.1016/J.JCPA.2015.02.005.
- Gunew MN, Menrath VH, Marshall RD. 2008. Long-term safety, efficacy and palatability of oral meloxicam at 0.01-0.03 mg/kg for treatment of osteoarthritic pain in cats. *J Feline Med Surg.* 10(3):235–241. doi:10.1016/j.jfms.2007.10.007.
- Gupta R, Cristea M, Frankel P, Ruel C, Chen C, Wang Y, Morgan R, Leong L, Chow W, Koczywas M, et al. 2019. Randomized trial of oral cyclophosphamide versus oral cyclophosphamide with celecoxib for recurrent epithelial ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer. *Cancer Treat Res Commun.* 21:100155. doi:10.1016/j.ctarc.2019.100155.
- Gyles C. 2015. A new approach to cancer. *Can Vet J.* 56(4):321–5.

- Harper A, Blackwood L. 2017. Toxicity of metronomic cyclophosphamide chemotherapy in a UK population of cancer-bearing dogs: a retrospective study. *Journal of Small Animal Practice*. 58(4):227–230. doi:10.1111/jsap.12635.
- Horikirizono H, Ishigaki K, Amaha T, Iizuka K, Nagumo T, Tamura K, Seki M, Edamura K, Asano K. 2019. Inhibition of growth of canine-derived vascular endothelial cells by non-steroidal anti-inflammatory drugs and atrial natriuretic peptide. *J Vet Med Sci*. 81(5):776–779. doi:10.1292/jvms.18-0575.
- Hunt JR, Dean RS, Davis GND, Murrell JC. 2015. An analysis of the relative frequencies of reported adverse events associated with NSAID administration in dogs and cats in the United Kingdom. *Veterinary Journal*. 206(2):183–190. doi:10.1016/j.tvjl.2015.07.025.
- [IRIS] International Renal Interest Society. 2023a. Diagnosing, Staging, and Treating Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. :1–3. [accessed 2023 Jan 10]. [www.iris-kidney.com](http://www.iris-kidney.com).
- [IRIS] International Renal Interest Society. 2023b. IRIS Staging of CKD. :1–5. [accessed 2023 Jan 10]. [http://www.iris-kidney.com/pdf/2\\_IRIS\\_Staging\\_of\\_CKD\\_2023.pdf](http://www.iris-kidney.com/pdf/2_IRIS_Staging_of_CKD_2023.pdf).
- Kent MS, Turek MM, Farrelly J. 2018. Recent advances in veterinary radiation oncology. *Vet Comp Oncol*. 16(2):167–169. doi:10.1111/vco.12366.
- King JN, Arnaud JP, Goldenthal EI, Gruet P, Jung M, Seewald W, Lees P. 2011. Robenacoxib in the dog: Target species safety in relation to extent and duration of inhibition of COX-1 and COX-2. *J Vet Pharmacol Ther*. 34(3):298–311. doi:10.1111/j.1365-2885.2010.01209.x.
- King JN, King S, Budsberg SC, Lascelles BDX, Bienhoff SE, Roycroft LM, Roberts ES. 2016. Clinical safety of robenacoxib in feline osteoarthritis: results of a randomized, blinded, placebo-controlled clinical trial. *J Feline Med Surg*. 18(8):632–642. doi:10.1177/1098612X15590870.
- King JN, Seewald W, Forster S, Fritton G, Adrian DE, Lascelles BDX. 2021. Clinical safety of robenacoxib in cats with chronic musculoskeletal disease. *J Vet Intern Med*. 35(5):2384–2394. doi:10.1111/jvim.16148.
- Klopfleisch R, Kohn B, Gruber AD. 2016. Mechanisms of tumour resistance against chemotherapeutic agents in veterinary oncology. *Veterinary Journal*. 207:63–72. doi:10.1016/j.tvjl.2015.06.015.
- Kralova S, Leva L, Toman M. 2010. Changes in lymphocyte function and subsets in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *Can J Vet Res*. 74(2):124–9.
- Ku C-K, Kass PH, Christopher MM. 2017. Cytologic-histologic concordance in the diagnosis of neoplasia in canine and feline lymph nodes: a retrospective study of 367 cases. *Vet Comp Oncol*. 15(4):1206–1217. doi:10.1111/vco.12256.
- Kukanich B, Bidgood T, Knesl O. 2012. Clinical pharmacology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 39(1):69–90. doi:10.1111/j.1467-2995.2011.00675.x.
- Kummar S, Oza AM, Fleming GF, Sullivan DM, Gandara DR, Naughton MJ, Villalona-Calero MA, Morgan RJ, Szabo PM, Youn A, et al. 2015. Randomized trial of oral cyclophosphamide and veliparib in high-grade serous ovarian, primary peritoneal, or

- fallopian tube cancers, or BRCA-mutant ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*. 21(7):1574–1582. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2565.
- Kummar S, Wade JL, Oza AM, Sullivan D, Chen AP, Gandara DR, Ji J, Kinders RJ, Wang L, Allen D, et al. 2016. Randomized phase II trial of cyclophosphamide and the oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor veliparib in patients with recurrent, advanced triple-negative breast cancer. *Invest New Drugs*. 34(3):355–63. doi:10.1007/s10637-016-0335-x.
- Lana S, U'ren L, Plaza S, Elmslie R, Gustafson D, Morley P, Dow S. 2007. Continuous low-dose oral chemotherapy for adjuvant therapy of splenic hemangiosarcoma in dogs. *J Vet Intern Med*. 21(4):764–9. doi:10.1892/0891-6640(2007)21[764:clocfa]2.0.co;2.
- Leach TN, Childress MO, Greene SN, Mohamed AS, Moore GE, Schrempp DR, Lahrman SR, Knapp DW. 2012. Prospective trial of metronomic chlorambucil chemotherapy in dogs with naturally occurring cancer. *Vet Comp Oncol*. 10(2):102–12. doi:10.1111/j.1476-5829.2011.00280.x.
- Lees P, Toutain P, Elliott J, Giraudel JM, Pelligand L, King JN. 2022. Pharmacology, safety, efficacy and clinical uses of the COX-2 inhibitor robenacoxib. *J Vet Pharmacol Ther*. 45(4):325–351. doi:10.1111/jvp.13052.
- Leo C, Stell A, Borrego J, Martinez de Merlo E, Ruess-Melzer K, Lara-Garcia A. 2014. Evaluation of low-dose metronomic (LDM) cyclophosphamide toxicity in cats with malignant neoplasia. *J Feline Med Surg*. 16(8):671–678. doi:10.1177/1098612X13518938.
- Liptak JM. 2009a. The principals of surgical oncology: diagnosis and staging. *Compend Contin Educ Vet*. 31(9):E1-12; quiz E13.
- Liptak JM. 2009b. The principals of surgical oncology: surgery and multimodality therapy. *Compend Contin Educ Vet*. 31(9):E1-14; quiz E14.
- Lomas AL, Grauer GF. 2015. The Renal Effects of NSAIDs in Dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*. 51(3):197–203. doi:10.5326/JAAHA-MS-6239.
- Londhe P, Gutwillig M, London C. 2019. Targeted Therapies in Veterinary Oncology. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 49(5):917–931. doi:10.1016/j.cvsm.2019.04.005.
- London CA, Gardner HL, Mathie T, Stingle N, Portela R, Pennell ML, Clifford CA, Rosenberg MP, Vail DM, Williams LE, et al. 2015. Impact of toceranib/piroxicam/cyclophosphamide maintenance therapy on outcome of dogs with appendicular osteosarcoma following amputation and carboplatin chemotherapy: A multi-institutional study. *PLoS One*. 10(4). doi:10.1371/journal.pone.0124889.
- Luna SPL, Basílio AC, Steagall PVM, Machado LP, Moutinho FQ, Takahira RK, Brandão CVS. 2007. Evaluation of adverse effects of long-term oral administration of carprofen, etodolac, flunixin meglumine, ketoprofen, and meloxicam in dogs. *Am J Vet Res*. 68(3):258–264. doi:10.2460/ajvr.68.3.258.
- MacDonald V. 2009. Chemotherapy: managing side effects and safe handling. *Can Vet J*. 50(6):665–8.
- Mander K, Finnie J. 2018. Tumour angiogenesis, anti-angiogenic therapy and chemotherapeutic resistance. *Aust Vet J*. 96(10):371–378. doi:10.1111/avj.12747.

- Mansfield C. 2012. Eosinophilia. In: Day MJ, Kohn B, editors. BSAVA manual of canine and feline haematology and transfusion medicine. 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association. p. 126–130.
- Manuali E, Forte C, Vichi G, Genovese DA, Mancini D, de Leo AAP, Cavicchioli L, Pierucci P, Zappulli V. 2020. Tumours in European Shorthair cats: a retrospective study of 680 cases. *J Feline Med Surg.* 22(12):1095–1102. doi:10.1177/1098612X20905035.
- Marchetti V, Giorgi M, Fioravanti A, Finotello R, Citi S, Canu B, Orlandi P, di Desidero T, Danesi R, Bocci G. 2012. First-line metronomic chemotherapy in a metastatic model of spontaneous canine tumours: a pilot study. *Invest New Drugs.* 30(4):1725–1730. doi:10.1007/s10637-011-9672-y.
- Matsuyama A, Poirier VJ, Mantovani F, Foster RA, Mutsaers AJ. 2017. Adjuvant doxorubicin with or without metronomic cyclophosphamide for canine splenic hemangiosarcoma. *J Am Anim Hosp Assoc.* 53(6):304–312. doi:10.5326/JAAHA-MS-6540.
- Matsuyama A, Schott CR, Wood GA, Richardson D, Woods JP, Mutsaers AJ. 2018. Evaluation of metronomic cyclophosphamide chemotherapy as maintenance treatment for dogs with appendicular osteosarcoma following limb amputation and carboplatin chemotherapy. *J Am Vet Med Assoc.* 252(11):1377–1383. doi:10.2460/javma.252.11.1377.
- Matsuyama A, Woods JP, Mutsaers AJ. 2017. Evaluation of toxicity of a chronic alternate day metronomic cyclophosphamide chemotherapy protocol in dogs with naturally occurring cancer. *Can Vet J.* 58(1):51–55.
- McEntee MC. 2006. Veterinary radiation therapy: review and current state of the art. *J Am Anim Hosp Assoc.* 42(2):94–109. doi:10.5326/0420094.
- McKnight JA. 2003. Principles of chemotherapy. *Clin Tech Small Anim Pract.* 18(2):67–72. doi:10.1053/svms.2003.36617.
- McLean MK, Khan SA. 2018. Toxicology of Frequently Encountered Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 48(6):969–984. doi:10.1016/j.cvsm.2018.06.003.
- Milevoj N, Nemeč A, Tozon N. 2022. Metronomic Chemotherapy for Palliative Treatment of Malignant Oral Tumors in Dogs. *Front Vet Sci.* 9. doi:10.3389/fvets.2022.856399.
- Mitchell L, Thamm DH, Biller BJ. 2012. Clinical and Immunomodulatory Effects of Toceranib Combined with Low-Dose Cyclophosphamide in Dogs with Cancer. *J Vet Intern Med.* 26(2):355–362. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.00883.x.
- Modiano JF, Kim JH. 2020. The Cancer Etiology. In: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. 6th Edition. Elsevier. p. 1–26.
- Mutsaers AJ. 2007. Chemotherapy: New Uses for Old Drugs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 37(6):1079–1090. doi:10.1016/j.cvsm.2007.07.002.
- Nolan MW, Dobson JM. 2018. The future of radiotherapy in small animals – should the fractions be coarse or fine? *Journal of Small Animal Practice.* 59(9):521–530. doi:10.1111/jsap.12871.
- North SM, Banks TA. 2009. Principles of Cytology and Pathology. In: Small animal oncology: an introduction. 1st Edition. Saunders/Elsevier. p. 17–23.

- Pang LY, Argyle DJ. 2009. Using naturally occurring tumours in dogs and cats to study telomerase and cancer stem cell biology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 1792(4):380–391. doi:10.1016/J.BBADIS.2009.02.010.
- Pelander L, Häggström J, Larsson A, Syme H, Elliott J, Heiene R, Ljungvall I. 2019. Comparison of the diagnostic value of symmetric dimethylarginine, cystatin C, and creatinine for detection of decreased glomerular filtration rate in dogs. *J Vet Intern Med*. 33(2):630–639. doi:10.1111/jvim.15445.
- Perroud HA, Alasino CM, Rico MJ, Mainetti LE, Queralt F, Pezzotto SM, Rozados VR, Scharovsky OG. 2016. Metastatic breast cancer patients treated with low-dose metronomic chemotherapy with cyclophosphamide and celecoxib: clinical outcomes and biomarkers of response. *Cancer Chemother Pharmacol*. 77(2):365–74. doi:10.1007/s00280-015-2947-9.
- Petrucci GN, Henriques J, Lobo L, Vilhena H, Figueira AC, Canadas-Sousa A, Dias-Pereira P, Prada J, Pires I, Queiroga FL. 2021. Adjuvant doxorubicin vs metronomic cyclophosphamide and meloxicam vs surgery alone for cats with mammary carcinomas: A retrospective study of 137 cases. *Vet Comp Oncol*. 19(4):714–723. doi:10.1111/vco.12660.
- Polton G, Finotello R, Sabattini S, Rossi F, Laganga P, Vasconi ME, Barbanera A, Stiborova K, Rohrer Bley C, Marconato L. 2018. Survival analysis of dogs with advanced primary lung carcinoma treated by metronomic cyclophosphamide, piroxicam and thalidomide. *Vet Comp Oncol*. 16(3):399–408. doi:10.1111/vco.12393.
- Rasmussen RM, Kurzman ID, Biller BJ, Guth A, Vail DM. 2017. Phase I lead-in and subsequent randomized trial assessing safety and modulation of regulatory T cell numbers following a maximally tolerated dose doxorubicin and metronomic dose cyclophosphamide combination chemotherapy protocol in tumour-bearing dogs. *Vet Comp Oncol*. 15(2):421–430. doi:10.1111/vco.12179.
- Registo Oncológico Animal. 2020. 1st ed. Vet-OncoNet – Veterinary Oncology Network.
- Reynolds BS, Lefebvre HP. 2013. Feline CKD: Pathophysiology and risk factors - what do we now? *J Feline Med Surg*. 15(S1):3–14. doi:10.1177/1098612X13495234.
- Ross L. 2022. Acute Kidney Injury in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 52(3):659–672. doi:10.1016/j.cvsm.2022.01.005.
- Ruple A, Bonnet BN, Page RL. 2020. Epidemiology and the Evidence-Based Medicine Approach. In: *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 6th Edition. Elsevier. p. 81–97.
- Sá AI da S. 2016. Avaliação dos efeitos secundários induzidos pela administração oral de ciclofosfamida em regime de quimioterapia metronómica em cães e gatos – estudo retrospectivo de 36 casos [dissertação de mestrado]. [Lisboa]: FMV - Universidade de Lisboa.
- Sargent HJ, Elliott J, Jepson RE. 2021. The new age of renal biomarkers: does SDMA solve all of our problems? *Journal of Small Animal Practice*. 62(2):71–81. doi:10.1111/jsap.13236.
- Satturwar S, Pantanowitz L. 2021. Architectural aspects of cell-blocks as small biopsies. *Cytojournal*. 18(1). doi:10.25259/CYTOJOURNAL\_4\_2021.

- Schrempp DR, Childress MO, Stewart JC, Leach TN, Tan KM, Abbo AH, de Gortari AE, Bonney PL, Knapp DW. 2013. Metronomic administration of chlorambucil for treatment of dogs with urinary bladder transitional cell carcinoma. *J Am Vet Med Assoc.* 242(11):1534–1538. doi:10.2460/javma.242.11.1534.
- Setyo L, Ma M, Bunn T, Wyatt K, Wang P. 2017. Furosemide for prevention of cyclophosphamide-associated sterile haemorrhagic cystitis in dogs receiving metronomic low-dose oral cyclophosphamide. *Vet Comp Oncol.* 15(4):1468–1478. doi:10.1111/vco.12292.
- Sharkey LC, Dial SM, Matz ME. 2007. Maximizing the Diagnostic Value of Cytology in Small Animal Practice. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice.* 37(2):351–372. doi:10.1016/j.cvsm.2006.11.004.
- Sharkey LC, Wellman ML. 2011. Diagnostic Cytology in Veterinary Medicine: A Comparative and Evidence-Based Approach. *Clin Lab Med.* 31(1):1–19. doi:10.1016/j.cll.2010.10.005.
- Shidham VB. 2019. CellBlockistry: Chemistry and art of cell-block making - A detailed review of various historical options with recent advances. *Cytojournal.* 16. doi:10.4103/CYTOJOURNAL.CYTOJOURNAL\_20\_19.
- Smith AN. 2014. Advances in Veterinary Oncology. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 44(5):xi–xii. doi:10.1016/j.cvsm.2014.06.004.
- Smith PAD, Burnside S, Helm JR, Morris JS. 2019. Owner perceptions of radiotherapy treatment for veterinary patients with cancer. *Vet Comp Oncol.* 17(3):221–233. doi:10.1111/vco.12454.
- Sparkes AH, Heiene R, Lascelles BDX, Malik R, Sampietro LR, Robertson S, Scherk M, Taylor P. 2010. ISFM and AAFP consensus guidelines. Long-term use of NSAIDs in cats. *J Feline Med Surg.* 12(7):521–538. doi:10.1016/j.jfms.2010.05.004.
- Spugnini EP, Buglioni S, Carocci F, Francesco M, Vincenzi B, Fanciulli M, Fais S. 2014. High dose lansoprazole combined with metronomic chemotherapy: A phase I/II study in companion animals with spontaneously occurring tumors. *J Transl Med.* 12(1). doi:10.1186/s12967-014-0225-y.
- Szweda M, Rychlik A, Babińska I, Pomianowski A. 2019. Significance of cyclooxygenase-2 in oncogenesis. *J Vet Res.* 63(2):215–224. doi:10.2478/jvetres-2019-0030.
- Tomasetti C, Li L, Vogelstein B. 2017. Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science (1979).* 355(6331):1330–1334. doi:10.1126/science.aaf9011.
- Treggiari E, Borrego JF, Gramer I, Valenti P, Harper A, Finotello R, Toni C, Laomedonte P, Romanelli G. 2020. Retrospective comparison of first-line adjuvant anthracycline vs metronomic-based chemotherapy protocols in the treatment of stage I and II canine splenic haemangiosarcoma. *Vet Comp Oncol.* 18(1):43–51. doi:10.1111/vco.12548.
- Tripp CD, Fidel J, Anderson CL, Patrick M, Pratt C, Sellon R, Bryan JN. 2011. Tolerability of metronomic administration of lomustine in dogs with cancer. *J Vet Intern Med.* 25(2):278–84. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.0684.x.

- Tvedten H. 2012. Disorders of leucocyte number. In: Day MJ, Kohn B, editors. BSAVA manual of canine and feline haematology and transfusion medicine. 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association. p. 98–106.
- Ustun-Alkan F, Bakirel T, Üstüner O, Anlas C, Cinar S, Yıldırım F, Gürel A. 2021. Effects of tyrosine kinase inhibitor-masitinib mesylate on canine mammary tumour cell lines. *J Vet Res.* 65(3):351–359. doi:10.2478/jvetres-2021-042.
- Vascellari M, Baioni E, Ru G, Carminato A, Mutinelli F. 2009. Animal tumour registry of two provinces in northern Italy: incidence of spontaneous tumours in dogs and cats. *BMC Vet Res.* 5. doi:10.1186/1746-6148-5-39.
- Vaziri ND, Pahl M v., Crum A, Norris K. 2012. Effect of Uremia on Structure and Function of Immune System. *Journal of Renal Nutrition.* 22(1):149–156. doi:10.1053/j.jrn.2011.10.020.
- Wendelburg KM, Price LL, Burgess KE, Lyons JA, Lew FH, Berg J. 2015. Survival time of dogs with splenic hemangiosarcoma treated by splenectomy with or without adjuvant chemotherapy: 208 cases (2001–2012). *J Am Vet Med Assoc.* 247(4):393–403. doi:10.2460/javma.247.4.393.
- Wichmann V, Eigeliene N, Saarenheimo J, Jekunen A. 2020. Recent clinical evidence on metronomic dosing in controlled clinical trials: a systematic literature review. *Acta Oncol (Madr).* 59(7):775–785. doi:10.1080/0284186X.2020.1744719.
- Wong Chui Na, Wong Chui Nguk, Liu FS. 2017. Continuous oral cyclophosphamide as salvage or maintenance therapy in ovarian, primary peritoneal, and fallopian tube cancers: A retrospective, single institute study. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 56(3):302–305. doi:10.1016/j.tjog.2017.04.006.
- Yerramilli Murthy, Farace G, Quinn J, Yerramilli Maha. 2016. Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 46(6):961–993. doi:10.1016/j.cvsm.2016.06.011.
- Yoon JW, Gollapudi S, Pahl M v., Vaziri ND. 2006. Naïve and central memory T-cell lymphopenia in end-stage renal disease. *Kidney Int.* 70(2):371–376. doi:10.1038/sj.ki.5001550.
- Zandvliet M, Teske E. 2015. Mechanisms of drug resistance in veterinary oncology- A review with an emphasis on canine lymphoma. *Vet Sci.* 2(3):150–184. doi:10.3390/vetsci2030150.

## Anexos

### Anexo 1 – Tabela com valores de hemograma

Animal	Espécie	1 mês			4 meses			7 meses		
		Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos	Leucócitos	Neutrófilos	Linfócitos
1	Felina				6,06	4121	1333	7,38	6273	812
2	Canina	27,02	8646	17563	19,7	11032	8274	16,6	10790	4150
3	Canina				11	8690	1100			
4	Canina	10,92	7644	1638						
5	Canina				7,76	5665	1086			
6	Canina	7,81	5936	1093	7,47	6200	523			
7	Canina	10,6	9434	848	17,6	16192	880			
8	Canina	11	8800	1430						
9	Felina	10,8	8964	1188	12,3	9594	1230	13,6	11968	408
10	Canina	6,78	5153	542	6,67	5536	267	6,45	5354	387
11	Canina	9,24	6653	1294	7,09	5176	1418			
12	Felina				14,4	13104	864	3,97	3573	318
13	Canina	8,8	5984	1936	6,07	4492	1093	9,4	8178	752
14	Canina	8,74	7167	1224						
15	Felina	4,16	2900	910	5	3960	700			
16	Canina				6,22	4720	880			

## Anexo 2 – Tabela com valores de análises bioquímicas renais

Animal	Espécie	Início tratamento	1 mês	4 meses	7 meses
1	Felina	Creatinina normal	Azotemia		
2	Canina	0,96		1,758	
3	Canina	1,56	1,47	1,63	
4	Canina	0,64	SDMA (7)		
5	Canina	SDMA (13)			
6	Canina	1,1	1,628		
7	Canina	0,9		0,9	
8	Canina	0,874			
9	Felina	1,1	Creatinina normal		
10	Canina	0,98			
11	Canina	0,927			
12	Canina	1,03	1,26	0,8	
13	Canina	SDMA (10)	0,74		
14	Canina	Creatinina normal	0,6		
15	Felina	Creatinina normal	0,64		1,6
16	Canina	1,171	1,19		
17	Canina	0,843		0,994	
18	Canina	0,91	1,47		
19	Canina	1,26	1,05	1,1	
20	Felina	Creatinina normal	1,81	1,569	1,368
21	Canina	1,25	0,9	1,58	