

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**

**CÂMPUS JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DOS MARCADORES SOROLÓGICOS  
sIL 2R E CA 125 COMO INDICADORES PROGNÓSTICOS  
DE LINFOMA CUTÂNEO E LINFOMA MULTICÊNTRICO EM  
CÃES**

**Isabela Cristina Canavari**

**Médica veterinária**

**2018**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**

**CÂMPUS JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DOS MARCADORES SOROLÓGICOS  
sIL 2R E CA 125 COMO INDICADORES PROGNÓSTICOS  
DE LINFOMA CUTÂNEO E LINFOMA MULTICÊNTRICO EM  
CÃES**

**Isabela Cristina Canavari**

**Orientadora: Profa. Dra. Mirela Tinucci Costa**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

**2018**

Canavari, Isabela Cristina  
C213a Avaliação dos marcadores sorológicos sIL 2R e CA 125 como indicadores prognósticos de linfoma cutâneo e linfoma multicêntrico em cães / Isabela Cristina Canavari. -- Jaboticabal, 2018 x, 41 p. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018  
Orientadora: Mirela Tinucci Costa  
Banca examinadora: Érika Maria Terra, Felipe Augusto Ruiz Sueiro  
Bibliografia

1. Cães. 2. Linfoma. 3. Biomarcadores. 4. Prognóstico. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-006:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DOS MARCADORES SOROLÓGICOS sIL 2R E CA 125 COMO INDICADORES PROGNÓSTICOS DE LINFOMA CUTÂNEO E LINFOMA MULTICÊNTRICO EM CÃES

AUTORA: ISABELA CRISTINA CANAVARI

ORIENTADORA: MIRELA TINUCCI COSTA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MIRELA TINUCCI COSTA  
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. ERIKA MARIA TERRA  
Campus 1 / Centro Universitário Central Paulista - São Carlos, SP

Pesquisador Dr. FELIPE AUGUSTO RUIZ SUEIRO  
Laboratório VETPAT / Patologia e Biologia Molecular Veterinária - Campinas, SP

Jaboticabal, 26 de fevereiro de 2018

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Isabela Cristina Canavari nasceu em Pitangueiras-SP, em 2 de janeiro de 1991. Concluiu o Ensino Médio no Centro Educacional Poetisa “Cecília Meireles”, em 2008. Ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, câmpus de Jaboticabal-SP, em 2009. Durante a graduação, concluiu dois projetos de Iniciação Científica, entre 2011 e 2013, sob orientação do Professor Doutor Wilter Russiano Vicente e coorientação da Professora Doutora Juliana Borges Silva. Participou e organizou diversos cursos e projeto de extensão, concluindo a graduação em 2013. Entre os anos de 2014 e 2016, realizou a Residência Multiprofissional em Saúde, com ênfase em clínica médica de pequenos animais, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, câmpus de Jaboticabal, participando da Associação dos Médicos Veterinários Residentes (AMVR) da mesma instituição. Em 2018, concluiu o Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV-UNESP Jaboticabal, na área de Clínica Médica Veterinária, sob orientação da Professora Doutora Mirela Tinucci Costa e foi aprovada no processo seletivo para o curso de Doutorado pelo mesmo programa.

## **AGRADECIMENTOS**

*Meu agradecimento inicial não poderia ser outro, além de Deus. Sem Ele não seria possível a vida, a força e a coragem de aceitar desafios e vencer as dificuldades impostas ao longo da nossa jornada.*

*Aos meus pais, José Carlos e Isaura, meus maiores exemplos, aqueles que ajudaram a construir meu caráter, aqueles que me ensinaram a honestidade, aqueles que mais me incentivaram a chegar até aqui. Essa nova etapa conquistada é tão deles, quanto minha...eles me ensinaram como alcançá-la, não pelos meios científicos ou técnicos, mas por algo mais importante, por não me deixarem desistir em momento algum e enfatizar, dia após dia, como é importante a recompensa que um dia virá...Meu amor e muito obrigada são todos de vocês. Agradeço também pela família que me deram, minhas irmãs Tati, Flávia e Josy e meus sobrinhos João Gabriel, Antonio e Antonella. Vocês são essenciais em minha vida.*

*Ao meu companheiro de vida...meu melhor amigo e meu amor Rafael. Aquele que me viu evoluir e passar por todas as fases ao longo desses anos juntos. Aquele que nunca reclamou se eu tivesse qualquer compromisso profissional que não permitisse o lazer ou tempo livre aos fins de semana. Aquele que sempre me incentivou a querer evoluir, profissionalmente. Aquele que ajudou a me segurar em cada momento de desânimo e insegurança. Aquele que fala com o maior orgulho do mundo quando alcanço qualquer conquista. Obrigada pelo seu amor, carinho e companheirismo.*

*Aos meus amigos de infância que participam da minha vida até hoje...obrigada pela vida compartilhada até aqui. Obrigada por todos os momentos vividos e obrigada por fazerem nossos reencontros serem sempre tão especiais. Falando em especial, essa é a parte mais difícil e aquela que eu mais hesitei em redigir...Dedico esse meu trabalho ao meu Eterno Melhor Amigo Renan, que partiu tão cedo para longe de nós, mas que sei que está presente em todos os nossos momentos juntos, pra sempre. Meu amor, amizade e saudades serão eternos, assim como a dor de não tê-lo ao meu lado, fisicamente. Proteja-nos, de onde estiver...*

*Agora meus agradecimentos vão para a segunda parte da minha vida...em Jaboticabal e na FCAV. Seria impossível não ter pessoas tão importantes pra mim no lugar que me acolheu como uma verdadeira casa e família.*

*Agradeço, primeiramente, à minha orientadora, Professora Mirela, por ter aceitado me ajudar a trilhar grande parte do meu caminho profissional, já que sempre foi minha querida professora, desde a graduação. Fico muito honrada em poder tê-la como exemplo, e, permita-me dizer, como uma “segunda Mãe”.*

*Agradeço a todos os meus amigos e colegas de profissão, desde a Graduação, passando pela Residência e Mestrado, no Hospital Veterinário. Muitos de vocês contribuíram para meu crescimento como Médica Veterinária e alguns eu terei sempre ao meu lado como verdadeiros amigos, dos quais sempre guardarei lembranças felizes e histórias hilárias...afinal, o HV é sensacional...*

*Agradeço também a todos os professores e funcionários dessa faculdade que eu amo e do hospital veterinário, no qual eu tenho o maior orgulho do mundo em poder trabalhar e aprender. Com vocês, com certeza pude obter muito mais aprendizado, especialmente com relação às lições da vida.*

*Por fim, agradeço aos principais motivos do meu ingresso nessa profissão. Aqueles pelos quais tento dar meu melhor, aprender cada dia mais e poder ter o prazer de cuidar...os animais. Eles não falam nossa língua, mas seus olhares nos dizem muito mais do que qualquer palavra. Seu carinho compensa qualquer dificuldade e frustração encontradas no dia a dia. Espero conseguir retribuir à altura, todo esse amor, aos meus pacientes queridos e aos meus melhores amigos Duda, Pitty, Branco, Tom e Kika, que se tornou uma linda estrela e sempre será lembrada com muito amor.*

*Agradeço à CAPES e FAPESP (Processo 2016/00128-5) pela bolsa e auxílio concedidos à pesquisa, que possibilitaram a realização dessa pesquisa.*

*Acredito que tenho os melhores motivos para agradecer...*

## SUMÁRIO

CERTIFICADO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT .....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
LISTA DE TABELAS .....	vi
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
Introdução e Revisão de Literatura .....	1
Referências.....	6
CAPÍTULO 2 – Avaliação dos marcadores sorológicos sIL 2R e CA 125 como indicadores prognósticos de linfoma cutâneo e linfoma multicêntrico em cães .....	10
Resumo.....	10
Abstract.....	10
Introdução .....	12
Material e métodos.....	14
Resultados .....	15
Discussão .....	18
Conclusões .....	23
Referências.....	23

\*CAPÍTULO 2 redigido nas normas da Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.




**CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado “**Avaliação de marcadores sorológicos como indicadores prognósticos de linfoma em cães**” protocolo nº 9.252/16, sob a responsabilidade da Profª Drª Mirela Tinucci Costa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 18 de agosto de 2016.

Vigência do Projeto	01/08/2016 a 01/03/2018
Espécie / Linhagem	Canina
Nº de animais	30 (20 do grupo com doença e 10 do grupo controle)
Peso / Idade	Sem peso ou idade pré-definidos
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Animais domiciliados.

Jaboticabal, 18 de agosto de 2016.

  
**Profª Drª Lizandra Amoroso**  
Coordenadora – CEUA

## AVALIAÇÃO DOS MARCADORES SOROLÓGICOS sIL 2R E CA 125 COMO INDICADORES PROGNÓSTICOS DE LINFOMA CUTÂNEO E LINFOMA MULTICÊNTRICO EM CÃES

**RESUMO** – A expectativa de vida dos cães está aumentando e com isso, o diagnóstico de diferentes neoplasias, particularmente os linfomas, um dos tipos tumorais mais prevalentes. O prognóstico desses pacientes tem se pautado nas avaliações clínicas, laboratoriais e de imagem, as quais podem não indicar a presença da doença em início de curso. Com este estudo, objetivou-se avaliar a eficácia de marcadores sorológicos para melhor estabelecer o prognóstico de cães com linfoma cutâneo e multicêntrico. Foram realizadas dosagens do receptor solúvel de Interleucina 2 (sIL 2R) no soro de 9 cães saudáveis (grupo 1), 20 cães com linfoma cutâneo (grupo 2) e 9 cães com linfoma multicêntrico (grupo 3), e do Antígeno do câncer 125 (CA 125) em 14 cães saudáveis (grupo 4), 13 cães com linfoma cutâneo (grupo 5) e 11 cães com linfoma multicêntrico (grupo 6). Adicionalmente foram avaliados os tempos de sobrevivência, os resultados de exames hematológicos e de imagem dos pacientes, os quais foram relacionados com as concentrações séricas dos marcadores sorológicos. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre as dosagens dos marcadores sIL 2R nos grupos 1, 2 e 3 e de CA 125 entre os grupos 4, 5 e 6. Houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os grupos 2 e 5 (linfoma cutâneo) e 3 e 6 (linfoma multicêntrico) em relação ao tempo de sobrevivência, o qual foi menor nos animais diagnosticados com linfoma cutâneo. Em relação às contagens hematológicas, apenas o linfócitos diferiram entre os grupos 2 e 3 ( $p = 0,0265$ ) e 5 e 6 ( $p = 0,0356$ ). Os resultados desse estudo mostraram que as concentrações dos marcadores sorológicos sIL 2R e CA 125 não diferiram entre cães saudáveis e os diagnosticados com linfoma cutâneo ou multicêntrico, não evidenciando o potencial valor prognóstico nos casos de cães com linfoma.

**Palavras-chave:** cães, linfoma, biomarcadores, prognóstico.

## EVALUATION OF THE SEROLOGICAL MARKERS sIL 2R AND CA 125 AS PROGNOSTIC INDICATORS OF CUTANEOUS AND MULTICENTRIC LYMPHOMA IN DOGS

**ABSTRACT** – The life expectancy of dogs is increasing and with that the diagnosis of different neoplasms, particularly the lymphomas, one of the more prevalent tumor types. The prognosis of these patients has been based on clinical, laboratory and imaging evaluations, which may not indicate the diagnosis at the initial stages of the disease. The aim of this study was to evaluate the efficacy of serological markers to better predict the prognosis of dogs with cutaneous and multicentric lymphoma. Serum level of the soluble Interleukin 2 receptor (sIL 2R) were performed in 9 healthy dogs (group 1), 20 dogs with cutaneous lymphoma (group 2) and 9 dogs with multicentric lymphoma (group 3), and the cancer antigen 125 (CA 125) in 14 healthy dogs (group 4), 13 dogs with cutaneous lymphoma (group 5) and 11 dogs with multicentric lymphoma (group 6). In addition, survival times, hematological tests and imaging exams of oncological patients were performed to better evaluate the aggressiveness of the neoplasms and to correlate these results with the dosed serum markers. The results showed that there was no statistical difference ( $p > 0.05$ ) in the dosages of sIL 2R between groups 1, 2 and 3 and CA 125 between groups 4, 5 and 6. There was difference ( $p < 0,05$ ) between the groups 2 and 5 (cutaneous lymphoma) and 3 and 6 (multicentric lymphoma) in relation to the survival time, which was lower in the animals diagnosed with cutaneous lymphoma. In relation to hematological counts, only lymphocytes counts differed between the groups 2 and 3 ( $p = 0,0265$ ) and 5 and 6 ( $p = 0,0356$ ). The results of this study showed that sIL 2R and CA 125 concentrations did not differ between healthy dogs and those diagnosed with cutaneous or multicentric lymphoma, not evidencing their potential prognostic value in the cases of dogs with lymphoma.

**Keywords:** dogs, lymphoma, biomarkers, prognosis.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- CA 125 – Antígeno de câncer 125  
CA 15-3 - Antígeno do câncer 15-3  
CEA - Antígeno carcinoembrionário  
CEUA – Comissão de ética no uso de animais  
DP – Desvio padrão  
ELISA - Enzime-Linked Immunosorbent Assay  
IL-2 – Interleucina 2  
IL 2R – Receptor de Interleucina 2  
sIL 2R – Receptor solúvel de Interleucina 2  
LDH - Lactato desidrogenase

**LISTA DE TABELAS**

<b>Capítulo 2</b>	<b>página</b>
Tabela 1. Média $\pm$ DP das concentrações de sIL 2R nos grupos 1 (controle), 2 (linfoma cutâneo) e 3 (linfoma multicêntrico) e CA 125 nos grupos 4 (controle), 5 (linfoma cutâneo) e 6 (linfoma multicêntrico).....	16
Tabela 2. Média $\pm$ DP de sobrevida média dos cães dos grupos 2 e 3, nos quais foi dosado o sIL 2R e nos grupos 5 e 6, nos quais foi dosado o CA 125.....	16
Tabela 3. Média $\pm$ DP das contagem de células sanguíneas dos cães dos grupos 2 (Linfoma cutâneo) e 3 (Linfoma multicêntrico), nos quais foi dosado o sIL 2R.....	17
Tabela 4. Média $\pm$ DP das contagem de células sanguíneas dos cães dos grupos 5 (Linfoma cutâneo) e 6 (Linfoma multicêntrico), nos quais foi dosado o CA 125.....	17

## **CAPÍTULO 1 – Considerações gerais**

### **Introdução e Revisão de Literatura**

Marcadores sorológicos são substâncias produzidas por células transformadas, ou por células sadias, usualmente, em resposta à presença de um câncer, ou em patologias benignas. São indicadores do estadiamento tumoral, por isso auxiliam no diagnóstico, monitoramento da resposta ao tratamento e podem prever a recorrência de um tumor. Em pacientes assintomáticos, são potencialmente úteis no diagnóstico da doença em estágios iniciais, enquanto nos pacientes com sintomatologia clínica, podem ajudar na diferenciação entre o desenvolvimento de uma doença maligna ou benigna (DUFFY, 2007).

Em humanos com câncer, os marcadores sorológicos são empregados para se estabelecer o prognóstico, bem como, diminuir o desgaste físico e emocional inerentes ao acompanhamento dos pacientes durante e ao término do tratamento, detectando recidivas em estágio inicial (HARRIS et al., 2007).

Estudos com marcadores prognósticos que possam ser avaliados no soro (proteínas ou enzimas, produzidas pelas células tumorais em resposta à tumorigênese) de animais portadores de câncer, estão em testes e com resultados promissores (CASSALI, 2000; DE NARDI et al., 2007; GAMA et al., 2008; UEHARA et al., 2008; CAMPOS et al., 2012), contribuindo de forma consistente para o estabelecimento do prognóstico. Esses marcadores variam, dependendo do tipo de tumor e órgão afetado (HARRIS et al., 2007) e o aumento em suas concentrações podem indicar a gênese, recidiva ou crescimento do tumor (CAPELOZZI, 2001).

Em mulheres com câncer de mama, por exemplo, os principais biomarcadores utilizados são o CEA (antígeno carcinoembrionário) e o CA 15-3 (antígeno do câncer 15-3). Estes estão aumentados no soro da maioria das mulheres com câncer de mama, quando comparado às mulheres saudáveis (WANG et al., 2014; WU et al., 2014). O antígeno do câncer 15-3 (CA 15-3) é uma glicoproteína e apenas 1,3% da população humana saudável possuem valores aumentados desse marcador (SCHWARTZ, 1997), por isso, é o marcador sorológico mais utilizado em câncer de mama, com elevadas sensibilidade e especificidade

(TOUITOU; BOGDAN, 1998; BASKIC et al., 2007). Segundo Guimarães et. al (2002), a elevação do CA 15-3 pode ser relacionada ao estágios mais avançados da doença, na qual os níveis do marcador se apresentam elevados. Ademais, níveis muito elevados foram associados com menor sobrevida das pacientes com câncer de mama (SILVEIRA, 2005).

Em humanos, a maior aplicação do CA 15-3 é no diagnóstico precoce de recidivas, pois suas concentrações aumentadas são detectadas até 13 meses antes do aparecimento dos sinais clínicos (GUEDES, 1995).

O antígeno carcinoembrionário (CEA) faz parte do grupo das imunoglobulinas, sendo estudado, inicialmente, em câncer de cólon e reto, porém seu aumento foi observado em outras neoplasias malignas, incluindo o câncer de mama (KASPER et al., 2004). Por isso, passou a ser indicado para o monitoramento de mulheres com câncer de mama metastático (VERONESI et al., 2002).

Em humanos, alguns estudos acerca dos marcadores sorológicos para o acompanhamento, estadiamento e estabelecimento do prognóstico de linfomas já foram realizados (RUBIN; NELSON, 1990; VONDERHEIND et al.,1998). Na medicina veterinária, a utilização de marcadores sorológicos em casos de linfoma requer estudos, pois este é o terceiro tipo de neoplasia mais diagnosticada em cães, sendo que o linfoma de células B representa até 80% dos casos (VAIL et al., 2001).

Dentre os diversos tipos de linfoma em cães, as formas multicêntrica e cutânea representam em torno de 80% e 6% dos casos, respectivamente, de acordo com estatísticas em outros países (MORRISON, 1998; VAIL; YOUNG, 2007; VAIL, 2011). No Brasil, existem poucos dados sobre a incidência do linfoma cutâneo em cães (VARGAS-HERNÁNDEZ, 2017). Jark et al. (2014) relataram o atendimento de 60 casos de linfoma cutâneo, em cães, entre os anos de 2007 e 2013, em Jaboticabal-SP, concluindo que este foi o segundo tipo de linfoma mais frequente, sendo o linfoma multicêntrico a forma mais comum, diferindo de outros estudos epidemiológicos que referem o linfoma cutâneo como uma forma rara de neoplasia cutânea, em cães.

O receptor de Interleucina 2 (IL 2R) é encontrado em linfócitos T e B, além de outros tipos celulares, como macrófagos e monócitos, e apresenta as subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , as quais podem ser apresentadas na superfície celular de forma isolada ou

combinada. A cadeia  $\alpha$  exibe baixa afinidade pela Interleucina 2 (IL-2), porém é a cadeia considerada solúvel (sIL 2R). As cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  associadas exibem afinidade intermediária e o complexo formado pelas três cadeias exibe alta afinidade pela IL-2. As células T são sensibilizadas pela ativação do sistema imune, por meio da ligação da IL-2 ao seu receptor (IL 2R), mediando a diferenciação e proliferação celulares durante a resposta imune, porém a afinidade dessa ligação depende da cadeia expressa na superfície celular dos linfócitos (MINAMI et al., 1993; ANDRADE; BASTOS, 1995).

É sabido que o receptor da Interleucina 2 de cadeia solúvel (sIL 2R) é liberado para os fluídos corpóreos quando ocorre ativação de linfócitos em estado neoplásico e o desenvolvimento e o crescimento tumoral estimulam o sistema imune, gerando um maior número de sIL 2R. Em humanos, adultos e crianças, a concentração sérica de sIL 2R pré-tratamento de vários tipos de câncer, incluindo o linfoma, mostrou-se importante para se estabelecer o prognóstico e a sobrevida global, refletindo a severidade e agressividade da doença (BIEN; BALCERSKA, 2008). Segundo Rubin e Nelson (1990), estudos sugerem que os níveis de sIL 2R representam uma medida rápida, confiável, e não invasiva de demonstrar a atividade da doença, a resposta à terapia e o prognóstico a longo prazo, no linfoma.

Vonderheind et al. (1998) avaliaram marcadores sorológicos em linfoma cutâneo de células T de humanos, dosaram o sIL 2R e lactato desidrogenase (LDH) com o objetivo de correlacionar suas concentrações com a severidade da doença. Concluíram que concentrações séricas elevadas, principalmente de sIL 2R, estavam presentes nos estágios mais avançados da doença.

Esses resultados corroboram com o estudo de Seon et al. (2010), no qual também houve correlação entre menor taxa de sobrevida e altas concentrações séricas de sIL 2R em pacientes humanos com linfoma não-Hodgkin (média de 2.338 U/mL), enquanto o grupo controle apresentava valor médio inferior (573 U/mL). Dessa maneira, foi concluído que o sIL 2R pode ser usado como um biomarcador prognóstico no momento do diagnóstico e para monitorar a progressão da doença e resposta do paciente ao tratamento.

Em cães, a dosagem de sIL 2R foi validada pelo método ELISA, utilizando um *kit* humano. O estudo comparou as concentrações deste receptor em doenças



sistêmicas e neoplasias malignas. Os autores concluíram que o *kit* é efetivo para esse fim e confirmaram aumento das concentrações no soro de animais que apresentavam doença inflamatória. Não foram observadas diferenças significativas para o aumento de sIL 2R em cães com neoplasias malignas em comparação com cães saudáveis, contudo os autores acreditaram que este resultado foi decorrente da população heterogênea e da avaliação de diferentes tipos de neoplasias (PRACHAR et al., 2013).

Um marcador que fornece informação em relação ao prognóstico e resposta ao tratamento, tanto em neoplasias mamárias como em linfomas, em humanos, é o Antígeno do câncer 125 (CA 125), uma glicoproteína identificada, inicialmente, em mulheres diagnosticadas com carcinoma de ovário, e expressa também em tecidos como peritônio, pleura, pericárdio, tubas uterinas e endométrio. Recentes pesquisas evidenciaram sua elevação em outros tipos de cânceres, incluindo adenocarcinomas não ginecológicos, linfomas, mesoteliomas, teratomas e carcinoma de pâncreas, cólon, mama e pulmão (BISCHOF, 1993; SANUSI, et al., 2001; STURGEON et al., 2008; WANG et al., 2014).

Pacientes humanos com câncer de ovário e concentrações de CA 125 pré-operatórias  $\geq 65$  kU/L, apresentavam taxas de sobrevida menores e risco de morte 6,37 vezes maior em comparação a pacientes com concentrações abaixo de 65 kU/L (STURGEON et al., 2008).

O marcador CA 125 foi detectado no soro sanguíneo de mulheres saudáveis e com câncer de mama. Neste último grupo, antes e após a cirurgia, as concentrações deste marcador estavam significativamente elevadas e correlacionaram-se, positivamente, com o índice de proliferação Ki-67, grau histológico do tumor, estadiamento clínico, presença de metástases em linfonodo e recidiva tumoral (WANG et al., 2014).

Estudos têm demonstrado que o CA 125 é um marcador não específico e aparece elevado em diversas patologias benignas e malignas. Em casos de linfoma não-Hodgkin, altas concentrações de CA 125 foram associadas ao avanço da doença, grau de agressividade do tumor e ocorrência de efusões (LAZZARINO et al., 1998). E embora concentrações elevadas sejam relatadas em pacientes com linfoma não-Hodgkin, o seu papel como um fator prognóstico permanece incerto.

Em estudo prospectivo, no qual o CA 125 sérico foi avaliado em 108 pacientes com linfoma não-Hodgkin, sua elevação foi detectada em 43% destes pacientes. Este achado foi associado com a doença em estágio avançado, tumores volumosos, envolvimento da medula óssea, doença extranodal (em estágios III e IV), ocorrência de sinais clínicos, derrame pleural ou peritoneal, resposta parcial ou nenhuma ao tratamento e tempo de sobrevida menor, condizentes com prognóstico desfavorável (BAIREY et al., 2003). Resultados similares foram obtidos em estudo com outras neoplasias hematopoiéticas, detectando elevadas concentrações em estágios avançados das enfermidades, justificando sua utilização para prever o prognóstico dos pacientes (DILEK et al., 2006).

Mermar et al. (2015) realizaram um estudo, no qual 121 pacientes diagnosticados com linfoma não-Hodgkin foram avaliados quanto ao estágio da doença no momento do diagnóstico, as taxas de mortalidade e recidivas. Aqueles com pior prognóstico da doença apresentavam a concentração sérica de CA 125 > 35 U/ml. Anos antes, Russo et al. (2007), já haviam demonstrado que a completa remissão do tumor não era alcançada quando os pacientes apresentavam altas concentrações de CA 125. Em contrapartida, aqueles com CA 125 < 35 u/ml apresentaram até 92% de taxa de sobrevida.

Apesar de muito utilizado em medicina humana, o emprego de marcadores sorológicos na determinação do prognóstico e no monitoramento de neoplasias ainda não é uma realidade na medicina veterinária. Com este estudo pretendeu-se avaliar a utilidade dos marcadores sorológicos sIL 2R e CA 125 como ferramentas adicionais para beneficiar o clínico no estabelecimento do prognóstico do paciente e, posteriormente, analisar conjuntamente as concentrações obtidas com as avaliações clínica, hematológica e de imagem em cães diagnosticados com linfoma cutâneo e multicêntrico.

## Referências

- ANDRADE, L.C.F.; BASTOS, M.G. Sistema receptor para Interleucina-2 (IL-2). **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v.17, n.2, p.78-84, 1995.
- BAIREY, O.; BLICKSTEIN, D.; STARK, P.; PROKOCIMER, M.; NATIV, H.M.; KIRGNER, I.; SHAKLAI, M. Serum CA 125 as a Prognostic Factor in Non-Hodgkin's Lymphoma, **Leukemia & Lymphoma**, v.44, n.10, p. 1733–1738, 2003.
- BASKIC, D., RISTIC, P., MATIC, S., BANKOVIC, D., POPOVIC, S., ARSENIJEVIC, N. Clinical evaluation of the simultaneous determination of CA 15-3, CA 125 and SHER2 in breast ca, ncer. **Biomarkers**, v. 12, n. 6, p. 657-667, 2007.
- BIEN, E.; BALCERSKA, A. Serum soluble interleukin 2 receptor a in human cancer of adults and children: a review. **Biomarkers**, v.13, n.1, p.1-26, 2008.
- BISCHOF, P. What do we know about the origin of CA 125?, **European Journal of Obstetrics Gynecology Reproductive Biology**, v.49, p.93–98, 1993.
- CAMPOS, L. C., LAVALLE, G. E., ESTRELA-LIMA, A., MELGAÇO DE FARIA, J. C., GUIMARÃES, J. E., DUTRA, Á. P., CASSALI, G. D. CA15. 3, CEA and LDH in Dogs with Malignant Mammary Tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 6, p. 1383-1388, 2012.
- CAPELOZZI, V.L. Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.27, n.6, p.321-28, 2001.
- CASSALI, G.D. **Estudos morfológicos, imunohistoquímicos e citométrico de tumores mamários da cadela – aspectos comparativos com neoplasias da mama humana**. 2000. 73 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.
- DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; ROCHA, N. S.; FERNANDES, S. C. Neoplasias Mamárias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds.) **Oncologia em Cães e Gatos**, 1ª Edição. São Paulo: Roca, 2008, cap. 25, p. 372-383.
- DILEK, I.; TOPCU, N.; DEMIR, C.; BAY, A.; UZUN, K.; GUL, A.; FAIK, A.; NER, O.; UGRAS, S. Hematological malignancy and pregnancy: a single-institution experience of 21 cases. **Clinical and Laboratory Haematology**, v.28, p.170–176, 2006.
- DUFFY, M. Role of tumor markers in patients with solid cancers: A critical review. **European Journal of Internal Medicine**, v.18, n.3, p.175-184, 2007.
- GAMA, A.; PAREDES, J.; GÄRTNER, F.; ALVES, A.; SCHMITT, F. Expression of E-cadherin, P-cadherin and  $\beta$ -catenin in canine malignant mammary tumors in relation to clinicopathological parameters, proliferation and survival. **The Veterinary Journal**, v.177, p.45-53, 2008.

GUEDES NETO, E. P.; MONTEGGIA, P.; FUHRMEISTER, F.; BASSO, A.; SIQUEIRA, D. P. Avanços médicos: marcadores tumorais versus câncer de mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.41, n. 1, p. 39-42, 1995.

GUIMARÃES, R. C.; RODRIGUES, V. H.; PÁDUA, C. A. J.; ANDRADE, F. A. F. Uso dos marcadores tumorais na prática clínica. **Prática Hospitalar** (Belo Horizonte), v.4, n.23, p. 1-8, 2002.

HARRIS, L.; FRITSCH, H.; MENNEL, R.; et al. American Society of Clinical Oncology 2007: Update of recommendations for the use tumor markers in breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 25, p.5287–5312, 2007.

JARK, P.; VARGAS-HERNÁNDEZ, G.; ANAI, .L.A.; TINUCCI-COSTA, M. Epidemiological Study of 60 cases of Cutaneous Lymphoma in Dogs in São Paulo State, Brazil. (Abstract) In: **39th World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) Congress**, Cape Town, South Africa, 16 - 19 Sep. 2014.

KASPER, D. L., BRAUNWALD E., FAUCI, A. S., HAUSER, S. L., LONGO, D. L., JAMESON, J. L. Principles of internal medicine. Part five: oncology and hematology. Section 1: Neoplastic Disorders. 16th ed. New York: **McGraw-Hill Education**, p. 240-50, 2004.

LAZZARINO, M.; ORLANDI, O.; KLERSY, C.; ASTORI, C.; BRUSAMOLINO, E.; BELLIO, L.; CORSO, A.; GARGANTINI, L.; MORRA, E.; BERNASCONI, C. Serum CA 125 Is of Clinical Value in the Staging and Follow-Up of Patients with Non-Hodgkin's Lymphoma: correlation with tumor parameters and disease activity. **American Cancer Society**, p.576-582, 1998.

MERMAR, B.; ALEDAVOOD, A.; SHAHIDSALES, S.; AHADI, A.; FARZADNIA, M.; RAZIEE, H.R.; NOORI, S.; TAYEBI-MEYBODI, N.; AMOUIAN, S.; MOHTASHAMI, S. The Prognostic Role of Tumor Marker CA-125 in B-Cell non-Hodgkin's Lymphoma. **Iranian Journal of Cancer Prevention**, v.8, n.1, p.42-46, 2015.

MINAMI, Y.; KONO, T.; MIYAZAKI, T.; TANIGUCHI, T. The IL-2 Receptor Complex. Its Structure function, and target genes. **Annual Review of Immunology**, v.11, p.245-67, 1993.

MORRISON, W.B. Lymphosarcoma, In: MORRISON, W.B. (Ed). **Cancer in dogs and cats**, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 1998, p.688-691.

PRACHAR, C.; KAUP, F.J.; NEUMANN, S. Soluble Interleukin 2 Receptor-Alpha (sIL-2R $\alpha$ ) in the Peripheral Blood of Dogs—Comparison of Malignant Neoplasia with Other Diseases. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v.3, p.176-183, 2013.

RUBIN, L.A.; NELSON, D.L. The Soluble Interleukin-2 Receptor: Biology, Function, and Clinical Application. **Annals of Internal Medicine**, v.113, n.8, p.619-627, 1990.

RUSSO, F.; LASTORIA, S.; SVANERA, G.; CAPOBIANCO, G.; DE CHIARA, A.; FRANZIA, R.D. Long-term follow-up study on the role of serum as a prognostic factor in 221 newly diagnosed patients with Hodgkin's lymphoma. **Leukemia and Lymphoma**, v.48, n.4, p.723-30, 2007.

SANUSI, A.A.; ZWEERS, M.M.; WEENING, J.J.; DE WAART, D.R.; STRUIJK, D.G. KREDIETR, T. Expression of cancer antigen 125 by peritoneal mesothelial cells is not influenced by duration of peritoneal dialysis. **Peritoneal Dialysis International**, v.21, n.5, p.495-500, 2001.

SCHWARTZ, M. Specialized techniques of cancer management and diagnosis. Section 3. Cancer markers. In: DEVITA, V.; HELLMAN, S.J.R.; ROSENBERG, S. **Cancer: Principles & practice of oncology**. Philadelphia: JB Lippincott. 1993. p.531-42, 1993.

SEON, A.J.; SANG-HYUN, M.D.; CHULHUN, L.C.; SHINE, Y.K.; HO-JIN, S.; JOO, S.C.; MEE, Y.S.; EUN, Y.L. Clinical Relevance of Elevated Levels of Serum Soluble Interleukin-2 Receptor alpha (sIL-2Ra) in Patients with Non-Hodgkin's Lymphoma. **The Korean Journal of Laboratory Medicine**, v.30, p.600-5, 2010.

SILVEIRA, A. S. Câncer ginecológico: Diagnóstico e tratamento. In: GIL, R.A. **Fatores prognósticos, preditivos e marcadores tumorais no câncer ginecológico**. Florianópolis: UFSC, 2005. p. 35-52.

STURGEON, C.M; DUFFY, M.J.; STENMAN, U.H; LILJA, H.; BRUNNER, N.; CHAN, D.W.; BABAIAN, R.; BAST, JR., R.C.; DOWELL, B.; ESTEVA, F.J.; HAGLUND, C.; HARBECK, N.; HAYES, D.F.; HOLTEN-ANDERSEN, A.; KLEE, G.G.; LAMERZ, R.; LOOIJENGA, L.H.; MOLINA, R.; NIELSEN, H.J.; RITTENHOUSE, H.; SEMJONOW, A.; SHIH, I.M.; SIBLEY, I.; SO" LE TORMOS, G.; STEPHAN, C.; SOKOLL, L.; HOFFMAN, L.R.; DIAMANDIS, E.P. National Academy of Clinical BiochemWINTeemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for Use of Tumor Markers in Testicular, Prostate, Colorectal, Breast, and Ovarian Cancers. **Clinical Chemistry**, v.54, n.12, p.11–79, 2008.

TOUITOU, Y.; BOGDAN, A. Tumor marker in not malignant diseases. **European Journal of Cancer and Clinical Oncology**, v. 24, n. 7, p. 1083-1091. 1998.

UEHARA, M.; KINOSHITA, T.; HOJO, T.; AKASHI-TANAKA, S.; IWAMOTO, E.; FUKUTOMI, T. Long-term prognostic study of carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen 15-3 (CA 15-3) in breast cancer. **International Journal of clinical oncology**, v. 13, n. 5, p. 447-451, 2008.

VAIL, D.M.; YOUNG, K.M. 2007. Canine lymphoma and lymphoid leukemia, p. 699-733. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, G.E. **Small animal clinical oncology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2007, pp. 558-590.

VAIL, D.M. Tumors of the haemopoietic system. In: DOBSON, J.M.; LASCELLES, B.D.X. **BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology**. 3ª ed. Wiley e Sons, 2011. pp.285-291.

VARGAS-HERNÁNDEZ, G. **Linfomas cutâneos em cães: estudo epidemiológico, morfológico, imunofenotípico e seroproteico**. 2017. 87 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 2017.

VERONESI, U.; LUINI, A.; COSTA, A.; ANDREOLI, C. **Mastologia oncológica**. Milão: Medsi; 2002.

VONDERHEIND, E.C.; ZHANG, Q.; LESSIN, S.R.; POLANSKY, M.; ABRAMS, T.; BIGLER, R.D.; WASIK, M.A. Use of serum soluble interleukin-2 receptor levels to monitor the progression of cutaneous T-cell lymphoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.38, n.2, p.207-220, 1998.

WANG, G.; QIN, Y.; ZHANG, J.; ZHAO, J.; LIANG, Y. A.; ZHANG, Z.; SUN, Y. Nipple discharge of CA15-3, CA125, CEA and TSGF as a new biomarker panel for breast cancer. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 6, p. 9546-9565, 2014.

WU, S. G.; HE, Z. Y.; ZHOU, J.; SUN, J. Y.; LI, F. Y.; LIN, Q.; LIN, H. Serum levels of CEA and CA15-3 in different molecular subtypes and prognostic value in Chinese breast cancer. **The Breast**, v. 23, n. 1, p. 88-93, 2014.

## **CAPÍTULO 2 – Avaliação dos marcadores sorológicos sIL 2R e CA 125 como indicadores prognósticos de linfoma cutâneo e linfoma multicêntrico em cães.**

**RESUMO** – A expectativa de vida dos cães tem aumentado, o que contribui para o diagnóstico de diferentes neoplasias, principalmente os linfomas, um dos tipos tumorais mais prevalentes. O prognóstico desses pacientes tem se pautado nas avaliações clínicas, laboratoriais e de imagem, as quais podem não indicar a presença da doença em início de curso. Com este estudo, objetivou-se avaliar a eficácia de marcadores sorológicos para melhor estabelecer o prognóstico de cães com linfoma cutâneo e multicêntrico. Foram realizadas dosagens séricas do receptor solúvel de Interleucina 2 (sIL 2R) em 9 cães saudáveis (grupo 1), 20 cães com linfoma cutâneo (grupo 2) e 9 cães com linfoma multicêntrico (grupo 3), e do Antígeno do câncer 125 (CA 125) em 14 cães saudáveis (grupo 4), 13 cães com linfoma cutâneo (grupo 5) e 11 cães com linfoma multicêntrico (grupo 6). Adicionalmente foram avaliados os tempos de sobrevivência, os resultados de exames hematológicos e de imagem dos pacientes, os quais foram relacionados com as concentrações séricas dos marcadores sorológicos. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre as dosagens dos marcadores sIL 2R nos grupos 1, 2 e 3 e de CA 125 entre os grupos 4, 5 e 6. Houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os grupos 2 e 5 (linfoma cutâneo) e 3 e 6 (linfoma multicêntrico) em relação ao tempo de sobrevivência, o qual foi menor nos animais diagnosticados com linfoma cutâneo. Em relação às contagens hematológicas, apenas o linfócitos diferiram entre os grupos 2 e 3 ( $p = 0,0265$ ) e 5 e 6 ( $p = 0,0356$ ). Os resultados deste estudo não evidenciaram significância clínica nas dosagens de sIL 2R e CA 125 em cães com linfoma cutâneo e multicêntrico, como auxiliares no estabelecimento do prognóstico.

Palavras-chave: cães, linfoma, marcadores sorológicos, prognóstico.

## **Evaluation of the serological markers sIL 2R and CA 125 as prognostic indicators of cutaneous and multicentric lymphoma in dogs**

**ABSTRACT** – The life expectancy of dogs is increasing, making possible the diagnosis of different neoplasms, mainly the lymphomas, one of the more prevalent tumor types. The prognosis of these patients has been based on clinical, laboratory and imaging evaluations, which may not indicate the diagnosis at the initial stages of the disease. The aim of this study was to evaluate the efficacy of serological markers to better predict the prognosis of dogs with cutaneous and multicentric lymphoma. Serum levels of the soluble Interleukin 2 receptor (sIL 2R) were performed in 9 healthy dogs (group 1), 20 dogs with cutaneous lymphoma (group 2) and 9 dogs with multicentric lymphoma (group 3), and the cancer antigen 125 (CA 125) in 14 healthy dogs (group 4), 13 dogs with cutaneous lymphoma (group 5) and 11 dogs with multicentric lymphoma (group 6). In addition, survival times, hematological tests and imaging exams of oncological patients were performed to better evaluate the aggressiveness of the neoplasms and to correlate these results with the dosed serum markers. The results showed that there was no statistical difference ( $p > 0.05$ ) in the dosages of sIL 2R between groups 1, 2 and 3 and CA 125 between groups 4, 5 and 6. There was difference ( $p < 0,05$ ) between the groups 2 and 5 (cutaneous lymphoma) and 3 and 6 (multicentric lymphoma) in relation to the survival time, which was lower in the animals diagnosed with cutaneous lymphoma. In relation to hematological counts, only lymphocytes counts differed between the groups 2 and 3 ( $p = 0,0265$ ) and 5 and 6 ( $p = 0,0356$ ). We concluded with this study, that sIL 2R and CA 125 have not evidenced clinical significance in the establishment of prognosis in dogs diagnosed with cutaneous and multicentric lymphoma.

Keywords: dogs, lymphoma, serological markers, prognosis.



## INTRODUÇÃO

Em humanos com câncer, marcadores sorológicos são empregados para se estabelecer o monitoramento, resposta ao tratamento e recidiva de diversas doenças (Harris et al., 2007). Em animais portadores de neoplasias, estudos exibem resultados promissores (De Nardi et al., 2007; Gama et al., 2008; Uehara et al., 2008; Campos et al., 2012; Senhorello, 2017), porém os marcadores variam, dependendo do tipo de tumor e do órgão afetado (Harris et al., 2007), e o aumento em suas concentrações pode indicar a gênese, recidiva ou crescimento do tumor (Capelozzi, 2001).

Em humanos com linfoma, estudos para o acompanhamento, estadiamento e estabelecimento do prognóstico são realizados rotineiramente, utilizando diversos tipos de marcadores (Rubin e Nelson, 1990; Ennishi et al., 2009; Mermar et al., 2015; Binder et al., 2017). Na medicina veterinária, a utilização de marcadores sorológicos com a mesma finalidade, requer investigação, uma vez que o linfoma é o terceiro tipo de neoplasia mais diagnosticado em cães (Vail et al., 2011) e dentre os diversos tipos de linfomas, as formas multicêntrica (células B) e cutânea representam em torno de 80% e 6% dos casos, respectivamente (Morrison, 1998; Vail e Young, 2007; Vail, 2011).

No Brasil, existem poucos dados sobre a incidência do linfoma cutâneo em cães (Vargas-Hernández, 2017). Jark et al. (2014) relataram o atendimento de 60 casos de linfoma cutâneo, entre os anos de 2007 e 2013, em Jaboticabal-SP, concluindo que este foi o segundo tipo de linfoma mais frequente, sendo o linfoma multicêntrico a forma mais comum, o que difere de outros estudos epidemiológicos que referem o linfoma cutâneo como uma forma rara de neoplasia cutânea, em cães.

O receptor de Interleucina 2 (IL 2R) é encontrado em linfócitos T e B, além de outros tipos celulares, como macrófagos e monócitos, e apresenta as subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , as quais podem se apresentar na superfície celular de forma isolada ou combinada. A cadeia  $\alpha$  exibe baixa afinidade pela Interleucina 2 (IL-2), porém é a cadeia considerada solúvel (sIL 2R). As cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  associadas exibem afinidade intermediária e o complexo formado pelas três cadeias exibe alta afinidade pela IL-2. As células T são sensibilizadas pela ativação do sistema imune, por meio da ligação da IL-2 ao seu receptor, mediando a diferenciação e proliferação celulares na resposta imune, porém a afinidade dessa ligação depende da cadeia expressa na superfície celular dos linfócitos (Minami et al., 1993; Andrade e Bastos, 1995).

É sabido que o sIL 2R é liberado para os fluídos corpóreos quando ocorre ativação de linfócitos B e T em estado neoplásico (Rubin et al., 1986). Em humanos, a concentração sérica da sIL 2R pré-tratamento em vários tipos de câncer, incluindo o linfoma, mostrou-se importante para se estabelecer o prognóstico e a sobrevida global, refletindo a severidade e agressividade da doença (Bien e Balcerska, 2008), representando uma medida rápida, confiável e não invasiva de demonstrar a atividade da doença (Rubin e Nelson, 1990).

Com o objetivo de correlacionar as concentrações séricas do sIL 2R e lactato desidrogenase (LDH) com a severidade da doença, em pacientes humanos com linfoma cutâneo de células T, Vonderheind et al. (1998) concluíram que concentrações séricas mais elevadas, principalmente de sIL 2R, estavam correlacionadas aos estágios mais avançados da doença. Resultado semelhante foi obtido por Seon et al. (2010), que observaram correlação entre a menor taxa de sobrevida e as altas concentrações séricas de sIL 2R (média de 2.338 U/mL) em pacientes humanos com linfoma não Hodgkin, enquanto a concentração média do grupo controle foi equivalente a 573 U/mL. Dessa maneira, concluíram que o sIL 2R pode ser usado como um biomarcador prognóstico para monitorar a progressão da doença e a resposta do paciente ao tratamento, em casos humanos. Em cães, apenas um estudo havia sido realizado até o momento, utilizando um *kit* humano para dosagem de sIL 2R e em animais diagnosticados com diversas patologias benignas e malignas, incluindo o linfoma (Prachar et al., 2013).

Outro marcador que fornece informações em relação ao prognóstico e resposta ao tratamento, tanto em neoplasias mamárias como em linfomas, em humanos, é o Antígeno do câncer 125 (CA 125), uma glicoproteína de alto peso molecular, identificada, inicialmente, em casos de carcinoma de ovário, em mulheres. Pesquisas mostraram sua elevação em patologias benignas e outros tipos de cânceres, incluindo adenocarcinomas não ginecológicos, linfomas, mesoteliomas, teratomas e carcinomas de pâncreas, cólon, mama e pulmão (Bischof, 1993; Sanusi et al., 2001; Sturgeon et al., 2008; Wang et al., 2014).

Concentrações elevadas de CA 125, em casos humanos com linfoma não-Hodgkin, foram associados ao avanço da doença, grau de agressividade do tumor e ocorrência de efusões (Lazzarino et al., 1998).

Apesar de muito utilizado em medicina humana, o emprego de marcadores sorológicos na determinação do prognóstico e no monitoramento de neoplasias ainda não é uma realidade na medicina veterinária. Com este estudo pretendeu-se avaliar se os marcadores sorológicos

sIL 2R e CA 125 poderiam contribuir como ferramentas adicionais, não invasivas, para o melhor estabelecimento do prognóstico, comparativamente ao método empregado atualmente (avaliações clínica e hematológica, exames de imagem e sobrevida) em cães diagnosticados com linfoma cutâneo e multicêntrico.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP/Jaboticabal-SP, sob o protocolo nº 9.252/16.

Foram selecionados cães diagnosticados com Linfoma cutâneo (n=20) e Linfoma multicêntrico (n=11), entre julho de 2016 e julho de 2017, sem predileção por raça, sexo ou idade e atendidos no Serviço de Oncologia Veterinária do Hospital Veterinário da UNESP, câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. O diagnóstico foi realizado por meio dos exames citológico e histopatológico e os animais foram submetidos ao estadiamento tumoral, mediante exame físico detalhado, exames hematológico e bioquímico, radiografias e ultrassonografia. Foi acompanhada a sobrevida dos pacientes, computada do momento do diagnóstico até o término do período experimental.

Para o grupo controle, foram selecionados animais saudáveis, sem histórico de neoplasias, provenientes da rotina clínica e admitidos para o programa de vacinação.

Dessa forma, foram formados os seguintes grupos, de acordo com a neoplasia diagnosticada e o tipo de marcador sorológico dosado.

- Grupo 1 (n=9): cães controle - dosagem de sIL 2R (pg/ml);
- Grupo 2 (n=20): linfoma cutâneo - dosagem de sIL 2R (pg/ml);
- Grupo 3 (n=9): linfoma multicêntrico - dosagem de sIL 2R (pg/ml);
- Grupo 4 (n=14): cães controle - dosagem de CA 125 (U/ml);
- Grupo 5 (n=13): linfoma cutâneo - dosagem de CA 125 (U/ml);
- Grupo 6 (n=11): linfoma multicêntrico - dosagem de CA 125 (U/ml).

Dos animais dos grupos Controle (1 e 4), Linfoma cutâneo (2 e 5) e Linfoma multicêntrico (3 e 6), foram individualmente coletados 5,0 mL de sangue por venopunção jugular, após a suspeita ou confirmação diagnóstica de linfoma, ou no caso de grupo controle, confirmada a saúde dos cães. Os soros foram individualmente armazenados a -80° C para as posteriores dosagens dos marcadores sorológicos, antes de dar início ao tratamento

quimioterápico. Os testes sorológicos foram realizados em parceria com o laboratório VETPAT- Patologia e Biologia Molecular Veterinária, São José do Rio Preto/SP (CA 125), e no laboratório LEAC, São Paulo/SP (sIL 2R).

Para a dosagem de sIL 2R, foram utilizados 200 µL do soro armazenado, proveniente de 9 cães saudáveis (grupo 1), 20 cães com linfoma cutâneo (grupo 2) e 9 cães com linfoma multicêntrico (grupo 3), utilizando o *kit* ELISA IL2R Canina (MyBio/source Ca-USA). Ao término do teste, procedeu-se a leitura em um Stat Fax modelo 2100 (Awareness Technology).

Para a dosagem do CA 125 foram utilizados 300 µL de soro sanguíneo de 14 animais saudáveis (grupo 4), 13 animais com linfoma cutâneo (grupo 5) e 11 animais com linfoma multicêntrico (grupo 6), empregando o *kit* ELISA humano (AccuBind ELISA Kits - MONOBIND INC). O equipamento para leitura foi o ELISYS UNO human e a técnica empregada foi a recomendada pelo fabricante.

Na análise estatística, os tratamentos seguiram um esquema fatorial 3 x 2 (3 grupos e 2 métodos) no delineamento casualizado, com número de repetições variando (n=9 até n=20).

Nas análises de variância, os dados foram transformados em Log (observação+1) e quando houve diferença significativa entre as médias na análise de variância, estas foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Para as análises foi utilizado o procedimento General Linear Models (GLM) do programa computacional SAS (SAS 9.1, SAS Institute, Cary. NC, USA).

## RESULTADOS

O marcador sorológico sIL 2R foi dosado nos grupos 1 (n=9; 3 machos e 6 fêmeas), 2 (n=20; 7 machos e 13 fêmeas) e 3 (n=9; 4 machos e 5 fêmeas) e o CA 125 nos grupos 4 (n=14; 14 fêmeas), 5 (n=13; 3 machos e 10 fêmeas) e 6 (n=11; 6 machos e 5 fêmeas). A média de idade dos animais saudáveis, com linfoma cutâneo e multicêntrico foi de 4,8 anos, 8,6 anos e 7,7 anos, respectivamente. Os animais sem raça definida (SRD) foram mais prevalentes nesse estudo.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores de concentração sérica dos marcadores sIL 2R e CA 125, no momento do diagnóstico, antes do início do tratamento quimioterápico.

Tabela 1. Média  $\pm$  DP das concentrações do sIL 2R nos grupos 1 (controle), 2 (linfoma cutâneo) e 3 (linfoma multicêntrico) e CA 125 nos grupos 4 (controle), 5 (linfoma cutâneo) e 6 (linfoma multicêntrico).

Grupos	sIL 2R (pg/ml)	Grupos	CA 125 (U/ml)
Grupo 1	910.029 $\pm$ 371.625 <sup>A</sup>	Grupo 4	19,300 $\pm$ 18,844 <sup>A</sup>
Grupo 2	693.588 $\pm$ 376.340 <sup>A</sup>	Grupo 5	15,423 $\pm$ 16,912 <sup>A</sup>
Grupo 3	679.210 $\pm$ 316.249 <sup>A</sup>	Grupo 6	15,236 $\pm$ 7,508 <sup>A</sup>

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

As concentrações de sIL 2R nos animais sadios (grupo 1), com linfoma cutâneo (grupo 2) e linfoma multicêntrico (grupo 3) não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. No entanto, embora não significante, a média do sIL 2R foi maior no grupo controle (910.029 pg/ml) em comparação aos demais grupos, os quais apresentaram valores próximos.

Da mesma forma, as concentrações do marcador CA 125 não diferiram entre os grupos de animais sadios e doentes ( $p > 0,05$ ) e a média no grupo 4 foi maior (19,300 U/ml) do que nos grupos 5 (15,423 U/ml) e 6 (15,236 U/ml).

Na Tabela 2 encontram-se as médias e desvios padrão do tempo de sobrevida, aqui considerada do momento do diagnóstico até o término do período experimental, e dos parâmetros hematimétricos nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 2. Média  $\pm$  DP de sobrevida média dos cães dos grupos 2 e 3, nos quais foi dosado o sIL 2R e nos grupos 5 e 6, nos quais foi dosado o CA 125.

	Sobrevida (dias)		Sobrevida (dias)
Grupo 2	30,750 $\pm$ 62,643 <sup>A</sup>	Grupo 5	23,769 $\pm$ 47,695 <sup>A</sup>
Grupo 3	148,888 $\pm$ 138,661 <sup>B</sup>	Grupo 6	99,636 $\pm$ 90,276 <sup>B</sup>
Valor de P	0,0047	Valor de P	0,0083

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ( $p > 0,05$ ).

Tabela 3. Média  $\pm$  DP das contagem de células sanguíneas dos cães dos grupos 2 (Linfoma cutâneo) e 3 (Linfoma multicêntrico), nos quais foi dosado o sIL 2R.

	Grupo 2	Grupo 3	Valor de P	Valores de referência
Hemácias ( $\times 10^6/\text{uL}$ )	4,520 $\pm$ 1,580 <sup>A</sup>	5,584 $\pm$ 0,745 <sup>A</sup>	0,2519	5,5 a 8,5
Leucócitos totais ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	12,225 $\pm$ 8,520 <sup>A</sup>	16,311 $\pm$ 7,574 <sup>A</sup>	0,6265	6 a 18
Basófilos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	0,024 $\pm$ 0,071 <sup>A</sup>	0,024 $\pm$ 0,073 <sup>A</sup>	1,000	0
Eosinófilos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	0,140 $\pm$ 0,160 <sup>A</sup>	0,274 $\pm$ 0,389 <sup>A</sup>	0,5742	0,12 a 1,8
N. bastonetes ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	0,060 $\pm$ 0,126 <sup>A</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>A</sup>	0,5002	0 a 0,5
N. segmentados ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	10,728 $\pm$ 7,839 <sup>A</sup>	11,573 $\pm$ 4,462 <sup>A</sup>	0,9906	3,16 a 13,8
Linfócitos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	1,047 $\pm$ 1,149 <sup>A</sup>	4,035 $\pm$ 3,763 <sup>B</sup>	0,0265	0,72 a 5,4
Monócitos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	0,214 $\pm$ 0,291 <sup>A</sup>	0,393 $\pm$ 0,349 <sup>A</sup>	0,6451	0,18 a 18
	256,050 $\pm$	315,666 $\pm$		180 a 400
Plaquetas ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	178,958 <sup>A</sup>	135,541 <sup>A</sup>	0,7360	

N. bastonetes = neutrófilos bastonetes/N. segmentados = neutrófilos segmentados.

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

Tabela 4. Média  $\pm$  DP das contagem de células sanguíneas dos cães dos grupos 5 (Linfoma cutâneo) e 6 (Linfoma multicêntrico), nos quais foi dosado o CA 125.

	Grupo 5	Grupo 6	Valor de P	Valores de referência
Hemácias ( $\times 10^6/\text{uL}$ )	4,485 $\pm$ 1,762 <sup>A</sup>	5,606 $\pm$ 0,933 <sup>A</sup>	0,2268	5,5 a 8,5
Leucócitos totais ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	13,007 $\pm$ 9,423 <sup>A</sup>	16,245 $\pm$ 7,693 <sup>A</sup>	0,7859	6 a 18
Basófilos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	0,028 $\pm$ 0,083 <sup>A</sup>	0,034 $\pm$ 0,078 <sup>A</sup>	0,9974	0
Eosinófilos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	0,168 $\pm$ 0,155 <sup>A</sup>	0,234 $\pm$ 0,363 <sup>A</sup>	0,9250	0,12 a 1,8
N. bastonetes ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	0,073 $\pm$ 0,143 <sup>A</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>A</sup>	0,3355	0 a 0,5
N. segmentados ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	11,290 $\pm$ 8,684 <sup>A</sup>	11,317 $\pm$ 4,425 <sup>A</sup>	1,000	3,16 a 13,8
Linfócitos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	1,196 $\pm$ 1,396 <sup>A</sup>	4,123 $\pm$ 3,968 <sup>B</sup>	0,0356	0,72 a 5,4
Monócitos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	0,240 $\pm$ 0,411 <sup>A</sup>	0,525 $\pm$ 0,494 <sup>A</sup>	0,2705	0,18 a 18
	210,076 $\pm$	325,636 $\pm$		180 a 400
Plaquetas ( $\times 10^3/\text{uL}$ )	87,653 <sup>A</sup>	134,976 <sup>A</sup>	0,2228	

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

Nos cães dos grupos 2 e 3, a sobrevivência dos animais com linfoma cutâneo (grupo 2) foi significativamente menor ( $p = 0,0047$ ) que nos com linfoma multicêntrico (grupo 3), embora os parâmetros hematimétricos de contagens de hemácias ( $p = 0,2519$ ), leucócitos totais ( $p = 0,6265$ ) e plaquetas ( $p = 0,7360$ ) não diferiram. Todavia, convém assinalar que a média das contagens de hemácias no grupo 2 se encontra abaixo dos valores de normalidade, evidenciando um quadro de anemia. No grupo 3, a média das contagens eritrocitárias se encontra próximo ao limite inferior dos valores de normalidade.

A contagem diferencial de leucócitos mostrou significância apenas com relação aos linfócitos ( $p=0,0265$ ), sendo maior no grupo acometido por linfoma multicêntrico (grupo 3), mas ainda se mantendo dentro dos valores de normalidade.

Da mesma forma, nos animais dos grupos 5 e 6, houve significância ( $p=0,0083$ ) em relação ao tempo de sobrevida. É importante assinalar que 8/20 animais (40%) do Grupo 2 e 6/13 animais (46%) do Grupo 5, exibiram sobrevida de zero dias, pois vieram à óbito antes do resultado dos exames citológico ou histopatológico. Sendo assim, o diagnóstico confirmatório foi obtido posteriormente ao óbito, o que demonstra a característica clinicamente agressiva do linfoma cutâneo.

Nos padrões hematimétricos analisados, as contagens de hemácias ( $p=0,2268$ ), leucócitos ( $p=0,7859$ ) e plaquetas ( $p=0,2228$ ) não diferiram entre os grupos 5 e 6, mas a média de hemácias foi menor nos animais com linfoma cutâneo e próxima ao valor inferior de normalidade nos animais com linfoma multicêntrico. A contagem diferencial de linfócitos foi significativamente maior nos animais com linfoma multicêntrico, muito embora ainda dentro dos valores de normalidade.

Os exames radiográficos de um animal com linfoma cutâneo e outro com linfoma multicêntrico evidenciaram um quadro clínico de efusão pleural, enquanto os exames de imagem dos demais cães não exibiram alterações significativas.

## DISCUSSÃO

Estudos dosando as concentrações séricas do sIL 2R em cães com linfomas, empregando-se o *kit* canino ainda não haviam sido realizados. Em humanos, há correlação positiva entre as altas concentrações do sIL 2R e o curso mais agressivo de linfomas (Ennishi et al., 2009; Umino et al., 2016; Binder et al., 2017). Todavia, a mesma relação não foi identificada neste estudo, tanto entre os animais saudáveis e doentes, nem entre aqueles com linfoma cutâneo ou linfoma multicêntrico.

Concentrações séricas de sIL 2R, em cães, foram dosadas por Prachar et al. (2013). Os pesquisadores empregaram um teste ELISA padronizado para uso em humanos, em cães saudáveis, com doenças não neoplásicas e neoplasias benignas acompanhadas de processos inflamatórios, e neoplasias malignas. Observaram concentrações de sIL 2R maiores nos animais com doenças não neoplásicas e tumores benignos do que em animais com neoplasias

malignas. Além disso, houve correlação positiva entre a maior concentração do sIL 2R e a contagem aumentada de leucócitos totais, sugerindo que o sIL 2R poderia ser utilizado como um marcador inflamatório e não como um marcador sorológico para neoplasias malignas, como era esperado.

As concentrações do sIL 2R podem sofrer influências de diversos fatores, dentre estes, de doenças inflamatórias e infecciosas. Dessa forma, as neoplasias malignas, como o linfoma, não são o único fator que interfeririam na produção do sIL 2R, pois segundo Umino et al. (2016), não seria um marcador específico para esse tipo neoplásico. Além disso, a contagem leucocitária dentro dos parâmetros de normalidade nos grupos neoplásicos desse estudo, podem ter contribuído para a não elevação da concentração de sIL 2R.

O receptor de IL-2 é composto por três cadeias ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ), sendo a subunidade  $\alpha$  detectada como a porção solúvel (sIL 2R) e expressa pelo CD25 (Tizard, 2008; Umino et al., 2016). Pesquisadores procuraram a relação entre as concentrações séricas do sIL 2R e a expressão de CD25 em células linfomatosas, em casos humanos de linfoma difuso de grandes células B. Os pesquisadores observaram que alguns pacientes exibiam concentrações séricas elevadas do sIL 2R, porém não havia expressão de CD25 nas células linfomatosas, enquanto pacientes com baixas concentrações de sIL 2R exibiam alta expressão de CD25. Diante desses resultados, os autores relacionaram as concentrações séricas do sIL 2R à produção de matrix-metaloproteinase 9 (MMP-9) por macrófagos intratumorais, uma vez que a MMP-9 tem habilidade para clivar a cadeia solúvel ( $\alpha$ ) do IL 2R (De Paiva et al., 2009). Assim, o sIL 2R refletiria a composição do microambiente tumoral e não somente a atividade das células neoplásicas (Yoshida et al., 2013). Com vistas ao relatado, o microambiente relacionado ao linfoma em cães, poderia não exibir a mesma expressão de sIL 2R, como visto em humanos e deverá motivar estudos complementares.

Anteriormente, outros autores haviam avaliado a expressão de CD25 em células neoplásicas de crianças diagnosticadas com diferentes imunofenótipos de Linfoma não-Hodgkin, com o objetivo de descobrir novas estratégias terapêuticas. Os resultados mostraram que não houve expressão de CD25 em casos de linfoma de Burkitt, linfoma difuso de grandes células B e linfoma linfoblástico de células B (Miles et al., 2007). Ou seja, ocorreu ausência de expressão da cadeia  $\alpha$  (solúvel) do IL 2R nas linhagens estudadas, reforçando a possível influência de outros fatores na produção do sIL 2R, além das próprias células neoplásicas.



O Linfoma Hodgkin tem parte da sua malignidade atribuída às células Reed-Sternberg, que aparentemente não expressam IL-2 e exibem expressão variável de IL 2R, fator que poderia interferir na expressão de sIL 2R, nos linfomas (Wolf et al., 1996; Skinnider e Mak, 2002). Assim, os subtipos de linfoma exibem diferentes comportamentos em relação à expressão de sIL 2R, em humanos. Desta forma, o mesmo pode acontecer com os linfomas caninos, além da provável influência do microambiente tumoral, o que não foi aqui investigado.

Nos linfomas, as células neoplásicas são resultado de diversas alterações genéticas, com consequente perda da regulação de genes envolvidos na proliferação e diferenciação celular (Magrath, 1992). Tumores com maior grau de malignidade são constituídos por células mais indiferenciadas e a maioria dos estudos que avaliaram os graus histológicos dos linfomas caninos refere uma menor porcentagem de casos classificados como de baixo grau (Kiupel et al., 1999; Vail e Young, 2007). Isto poderia explicar as maiores concentrações de sIL 2R no grupo de animais saudáveis (910.029 pg/ml), em comparação aos animais com linfoma cutâneo (693.588 pg/ml) e linfoma multicêntrico (679.210 pg/ml).

Em outros tipos neoplásicos, como carcinomas mamários com maior grau de malignidade ou em estágios mais avançados, em cadelas, há diminuição na expressão de genes que codificam alguns receptores, no caso, de estrógeno e progesterona (Peleteiro, 1994). Nos casos de linfoma poderia ocorrer algo semelhante, o que geraria reduzida expressão de sIL 2R. Somado a isso, cães com linfoma têm comprometimento de eficiência do sistema imune mais evidente do que em outros tipos neoplásicos (Weiden et al., 1974), gerando uma desregulação da produção de citocinas (Vendrame e Martínez, 2011), e a consequente redução da sIL 2R nos animais doentes.

Em humanos, outro marcador prognóstico estudado em diferentes tipos de linfomas Hodgkin e não Hodgkin é o CA 125. Alguns estudos mostraram que pacientes humanos diagnosticados com linfoma e com altas dosagens de CA 125 ( $>35$  U/ml) apresentaram doença clínica mais grave, menor tempo livre da doença e menor tempo de sobrevida (Bailey et al., 2003; Prochazka et al., 2012; Mermar et al., 2015) e concentrações séricas acima 35 U/mL são consideradas aumentadas (Bast et al., 1983; Wu et al., 2016). Em cães, esse foi o primeiro estudo conduzido com o objetivo de relacionar esse marcador sorológico com o prognóstico do linfoma. Entretanto, os resultados não mostraram significância nas concentrações de CA 125 entre os grupos de cães saudáveis e com linfoma cutâneo e

multicêntrico. Além disso, em alguns animais dos diferentes grupos, as dosagens de CA 125 foram nulas, talvez por que o CA 125 seja uma glicoproteína de origem celular epitelial, usualmente encontrada no trato genital feminino, mucosa do estômago, cólon e mesotélio de membranas serosas (Kabawat et al., 1983; Harris et al., 1999). Sendo o linfoma uma neoplasia de origem hemolinfática e não epitelial, embora útil para detecção em humanos, em cães poderia não ser um bom marcador. Corroborando a isto, resultados preliminares de um estudo de nosso grupo de pesquisa com neoplasias mamárias, em cães, mostraram elevadas concentrações séricas de CA 125, em comparação com animais saudáveis (Senhorello, 2017 estudo em desenvolvimento), utilizando o mesmo protocolo que o deste estudo.

Para Zacharos et al. (2002), o CA 125 não é secretado pelos linfócitos neoplásicos e seu aumento sérico representaria um estímulo inflamatório das células mesoteliais pleurais, pericárdicas e peritoniais, situações que podem resultar em efusões. Assim, a concentração de CA 125 refletiria a resposta do paciente a uma possível invasão tumoral e sua atividade infiltrativa. Sendo assim, o CA 125 se elevaria em situações de inflamação, o que inclui a infiltração inflamatória tumoral, portanto seria de se esperar concentrações elevadas também em nosso estudo, fato não observado. Todavia, no linfoma, assim como em outros tipos tumorais, o microambiente tumoral e seus componentes podem regular a produção de mediadores inflamatórios locais (Trinchieri, 2011), o que poderia ter contribuído para as baixas concentrações detectadas.

Em nosso estudo, apenas um paciente com linfoma cutâneo e outro com linfoma multicêntrico apresentaram efusão pleural e mesmo assim, as dosagens de CA 125 foram 14,4 U/ml (sobrevida = zero dias) e 8,4 U/ml (sobrevida = 5 dias), respectivamente, portanto, não significativos. Analisando essas informações, embora tenhamos testado o valor do CA 125 sérico como fator prognóstico em apenas dois cães com quadro efusivo, sua elevação na presença de efusão não se confirmou, fato que denota a necessidade de estudos adicionais para se buscar extrair conclusões.

Outros autores também concluíram que não há relação entre a dosagem de CA 125 e o prognóstico de pacientes humanos com linfoma Hodgkin e não-Hodgkin, entre o tempo livre de doença e a sobrevida (Bonnet et al., 2007; Wu et al., 2016).

Os resultados do estudo em tela mostram uma concentração média de CA 125 maior no grupo controle (19,300 U/ml) em comparação com o grupo de animais com linfoma cutâneo (15,423 U/ml) e linfoma multicêntrico (15,236 U/ml). Ainda não está clara a função

fisiopatológica do CA 125, mas sabe-se que ele pode estar aumentado em condições fisiológicas, em mulheres, como na menstruação e fase inicial da gestação, assim como em condições benignas, como na endometriose (Mastropaulo et al., 1986; Jacobs e Bast, 1989) e em epitélio ovariano normal (Dietel et al., 1986). Diante disto, e considerando que o Grupo 4 (controle) é composto exclusivamente por fêmeas não castradas e não prenhes, a maior concentração sérica de CA 125 nesse grupo pode estar relacionada aos hormônios do sistema reprodutor, uma vez que o CA 125 pode exibir aumento em condições fisiológicas.

Os animais desse estudo mostraram que aqueles com linfoma cutâneo apresentaram menor tempo de sobrevida, concordando com os dados de literatura, embora para alguns pesquisadores, a sobrevida possa chegar a até dois anos (Duarte, 2013). Por outro lado, os animais com a forma multicêntrica da doença exibiram maior sobrevida, uma vez que o tratamento quimioterápico pode resultar em maior tempo livre de doença, com boa qualidade de vida, como também observado por Vail e Young (2007). Isso evidencia o quadro clínico agressivo do linfoma cutâneo, muito embora esse fator não tenha interferido nas concentrações séricas de sIL 2R e CA 125.

Os exames hematológicos podem exibir diferentes alterações, porém a anemia é a alteração mais comum em cães com linfoma (Vail e Young, 2007; Couto, 2015). Os animais com linfoma cutâneo (grupos 2 e 5) apresentaram anemia e aqueles com linfoma multicêntrico valores próximos ao limite inferior. A anemia, em diferentes tipos de linfoma, pode decorrer devido à síndrome paraneoplásica, a alterações metabólicas e diminuição da meia-vida das hemácias, ou ainda por baixa resposta medular, por perda sanguínea por lesões neoplásicas, especialmente no linfoma cutâneo (Madewell e Feldman, 1980; Kruth e Carter, 1990), ou comorbidades, como doenças infecciosas. Além disso, a anemia exerce importante influência na qualidade de vida dos animais, podendo estar relacionada ao menor tempo de sobrevida (Cápua et al., 2011). Outra alteração hematológica comum em casos de linfoma são as alterações nas contagens linfocitárias, podendo ocorrer linfopenia ou linfocitose (Proença, 2009). Apesar de os animais com linfoma multicêntrico (grupos 3 e 6) terem apresentado contagens significativas desse componente celular, os valores se encontravam dentro faixa de normalidade para a espécie.

## CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo não evidenciaram significância clínica nos métodos auxiliares não invasivos para determinação do prognóstico, nas dosagens dos marcadores sorológicos sIL 2R e CA 125 em cães com linfoma cutâneo ou multicêntrico.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, L.C.F.; BASTOS, M.G. Sistema receptor para Interleucina-2 (IL-2). *Jornal Brasileiro de Nefrologia*. v.17, n.2, p. 78-84, 1995.
- BAIREY, O.; BLICKSTEIN, D.; STARK, P. et al. Serum CA 125 as a prognostic factor in non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia & Lymphoma*. v. 44, p.1733–8, 2003.
- BAST, R.C.; KLUG, T.L.; JOHN, E. et al. A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *The New England Journal of Medicine*. v.309, p.883–7, 1983.
- BIEN, E.; BALCERSKA, A. Serum soluble interleukin 2 receptor a in human cancer of adults and children: a review. *Biomarkers*, v.13, n.1, p.1-26, 2008.
- BINDER, M.; O'BYRNE, M.M.; MAURER, M.J. et al. Associations between elevated pre-treatment serum cytokines and peripheral blood cellular markers of immunosuppression in patients with lymphoma. *Am J Hematol*, v.92, n.8, p.752-758, 2017.
- BISCHOF, P. What do we know about the origin of CA 125?, *European Journal of Obstetrics Gynecology Reproductive Biology*, v.49, p.93–98, 1993.
- BONNET, C.; BEGUIN, Y.; FASSOTTE, M. et al. Limited usefulness of CA125 measurement in the management of Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *European Journal of Haematology*, v.78, p.399-404, 2007.
- CAMPOS, L.C.; LAVALLE, G.E.; ESTRELA-LIMA, A. et al. CA15.3, CEA and LDH in Dogs with Malignant Mammary Tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.26, n.6, p.1383-1388, 2012.
- CAPELOZZI, V.L. Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v.27, n.6, p.321-28, 2001.
- CÁPUA, M.L.B.; COLETA, F.E.D.; CANESIN, A.P.M.N. et al. Linfoma canino: clínica, hematologia e tratamento com o protocolo de Madison-Wisconsin. *Ciência Rural*, v.41, n.7, p.1245-1251, 2011.

- COUTO, C.G. Citologia. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. (Ed). Medicina interna de pequenos animais. Rio de Janeiro: ELSEVIER, 2015. p.1126-1133.
- DE NARDI, A.B. RODASKI, S.; ROCHA, N.S.; FERNANDES, S.C. Neoplasias Mamárias. In: DALECK, C.R.; DE NARDI, A.B.; RODASKI, S. (Eds.) Oncologia em Cães e Gatos. São Paulo: ROCA, 2008. p. 372-383.
- DE PAIVA, C.S.; YOON, K.C.; PANGELINAN, S.B. et al. Cleavage of functional IL-2 receptor alpha chain (CD25) from murine corneal and conjunctival epithelia by MMP-9. *Journal of Inflammation*, v.6, n.31, p.1-11, 2009.
- DIETEL, M.; ARPS, H.; KLAPDOR, R. et al. Antigen detection by the monoclonal antibodies CA19-9 and CA15 in normal and tumor tissue. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, v.111, p.257-265, 1986.
- DUARTE, A.R. Resposta do linfoma cutâneo canino à Lomustina – achados clínicos, imunohistoquímicos e expressão de MDR-1. 2013. 93f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.
- ENNISHI, D.; YOKOYAMA, M.; TERUI, Y. et al. Soluble interleukin-2 receptor retains prognostic value in patients with diffuse large B-cell lymphoma receiving rituximab plus CHOP (RCHOP) therapy. *Annals of Oncology*, v.20, p.526–533, 2009.
- GAMA, A.; PAREDES, J.; GÄRTNER, F. et al. Expression of E-cadherin, P-cadherin and  $\beta$ -catenin in canine malignant mammary tumors in relation to clinicopathological parameters, proliferation and survival. *The Veterinary Journal*, v.177, p.45-53, 2008.
- HARRIS, L.; FRITSCH, H.; MENNEL, R. et al. American Society of Clinical Oncology 2007: Update of recommendations for the use tumor markers in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, v.25, p.5287–5312, 2007.
- HARRIS, N.L.; JAFFE, E.S.; ARMITAGE, J.O.; SHIPP, M. Lymphoma classification: from R.E.A.L. to W.H.O. and beyond. *Cancer: Principles and Practice of Oncology Updates*, v.13, n.3, p.1-14, 1999.
- JACOBS, I.; BAST, R.C. The CA 125 tumor-associated antigen: a review of the literature. *Human reproduction*, v.4, n.1, p.1-12, 1989.
- JARK, P.; VARGAS-HERNÁNDEZ, G.; ANAI, L.A.; TINUCCI-COSTA, M. Epidemiological Study of 60 cases of Cutaneous Lymphoma in Dogs in São Paulo State, Brazil. In: World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) Congress, 39., 2014, Cape Town, South Africa. *Anais...*(Resumo).

- KABAWAT, S.E.; BAST, R.C.; BHAN, A.K. et al. Tissue distribution of a coelomic epithelium related antigen recognized by the monoclonal antibody OC125. *International Journal of Gynecological Pathology*, v.2, p.275-85 1983.
- KIUPEL, M.; TESKE, E.; BOSTOCK, D. Prognostic factors for treated canine malignant lymphoma. *Veterinary Pathology*, v. 36, p. 292-300, 1999.
- KRUTH, S.A.; CARTER, R.F. Laboratory abnormalities in patients with cancer. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, v.20, n.4, p.897-917, 1990.
- LAZZARINO, M.; ORLANDI, O.; KLERSY, C. et al. Serum CA 125 Is of Clinical Value in the Staging and Follow-Up of Patients with Non-Hodgkin's Lymphoma: correlation with tumor parameters and disease activity. *American Cancer Society*, p.576-582, 1998.
- MADEWELL, B.R.; FELDMAN, B.F. Characterization of anemias associated with neoplasia in small animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.176, n.5, p.419-425, 1980.
- MAGRATH, I. Molecular basis of lymphomagenesis. *Cancer Res*, v.52, p.5529-40, 1992.
- MASTROPAULO, W.; FERNANDEZ, Z.; MILLER, E. Pronounced increase in the concentration of an ovarian tumour marker CA-125 in serum of a healthy subject during menstruation. *Clinical Chemistry*, v.32, p.2110–2111, 1986.
- MERMAR, B.; ALEDAVOOD, A.; SHAHIDSALES, S. et al. The Prognostic Role of Tumor Marker CA-125 in B-Cell non-Hodgkin's Lymphoma. *Iranian Journal of Cancer Prevention*, v.1, p.42-6, 2015.
- MILES, R.R.; CAIRO, M.S.; SATWANI, P. et al. Immunophenotypic identification of possible therapeutic targets in paediatric non-Hodgkin lymphomas: a children's oncology group report. *British Journal of Haematology*, v.138, p.506–512, 2007.
- MINAMI, Y.; KONO, T.; MIYAZAKI, T.; TANIGUCHI, T. The IL-2 Receptor Complex. Its Structure function, and target genes. *Annu Rev Immunol*, v.11, p.245-67, 1993.
- MORRISON, W.B. Lymphosarcoma. In: Morrison W.B. (Ed). *Cancer in dogs and cats*. Philadelphia: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, 1998. p.688-691.
- PELETEIRO, M.C. Tumores mamários na cadela e na gata. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.89, n.509, p. 10-28, 1994.
- PRACHAR, C.; KAUP, F.J.; NEUMANN, S. Soluble Interleukin 2 Receptor-Alpha (sIL-2R $\alpha$ ) in the Peripheral Blood of Dogs—Comparison of Malignant Neoplasia with Other Diseases. *Open Journal of Veterinary Medicine*, v.3, p.176-183, 2013.

- PROCHAZKA, V.; FABER, E.; RAIDA, L. et al. High serum carbohydrate antigen-125 (CA-125) level predicts poor outcome in patients with follicular lymphoma independently of the FLIPI score. *International Journal of Hematology*, v.96, n.1, p.58-64, 2012.
- PROENÇA, A.R.S.G. Linfoma maligno multicêntrico canino. 2009. 117f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- RUBIN, L.A.; NELSON, D.L. The Soluble Interleukin-2 Receptor: Biology, Function, and Clinical Application. *Annals of Internal Medicine*, v.113, n.8, p.619-627, 1990.
- RUBIN, L.A.; JAY, G.; NELSON, D.L. The Release Interleukin 2 Receptor binds Interleukin 2 Efficiently. *J Immunol*, v.137, p.3841-44, 1986.
- SANUSI, A.A.; ZWEERS, M.M.; WEENING, J.J. et al. Expression of cancer antigen 125 by peritoneal mesothelial cells is not influenced by duration of peritoneal dialysis. *Peritoneal Dialysis International*, v.21, n.5, p.495-500, 2001.
- SENHORELLO, I.L.S. Valor clínico do CEA e AFP na detecção de carcinoma de mama em cadelas. 2017. 29f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.
- SEON, A.J.; SANG-HYUN, M.D.; CHULHUN, L.C. et al. Clinical Relevance of Elevated Levels of Serum Soluble Interleukin-2 Receptor alpha (sIL-2Ra) in Patients with Non-Hodgkin's Lymphoma. *The Korean Journal of Laboratory Medicine*, v.30, p.600-5, 2010.
- SKINNIDER, B.F.; MAK, T.W. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood*, v.99, p.4283-4297, 2002.
- STURGEON, C.M; DUFFY, M.J.; STENMAN, U.H et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for Use of Tumor Markers in Testicular, Prostate, Colorectal, Breast, and Ovarian Cancers. *Clinical Chemistry*, v.54, p.12, 11-79, 2008.
- TIZARD, R. *Veterinary Immunology*. Saunders, St. Louis/Missouri. 2008.
- TRINCHIERI, G. Inflammation. In: DEVITA Jr, V.T.; LAWRENCE, T.; ROSENBERG, S.A. (Eds) *Cancer: principles & practice of oncology*. 9. ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p.193-202.
- UEHARA, M.; KINOSHITA, T.; HOJO, T. et al. Long-term prognostic study of carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen 15-3 (CA 15-3) in breast cancer. *International Journal of clinical oncology*, v.13, n.5, p.447-451, 2008.

- UMINO, K.; FUJIWARA, S.; ITO, S. et al. Serum soluble interleukin-2 receptor level at diagnosis predicts transformation in patients with follicular lymphoma. *Leukemia & Lymphoma*, v.58, p.1-9, 2016.
- VAIL, D.M. Tumors of the haemopoietic system. In: DOBSON, J.M.; LASCELLES, B.D.X. *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*. 3<sup>a</sup> ed. Wiley e Sons, 2011. p.285-291.
- VAIL, D.M.; YOUNG, K.M. Canine lymphoma and lymphoid leukemia. In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. *Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2007. p.699-733.
- VARGAS-HERNÁNDEZ, G. Linfomas cutâneos em cães: estudo epidemiológico, morfológico, imunofenotípico e seroproteico. 2017. 105f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.
- VENDRAME, E.; MARTÍNEZ-MAZA, O. Assessment of pre-diagnosis biomarkers of immune activation and inflammation: insights on the etiology of lymphoma. *Journal of Proteome Research*, v.10, n.1, p.113-9, 2011.
- VONDERHEIND, E.C.; ZHANG, Q.; LESSIN, S.R. et al. Use of serum soluble interleukin-2 receptor levels to monitor the progression of cutaneous T-cell lymphoma. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v.38, n.2, p.207-220, 1998.
- WANG, G.; QIN, Y.; ZHANG, J. et al. Nipple discharge of CA15-3, CA125, CEA and TSGF as a new biomarker panel for breast cancer. *International journal of molecular sciences*, v.15, n.6, p.9546-9565, 2014.
- WEIDEN, P.L.; STORB, R.; KOLB, H.J. et al. Immune reactivity in dogs with spontaneous malignancy. *Journal of the National Cancer Institute*, v.53, n.4, p.1049-56, 1974.
- WOLF, J.; KAPP, U.; BOHLEN, H. et al. Peripheral blood mononuclear cells of a patient with advanced Hodgkin's lymphoma give rise to permanently growing Hodgkin-Reed Sternberg cells. *Blood*, v.87, p.418-3428, 1996.
- WU, J.; TIAN, T.; HUANG, Y. et al. Liang J. Serum carbohydrate antigen 125 concentration as a superior predictor for serosal effusion at diagnosis and a prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Biomarkers*, v.17, p.205-212, 2016.
- YOSHIDA, N.; ODA, M.; KURODA, Y. et al. Clinical Significance of sIL-2R Levels in B-Cell Lymphomas. *Plos One*, v.8, n.11, p.1-10, 2013.



ZACHAROS, I.D.; EFSTATHIOU, S.P.; PETRELI, E. et al. The prognostic significance of CA 125 in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *European Journal of Haematology*. v.69, p.221–6, 2002.