

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 23/04/2028.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

VINICIUS OLIVEIRA GOMES

**Avaliação do Toceranibe no carcinoma hepatocelular canino não
ressecável, correlação entre resposta terapêutica e expressão imuno-
histoquímica de receptores tirosina quinase**

Botucatu – São Paulo
2026

Vinicius Oliveira Gomes

**Avaliação do Toceranibe no carcinoma hepatocelular canino não
ressecável, correlação entre resposta terapêutica e expressão imuno-
histoquímica de receptores tirosina quinase**

Dissertação apresentada junto ao programa
de Pós-graduação em Medicina Veterinária
para obtenção do título de Mestre
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Fonseca
Alves

Botucatu – São Paulo
2026

G633a	Gomes, Vinicius Avaliação do Toceranibe no carcinoma hepatocelular canino não ressecável, correlação entre resposta terapêutica e expressão imuno-histoquímica de receptores tirosina quinase / Vinicius Gomes. -- Botucatu, 2026 49 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu Orientador: Carlos Eduardo Fonseca Alves 1. Veterinary oncology. 2. Biologic markers. 3. Carcinoma hepatocelular. 4. Imunohistoquímica. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

IMPACTO POTENCIAL DESSA PESQUISA

Avaliação do Toceranibe no carcinoma hepatocelular canino não ressecável, correlação entre resposta terapêutica e expressão imuno-histoquímica de receptores tirosina quinase

Impacto científico esperado: Entendimento da expressão de receptores tirosina-quinase em cães com carcinoma hepatocelular como potencial alvo terapêutico.

Impacto Social: O Carcinoma hepatocelular é a neoplasia hepática mais comum em cães, entender a expressão destes receptores pode direcionar a tomada de terapias mais eficientes aumentando a expectativa de vida desses animais.

Impacto econômico: Direcionar melhor o tratamento e evitando gastos desnecessários com medicamentos não efetivos, gerando economia ao tutor e melhor cuidado com o paciente.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Evaluation of Toceranib in unresectable canine hepatocellular carcinoma, correlation between therapeutic response and immunohistochemical expression of tyrosine kinase receptors

Expected scientific impact: Understanding the expression of tyrosine kinase receptors in dogs with hepatocellular carcinoma as potential therapeutic targets.

Social impact: Hepatocellular carcinoma is the most common hepatic neoplasm in dogs. Understanding the expression of these receptors may guide the selection of more effective therapies, increasing the life expectancy of affected animals.

Economic impact: Improving treatment selection and avoiding unnecessary expenses with ineffective drugs, resulting in cost savings for owners and better care for patients.

Nome do autor: Vinicius Oliveira Gomes

Título: Avaliação do Toceranibe no carcinoma hepatocelular canino não ressecável, correlação entre resposta terapêutica e expressão imuno-histoquímica de receptores tirosina quinase

COMISSAO EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Eduardo Fonseca Alves
Presidente e Orientador
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu, São Paulo.

Profa. Dra. Patricia De Faria Lainetti
Membro da Banca
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu, São Paulo

Prof. Dr. Igor Simões Tiagua Vicente
Membro da Banca
Laboratório VetPrecision – Botucatu, São Paulo

AGRADECIMENTOS

Ao laboratório VetPrecision pela parceria.

Ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária UNESP – FMVZ.

Ao meu orientador Prof Carlos Eduardo Fonseca Alves pela oportunidade e suporte.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Tabela 1. Características demográficas e clínicas da população estudada.....	30
Tabela 2. Expressão dos marcadores avaliados	31
Figura 1. Gráfico do tipo swimmer plot, demonstrando a trajetória individual dos pacientes	32
Figura 2. análise exploratória por meio de Análise de Correspondência Múltipla para identificar possíveis tendências entre as variáveis categóricas	33
Tabela 3. Correlação entre histórico de tratamento prévio e a resposta terapêutica	34
Tabela 4. associação entre a presença de eventos adversos e o tipo de resposta ao tratamento	35
Tabela 5. Correlação com a resposta clínica e expressão de PDGFR	36
Tabela 6. Correlação com a resposta clínica e a expressão de VEGFR	36
Figura 3. Análise de sobrevivência de Kaplan-Meier para avaliar o valor prognóstico dos marcadores	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	– Alanina aminotransferase
AKT	– Proteína quinase B
CHC	– Carcinoma hepatocelular
COX-2	– Ciclooxigenase-2
FA	– Fosfatase alcalina
TOC	– Fosfato de toceranibe
GGT	– Gama-glutamilttransferase
IHQ	– Imuno-histoquímica
ITQ	– Inibidor de tirosina quinase
KIT (c-KIT)	– Receptor tirosina quinase tipo III
MAPK	– Proteína quinase ativada por mitógeno
OS	– Sobrevida global
PD	– Doença progressiva (Progressive Disease)
PDGFR	– Receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas
PFS	– Sobrevida livre de progressão
PI3K	– Fosfatidilinositol-3-quinase
PR	– Resposta parcial (Partial Response)
RC	– Resposta completa (Complete Response)
RECIST	– Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
RTK	– Receptor tirosina quinase
SD	– Doença estável (Stable Disease)
TACE	– Quimioembolização transarterial
TKI	– Tyrosine kinase inhibitor (Inibidor de tirosina quinase)
VEGFR	– Receptor do fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

Resumo	11
Abstract	12
1 Introdução	13
2 Revisão de Literatura	14
2.1 Neoplasias hepáticas	14
2.2 Etiologia e Epidemiologia	16
2.3 Sinais clínicos	18
2.4 Diagnóstico	18
2.5 Tratamento	19
2.6 Inibidores de tirosina quinase	22
2.8 Prognóstico	23
3 Objetivos	25
4 Justificativa	26
5 Metodologia	27
6 Resultados	29
7 Discussão	37
8 Conclusão.....	41
9 Capítulo 3	43
10 Referências	47

Resumo

O carcinoma hepatocelular (CHC) é a neoplasia hepática primária mais frequente em cães, apresentando comportamento biológico variável e opções terapêuticas limitadas nos casos não ressecáveis. Nesse contexto, o toceranibe (TOC) tem sido utilizado como alternativa terapêutica na oncologia veterinária, embora ainda existam poucos dados sobre sua eficácia em CHC e sobre biomarcadores preditivos de resposta. O presente estudo teve como objetivo avaliar a resposta clínica ao TOC em cães com carcinoma hepatocelular não ressecável e correlacionar os desfechos clínicos com a expressão imuno-histoquímica de receptores tirosina quinase. Foi realizada análise de 25 cães diagnosticados com CHC e tratados com TOC, com avaliação dos marcadores KIT, PDGFR- β e VEGFR-2 por imuno-histoquímica. A resposta clínica foi classificada em resposta completa, resposta parcial, doença estável e doença progressiva, e a sobrevida global foi avaliada por análise de Kaplan-Meier. Observou-se elevada taxa de benefício clínico, com resposta completa em 4% dos casos, resposta parcial em 36%, doença estável em 52% e doença progressiva em 8%. Todos os tumores apresentaram baixa expressão de KIT, enquanto alta expressão de PDGFR- β e VEGFR-2 foi observada na maioria dos casos. A alta expressão de PDGFR- β foi associada a uma maior sobrevida nos pacientes tratados ($p < 0,05$). Os achados indicam que o TOC pode representar uma opção terapêutica promissora no manejo do CHC não ressecável e o PDGFR- β pode ser um forte indicador de resposta e aumento de sobrevida para os pacientes com CHC.

Palavras-chave: neoplasia; biomarcadores; câncer; preditivo; PDGFR; VEGFR.

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common primary hepatic neoplasm in dogs, exhibiting variable biological behavior and limited therapeutic options in non-resectable cases. In this context, toceranib (TOC) has been used as a therapeutic alternative in veterinary oncology, although there is still limited evidence regarding its efficacy in HCC and the identification of predictive biomarkers of response. The present study aimed to evaluate the clinical response to TOC in dogs with non-resectable hepatocellular carcinoma and to correlate clinical outcomes with the immunohistochemical expression of tyrosine kinase receptors. A total of 25 dogs diagnosed with HCC and treated with TOC were included, and the expression of KIT, PDGFR- β , and VEGFR-2 was assessed by immunohistochemistry. Clinical response was classified as complete response, partial response, stable disease, or progressive disease, and overall survival was evaluated using Kaplan–Meier analysis. A high clinical benefit rate was observed, with complete response in 4% of cases, partial response in 36%, stable disease in 52%, and progressive disease in 8%. All tumors showed low KIT expression, whereas high expression of PDGFR- β and VEGFR-2 was observed in the majority of cases. High PDGFR- β expression was significantly associated with increased survival in treated patients ($p < 0.05$). These findings suggest that TOC may represent a promising therapeutic option for the management of non-resectable HCC, and that PDGFR- β may serve as a strong predictive biomarker of treatment response and improved survival in dogs with hepatocellular carcinoma.

Keywords: neoplasia; cancer; biomarkers; predictive; PDGFR-beta; VEGFR-2.

CAPÍTULO I

1. Introdução

As neoplasias hepáticas em cães constituem um grupo heterogêneo de tumores que podem se originar de diferentes tipos celulares presentes no fígado, incluindo hepatócitos, epitélio biliar, componentes vasculares e células hematopoéticas. Embora o fígado seja frequentemente acometido por metástases devido à sua intensa vascularização e ao seu papel como órgão de filtração sanguínea, neoplasias hepáticas primárias também ocorrem na espécie canina e apresentam grande diversidade histológica e comportamento biológico variável (CULLEN; STALKER, 2016; WITHROW; VAIL; PAGE, 2020).

Entre essas neoplasias, tumores de origem epitelial, mesenquimal e de células redondas podem acometer o parênquima hepático, apresentando diferentes padrões de crescimento, potencial metastático e prognóstico (CULLEN; STALKER, 2016; WITHROW; VAIL; PAGE, 2020). Essa heterogeneidade biológica representa um desafio tanto para o diagnóstico quanto para o manejo terapêutico desses pacientes.

O tratamento de escolha para tumores hepáticos primários ressecáveis é a remoção cirúrgica completa, especialmente em lesões localizadas e de crescimento expansivo (LAGASSE et al., 2015; WITHROW; VAIL; PAGE, 2020). Entretanto, muitos pacientes são diagnosticados em estágios avançados ou apresentam tumores multifocais ou difusos, o que limita a possibilidade de ressecção cirúrgica curativa (LAPSLEY et al., 2022). Nesses casos, as opções terapêuticas disponíveis são restritas e frequentemente apresentam eficácia limitada.

Nesse contexto, terapias alvo-moleculares apresentam crescente interesse na oncologia veterinária. Entre essas abordagens, destacam-se os inibidores de tirosina quinase (ITKs), fármacos capazes de bloquear receptores envolvidos em vias de sinalização associadas à proliferação celular,

angiogênese e sobrevivência tumoral (HUBER et al., 2020; HAHN et al., 2020). O toceranibe fosfato (TOC) é um inibidor multiquinase aprovado para uso em cães e atua principalmente sobre os receptores VEGFR-2, PDGFR- β e c-KIT, interferindo em vias de sinalização importantes para o crescimento tumoral e para a angiogênese (HENRY et al., 2018; HUBER et al., 2020). Embora inicialmente desenvolvido para o tratamento de mastocitomas caninos, esse fármaco tem demonstrado atividade antitumoral em diferentes neoplasias sólidas, ampliando seu potencial de aplicação na oncologia veterinária (DE NARDI et al., 2020).

Entretanto, a resposta terapêutica aos inibidores de tirosina quinase é variável entre os pacientes, sugerindo que fatores moleculares intrínsecos ao tumor podem influenciar a eficácia dessas terapias (HENRY et al., 2018; HUBER et al., 2020). Nesse sentido, a identificação de biomarcadores capazes de prever a resposta ao tratamento representa um dos principais desafios atuais na oncologia veterinária.

8. REFERÊNCIAS

ALONSO-MIGUEL, D. et al. Multimodal antiangiogenic therapy in canine inflammatory mammary carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 20, n. 4, p. 834–843, 2022.

AVMA. U.S. Pet Ownership & Demographics Sourcebook. Schaumburg: American Veterinary Medical Association, 2022.

BAEK, J. H. et al. Prognostic significance of Ki-67, CK19 and MCL-1 expression in canine hepatocellular carcinoma. *Veterinary Pathology*, v. 62, n. 2, p. 210–220, 2025.

BORREGO, J. F. et al. Epidemiology and histopathological features of canine hepatocellular carcinoma. *Veterinary Pathology*, v. 62, n. 1, p. 34–44, 2025.

BRUIX, J.; CHENG, A. L.; MEEKER, A. K. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Nature Reviews Clinical Oncology*, v. 16, n. 10, p. 575–589, 2019.

CHOI, J. H. et al. Long-term control of combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma in a dog treated with toceranib phosphate. *Veterinary Medicine and Science*, v. 9, n. 2, p. 456–462, 2023.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, 1988.

CULLEN, J. M.; POPP, J. A. Tumors of the liver and gall bladder. In: MEUTEN, D. J. *Tumors in Domestic Animals*. 4. ed. Ames: Iowa State Press, 2002. p. 483–508.

CULLEN, J. M.; STALKER, M. J. Liver and biliary system. In: MAXIE, M. G. Jubb, Kennedy & Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. 6. ed. St. Louis: Elsevier, 2016. p. 258–352.

DE NARDI, A. B. et al. Toceranib phosphate in veterinary oncology: mechanisms of action and clinical applications. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 18, n. 2, p. 179–190, 2020.

De Moura, F.B.C., Amorim, R.L. & Fonseca-Alves, C.E. Tyrosine kinase inhibitors in canine solid tumours: a systematic review of indications, response and safety. *Vet. Oncol.* 2, 21 (2025). <https://doi.org/10.1186/s44356-025-00036-1>

DOS ANJOS, D. S. et al. Standardization of immunohistochemical evaluation of tyrosine kinase receptors in canine tumors. *Veterinary Pathology*, v. 51, n. 6, p. 1085–1094, 2014.

DOS ANJOS, D. S. et al. Immunohistochemistry screening of different tyrosine kinase receptors in canine solid tumors—Part I: Proposal of a receptor panel to predict therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 15, p. 8438, 2024. DOI: 10.3390/ijms25158438.

FARRELLY, J. et al. Stereotactic body radiation therapy for primary hepatic tumors in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v. 61, n. 4, p. 451–460, 2020.

GARCÍA, R. et al. The role of tyrosine kinase inhibitors in veterinary oncology: a review. *Veterinary Oncology Journal*, v. 18, n. 2, p. 123–135, 2022.

GARCÍA-DE LA VIRGEN, J. et al. Toceranib combined with carprofen for inflammatory mammary carcinoma in dogs: a prospective study. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 22, n. 1, p. 45–54, 2024.

GIBSON, A. et al. Transarterial chemoembolization for treatment of canine hepatocellular carcinoma. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v. 63, n. 2, p. 245–254, 2022.

HAHN, K. A. et al. Masitinib mesylate in canine oncology: biological rationale and clinical experience. *The Veterinary Journal*, v. 255, p. 105419, 2020.

HEATON, C. M. et al. Toceranib phosphate for treatment of apocrine gland anal sac adenocarcinoma in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 18, n. 3, p. 432–441, 2020.

HENRY, C. J. et al. Safety and efficacy of toceranib phosphate (Palladia®) in dogs with solid tumors: a review. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 16, n. 4, p. 505–515, 2018.

Hindriks E, Bergmann W, Ruiz AM, Zandvliet MMJM, Sijts AJAM, Broere F. Evaluating VEGFR2 as a Target for Anti-Tumour Therapy in Canine Melanoma. *Vet Comp Oncol*. 2026 Mar;24(1):95-104. doi: 10.1111/vco.70029. Epub 2025 Nov 30. PMID: 41319225; PMCID: PMC12875754.

HUBER, K. et al. Tyrosine kinase inhibitors in veterinary oncology: current knowledge and future perspectives. *The Veterinary Journal*, v. 262, p. 105512, 2020.

JONES, M.; WILSON, P. Molecular targets for cancer therapy in veterinary medicine. *Journal of Comparative Oncology*, v. 14, n. 4, p. 289–302, 2019. KIM, S. et al. Immunohistochemical profiling of receptor tyrosine kinases in canine tumors. *Veterinary Pathology*, v. 58, n. 1, p. 45–54, 2021.

KIM, J. H. et al. Clinical response of metastatic canine hepatocellular carcinoma treated with toceranib phosphate. *Veterinary Record Case Reports*, v. 11, n. 1, e720, 2023.

KIM, J. H. et al. Pharmacokinetics and safety of toceranib phosphate in dogs with solid tumors. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 23, n. 1, p. 98–107, 2025.

KUDO, M. et al. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomized phase 3 non-inferiority trial. *The Lancet*, v. 391, n. 10126, p. 1163–1173, 2018.

LAGASSE, C. et al. Hepatocellular carcinoma in dogs: clinical outcome and prognostic factors after surgical resection. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 29, n. 4, p. 1245–1253, 2015.

LAPSLEY, J. M. et al. Surgical outcome and prognostic indicators in dogs with hepatocellular carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 36, n. 3, p. 1094–1103, 2022.

LEE, H.; PARK, J. Advances in targeted therapy for canine cancers: focus on tyrosine kinase inhibitors. *Animal Cancer Research*, v. 10, n. 3, p. 210–218, 2020.

LIPSCOMB, T. P. et al. Hepatobiliary tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 47, n. 3, p. 527–543, 2017.

LIPTAK, J. M.; WITHROW, S. J. Cancer of the gastrointestinal tract. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; PAGE, R. L. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2014. p. 405–455.

LIPTAK, J. M. Cancer of the gastrointestinal tract. In: VAIL, D. M.; THAMM, D. H.; LIPTAK, J. M. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 6. ed. St. Louis: Elsevier, 2019. p. 432–448.

LIU, Y. et al. Role of angiogenesis in hepatocellular carcinoma: molecular mechanisms and therapeutic approaches. *Cancer Letters*, v. 414, p. 1–9, 2017.

Maeda S, Sakai K, Kaji K, Iio A, Nakazawa M, Motegi T, Yonezawa T, Momoi Y. Lapatinib as first-line treatment for muscle-invasive urothelial carcinoma in dogs.

Sci Rep. 2022 Jan 13;12(1):4. doi: 10.1038/s41598-021-04229-0. PMID: 35027594; PMCID: PMC8758709.

MAKSIMOVIĆ, A. et al. Morphological patterns and prognostic factors in canine hepatocellular carcinoma. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 37, n. 1, p. 56–65, 2025.

MARCONATO, L. et al. Efficacy and safety of chemotherapy for nonresectable canine hepatocellular carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 9, n. 1, p. 37–44, 2011.

MARCONATO, L. et al. Sorafenib for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma: preliminary toxicity and activity data in dogs. *Cancers*, v. 12, n. 5, p. 1272, 2020.

MCGLYNN, K. A.; PETRICK, J. L.; EL-SERAG, H. B. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, v. 77, n. 2, p. 711–726, 2023.

PATNAIK, A. K.; HURVITZ, A. I.; LIEBERMAN, P. H. Canine hepatic neoplasms: a clinicopathologic study. *Veterinary Pathology*, v. 17, n. 5, p. 553–564, 1980.

PATNAIK, A. K.; HURVITZ, A. I.; LIEBERMAN, P. H. Hepatocellular carcinoma in the dog. *Veterinary Pathology*, v. 18, n. 4, p. 427–438, 1981.

RIPPY, S. B. et al. Pilot study of toceranib phosphate combined with vinblastine for canine transitional cell carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 14, n. 2, p. 178–187, 2016.

SHEPPARD-OLIVARES, L. et al. Clinical benefit of toceranib phosphate in dogs with thyroid carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, v. 18, n. 4, p. 529–538, 2020.

SMITH, D. et al. Hepatocellular carcinoma in dogs: clinical features and outcomes. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 34, n. 5, p. 1950–1958, 2020.

THOMPSON, R. et al. Personalized oncology in veterinary medicine: integrating immunohistochemistry and targeted therapies. *Veterinary Science Advances*, v. 5, n. 2, p. 67–79, 2018.

VILLANUEVA, A. Hepatocellular carcinoma. *New England Journal of Medicine*, v. 380, n. 15, p. 1450–1462, 2019.

WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; PAGE, R. L. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 6. ed. St. Louis: Elsevier, 2020

Yamazaki H, Tanaka T, Mie K, Nishida H, Miura N, Akiyoshi H. Assessment of postoperative adjuvant treatment using toceranib phosphate against adenocarcinoma in dogs. *J Vet Intern Med*. 2020 May;34(3):1272-1281. doi: 10.1111/jvim.15768. Epub 2020 Apr 8. PMID: 32267594; PMCID: PMC7255667.