



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Medicina Veterinária
Câmpus de Araçatuba

Bruna Yukie Nakaguma Sato

EFICIÊNCIA DA IMUNOTERAPIA NO TRATAMENTO DO LINFOMA DE CÉLULAS B EM CÃES

Araçatuba – São Paulo
2017

Bruna Yukie Nakaguma Sato

EFICIÊNCIA DA IMUNOTERAPIA NO TRATAMENTO DO LINFOMA DE CÉLULAS B EM CÃES

Trabalho Científico, como parte do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, câmpus de Araçatuba, para obtenção do grau de Médico Veterinário.

Profa. Dra. VALÉRIA MARÇAL FELIX DE LIMA

**Araçatuba – São Paulo
2017**

ENCAMINHAMENTO

Encaminhamos o presente Trabalho Científico para que a Comissão de Estágios Curriculares tome as providências cabíveis.

Bruna Yukie Nakaguma Sato
Estagiária

Profa. Dra. Valéria Marçal Felix de Lima
Orientadora

Araçatuba – São Paulo
Julho / 2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente ao Senhor Jesus, pois Ele me amou primeiro, alguém contrário a tudo o que Ele é e que nunca se importou com Seu falar, mas mesmo assim foi fiel à mim, ficou ao meu e me sustentou em todos os momentos. Agradeço também à minha família, mãe, avó e irmã. Sem o apoio de vocês não seria quem sou hoje e nem conseguiria chegar até aqui. Obrigada por todo o carinho, dedicação e sacrifício. À professora Valéria Marçal Felix de Lima que, com paciência e dedicação, orientou-me, esclarecendo as dúvidas e auxiliando a tomar as decisões corretas. Ao Kipper (*in memoriam*) que durante sua curta passagem pela minha vida me ensinou o que é amor, simplicidade e lealdade. Obrigada pelo companheirismo e momentos felizes ao longo de seus nove anos de vida. Nunca te esquecerei. Obrigada por ter existido.

EFICIÊNCIA DA IMUNOTERAPIA NO TRATAMENTO DO LINFOMA DE CÉLULAS B EM CÃES

Bruna Yukie Nakaguma Sato

RESUMO

O linfoma é o tumor de maior ocorrência espontânea em cães, sendo o de células B a forma mais comum. O objetivo da imunoterapia é iniciar ou reiniciar as respostas do sistema imune contra as células cancerígenas evitando a amplificação e a propagação tumoral. Esta revisão sistemática teve como objetivo avaliar a eficiência da imunoterapia para o tratamento de linfoma de células B em cães. MÉTODO: foram consultados as bases de dados PUBMED, e Science Direct com acesso através do Capes Periódicos durante março a maio de 2017 e a estratégia utilizada foi “immunotherapy” OR “vaccine” AND “B-cell” AND “lymphoma” AND “canine”. Foram incluídos apenas ensaios experimentais com data de publicação nos últimos dez anos, idioma inglês e relacionados a métodos imunoterápicos, isolados ou associados com outra forma de tratamento. RESULTADOS: a busca resultou em 867 artigos e após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão foram selecionados 8 trabalhos, sendo que 87,5% abordaram a vacina como método de realização da imunoterapia, 25% eram randomizados e duplo-cego. CONCLUSÃO: há uma variedade de imunoterapias que estimulam o sistema imune, causando efeito antitumoral, melhorando a sobrevivência e o tempo de remissão do tumor sem gerar efeitos colaterais graves. Portanto, estas deveriam ser avaliadas com maiores estudos, randomizados e com maior número de cães, a fim de verificar sua eficiência e interação medicamentosa quando associadas a diversos protocolos quimioterápicos realizados prévia, concomitante e posteriormente à imunoterapia.

Palavras-chave: vacina, imunoterapia, câncer, linfoma.

EFFECTIVENESS OF IMUNOTHERAPY IN THE TREATMENT OF B-CELL LYMPHOMA IN DOGS

Bruna Yukie Nakaguma Sato

SUMMARY

Lymphoma is the most spontaneously occurring tumor in dogs and the B-cell lymphoma is the most common form. The goal of immunotherapy is to initiate or re-initiate immune responses against cancer cells by avoiding tumor amplification and propagation. This systematic review aimed to evaluate the efficiency of immunotherapy for the treatment of B-cell lymphoma in dogs. METHODS: PUBMED, and Science Direct databases were accessed through Capes Periodics during March to May of 2017 and the strategy used was “immunotherapy” OR “vaccine” AND “B-cell” AND “lymphoma” AND “canine”. Only experimental trials published in the last ten years, in English and related to immunotherapeutic methods, isolated or associated with another form of treatment were included. RESULTS: The search resulted in 867 articles and after the application of the inclusion and exclusion criteria, 8 studies were selected, 87.5% was about vaccine as a form of immunotherapy, 25% was randomized and double-blinded. CONCLUSION: There are varieties of immunotherapies that stimulate the immune system, causing antitumor effect, improving the time of survival, better tumor remission time and not causing serious side effects. Therefore, those should be evaluate with larger studies, randomized and with a larger number of dogs, in order to verify their efficiency and drug interaction when associated to several chemotherapy protocols performed prior, concomitant and after immunotherapy.

Palavras-chave: vaccine, immunotherapy, cancer, lymphoma.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos trabalhos e principal resultado.....	13
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT: alanina aminotransferase

Células NK: células “natural killer”

dTERT: transcriptase telomerase reversa

DTH: Hipersensibilidade de tipo tardio

GM-CSF: “human granulocyte-macrophage colony stimulating factor” (fator estimulador de colônia granulocítica macrofágica humano)

hGM-CSF CLDC ATCV: vacina tumorais de células autólogas transfectadas com fator estimulador de colônia granulocítica macrofágica humano

HSP: proteínas de choque térmico

HSPPC: complexo proteínas de choque térmico ligadas a proteínas

IL-2: interleucina 2

IL-4: interleucina 4

INF- γ : interferon-gama

LMIs: “large multivalent immunogens” (grandes imunógenos multivalentes)

LSS: sobrevivência específica de linfoma

TTP: “time to progression” (tempo para progressão, ou seja, o intervalo entre o início do tratamento e a progressão da doença)

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3 RESULTADOS.....	13
4 DISCUSSÃO.....	14
5 CONCLUSÃO.....	18
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18

1. INTRODUÇÃO

O linfoma é o tumor de maior ocorrência espontânea em cães, sendo o número de casos nestes animais maior que em humanos (RÜTGEN et. al., 2010). Segundo o Lymphoma Research Foundation, o linfoma ocorre quando os linfócitos, células do sistema imune, crescem e se multiplicam de forma incontrolável. Origina-se em órgãos hematopoiéticos, como linfonodos, baço e fígado (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

Diferentemente dos felinos, nos cães a forma mais comum de linfoma ou linfossarcoma é o de células B e a diferenciação entre linfoma e leucemia linfoide é muito difícil (FIGHERA, et al., 2002). Uma classificação muito utilizada na Medicina Veterinária é a baseada na localização dos tumores: multicêntrico, mediastínico, alimentar, cutâneo e extranodal ou mista. A forma multicêntrica acomete linfonodos superficiais e profundos, baço, fígado, tonsilas e medula óssea, caracterizando-se por linfadenopatia bilateral de linfonodos superficiais (poplíteo, mandibular, pré-escapular e axilar, principalmente). O linfoma mediastínico caracteriza-se por aumento cranial dos linfonodos mediastinais, timo ou ambos. Na forma alimentar, o sistema gastrointestinal e/ou os linfonodos mesentéricos são acometidos. O linfoma cutâneo pode ser solitário ou generalizado, podendo acometer mucosa oral. Lesões extracutâneas em linfonodos, fígado, baço e medula óssea também relatados. A forma extranodal pode acometer qualquer tecido, como olho, pele e tecidos nervosos (FIGHERA et al., 2002; ETTINGER, 2003; WITHROW; MacEWEN'S, 2013).

A classificação segundo o estágio clínico é definida pela Organização Mundial da Saúde em estágios I a V e subestágios 'a' e 'b'. O estágio I é denominado quando apenas um linfonodo é acometido. No estágio II há acometimento de múltiplos linfonodos em uma região bem demarcada. Quando ocorre linfadenopatia generalizada, denomina-se estágio III. O estágio IV é caracterizado por acometimento de fígado e/ou baço, com ou sem a presença do estágio III. Por fim, o estágio V é denominado quando há o acometimento da medula óssea ou do sangue e/ou qualquer órgão não linfoide, com ou sem os estágios I a IV. O subestágio 'a' é definido quando não há sinais clínicos da doença; e o subestágio 'b', quando o paciente apresenta sinais clínicos (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

Por tratar-se de uma doença de acometimento sistêmico, o tratamento também é de forma sistêmica, consistindo de quimioterapia realizada com maior frequência na fase de indução e aplicações mais espaçadas na fase de manutenção. Alguns casos

de linfoma extranodal ou neoplasias localizadas em regiões isoladas podem, como terapia local, abranger a cirurgia e a radioterapia (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

O objetivo da imunoterapia é iniciar ou reiniciar as respostas do sistema imune contra as células cancerígenas evitando a amplificação e a propagação tumoral. Além disso, deve ser bem elaborada de modo que seja capaz de superar os mecanismos de feedback negativos. A amplificação da resposta imune ao câncer gera atividade antitumoral, no entanto pode causar danos a células e tecidos normais além de imunossupressão no microambiente tumoral (CHEN et al., 2013).

A capacidade do sistema imune de identificar as células neoplásicas e diferenciá-las de células normais ocorre através de mecanismos como o reconhecimento de antígenos tumorais por linfócitos TCD8+. Além disso, as células NK, através de diferentes receptores, também são capazes de realizar essa diferenciação (TIZARD, 2009). Apesar desses mecanismos de detecção de células anormais, os tumores são capazes de evadir do sistema imune, fator que limita a eficiência da imunoterapia (WITHROW; MacEWEN'S, 2013).

Os linfomas de células B são um atrativo alvo para a imunoterapia, pois são considerados um dos cânceres mais suscetíveis ao controle por modulação da resposta imune (HENSON, 2010). Portanto, o presente estudo objetivou avaliar a eficácia da imunoterapia no tratamento do linfoma de células B em cães, seus efeitos na regressão tumoral e os efeitos colaterais, na literatura internacional.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa de dados para a elaboração desta revisão sistemática foi realizada no período de março a maio de 2017, através dos seguintes bancos de dados: PUBMED, e Science Direct com acesso através do Capes Periódicos. A fim de responder a pergunta “A imunoterapia no tratamento do linfoma de células B é eficiente? ”, a seguinte estratégia de busca foi utilizada: “immunotherapy” OR “vaccine” AND “B-cell” AND “lymphoma” AND “canine”. Os artigos incluídos nesta revisão foram ensaios experimentais com data de publicação nos últimos dez anos, idioma inglês e serem relacionados a métodos imunoterápicos, isolados ou associados com outra forma de tratamento, na terapêutica do linfoma de células B em

cães. Os critérios de exclusão foram artigos de revisões, relato de casos, estudos em linfoma de células T ou em outra espécie animal, experimentos não relacionados à imunoterapia e os trabalhos publicados fora do período estabelecido como critério de inclusão.

3. RESULTADOS

A busca resultou em 867 artigos e após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão foram selecionados 8 trabalhos para elaboração desta revisão sistemática.

A Tabela 1 apresenta os trabalhos selecionados ordenados por ano de publicação, informando o nome do autor, o tipo de imunoterapia abordada, se foi randomizado e duplo-cego, o número de cães utilizados, o período de tratamento com quimioterapia e o principal resultado encontrado.

Nota-se que 87,5% dos trabalhos abordam como imunoterapia a vacina e apenas 25% são randomizados e duplo-cego.

TABELA 1. Características dos trabalhos e principal resultado obtido.

Ano de publicação	Autor	Imunoterapia	Randomizado	Duplo - cego	Número de cães	Período de quimioterapia	Principal resultado
2007	TUREK, M. M. et al.	Vacina com hGM-CSF CLDC ATCV	sim	Sim	60	Prévia	Pequeno sinal de imunomodulação
2009	DI NICOLA M. et al.	Vacina com células dendríticas tumorais autólogas	não	Não	18	Prévia	Remissão parcial ou total em alguns cães
2010	HENSON M. S. et al.	Vacina LMIs associado com IL-2	não	Não	15	Prévia	Estimulação imunológica
2010	PERUZZI, D. et al.	Vacina com adenovírus tipo 6 geneticamente modificado para a expressão de dTERT	não	não	14	Prévia	Aumento de sobrevida

2012	O'CONNOR C. M et al.	Infusão de células T não específica	não	não	8	Prévia	Melhora do sistema imune comprometido por quimioterapia
2013	GAVAZZA, A. et al.	Vacina com adenovírus tipo 6 geneticamente modificado para a expressão de dTERT	não	não	21	Concomitante	Aumento de sobrevida
2013	MARCONATO, L. et al.	Vacina com hidroxipatita e HSP autólogo	sim	sim	12	Concomitante	Remissão tumoral
2015	MARCONATO, L. et al.	Vacina com hidroxipatita e HSP autólogo	não	não	25	Concomitante	Aumento significativo do TTP

4. DISCUSSÃO:

A imunoterapia mais comum, para o tratamento de linfoma de células B, é a vacina e, esta pode conter diferentes princípios e seus resultados são muito variados.

Vacinas de células imune autólogas modificadas têm sido estudadas. Turek et al. (2007) estudou a vacina intradérmica de células tumorais autólogas transfectadas contendo fator estimulador de colônias granulocíticas-macrofágicas (hGM-CSF CLDC ACTV) humano em cães com estágio III a V de linfoma multicêntrico de células B. Di Nicola et al. (2009), utilizou vacina de células dendríticas contendo antígenos tumorais autólogos por via subcutânea em cães com recidiva tumoral de linfoma de células B de grau I a III após tratamento quimioterápico anterior. Peruzzi et al. (2010) utilizou uma vacina composta por adenovírus tipo 6 transfectado para a expressão de dTERT (transcriptase telomerase reversa presente somente nos tumores) aplicada por via intramuscular em cães com linfoma em estágio III e IV. O'Connor et al. (2012) administrou infusões de células T autólogas expandidas de sangue periférico de cães com linfoma de células B em estágio IV ou V. Os diferentes estágios de linfoma estudados e a diversidade de abordagem dificultam a comparação de resultados, porém em geral se observou melhora na sobrevida dos pacientes como detalhado a seguir.

A imunoterapia utilizando células autólogas no tratamento de linfoma de células B é capaz de gerar remissão tumoral, como relatado por Di Nicola et al. (2009). Em seu estudo, observou-se remissão completa em 3 animais (17%); outros 3 (17%) apresentaram resposta parcial caracterizada por remissão tumoral de 50% e não aparecimento em novos locais; a estabilidade da doença foi observada em 8 cães (44%) e 4 pacientes (22%) apresentaram progressão da doença. A monitoração imunológica dos 6 cães (33%) que responderam ao tratamento, com remissão completa ou parcial, demonstrou redução na frequência de células T reguladoras, aumento de células NK, aumento de células T antitumorais, ou seja, produtoras de INF- γ e IL-4, indicando que as respostas clínicas observadas podem ser consequência da atividade imunomodulatória de diversos componentes do sistema imune.

O'Connor et al. (2012) observou que, após 10 dias da última infusão de células T, houve migração para tecidos linfoides tumorais secundários e essas células permaneceram por, pelo menos, 49 dias no sangue periférico. Além disso, as células T CD8⁺ foram o tipo celular de maior propagação, tornando-se semelhante à quantidade em animais saudáveis. Observou-se que a transferência adotiva de células T CD8 foi capaz de normalizar a proporção CD4: CD8 invertida na avaliação pré-infusão. Portanto, o tratamento com células T melhorou o estado imunológico dos cães que antes estava comprometido pelos efeitos quimioterápicos.

A quimioterapia modula o tumor e seu microambiente, no entanto, a resposta celular associada aos antígenos tumorais é comprometida no pós-tratamento devido à depressão linfocítica iatrogênica (RUBINFELD et al., 2006; SHURIN et al., 2009). Contudo, estudos observaram aumento do tempo de sobrevida dos pacientes ao associar a imunoterapia com o tratamento quimioterápico. Peruzzi et al. (2010) e Gavazza et al. (2013) também recomendam a associação da imunoterapia com a quimioterapia de manutenção, relatando que a taxa de sobrevida dos cães tratados somente com quimioterapia foi de 26 semanas no estudo de Peruzzi e 29,3 semanas no estudo de Gavazza, aumentando para 57,6 semanas e 76,1 semanas, respectivamente, quando a quimioterapia era associada com a vacina.

Outro tipo de vacina utilizado na imunoterapia não envolve células autólogas, somente os antígenos proteicos são utilizados. Henson et al., 2010 utilizou uma vacina composta por microbeads contendo imunógenos multivalentes (LMI) derivados de antígenos de membrana das células tumorais por via subcutânea em cães nos

estágios III, IV ou V, e observou que a imunoterapia com LMI, IL-2 e GM-CSF é capaz de estimular a resposta imune celular após o tratamento quimioterápico através de estimulação direta de linfócitos T CD8⁺ citotóxicos e por ativação de células apresentadoras de antígenos causada pelo GM-CSF.

As proteínas vacinais podem também ser utilizadas associadas a adjuvantes. As proteínas de choque térmico (HSP) são sintetizadas durante situações de estresse, inclusive no câncer, para proteger a célula de danos (AMATO, 2007). As HSP se ligam aos pequenos peptídeos e proteínas que os acompanham, formando complexos HSP-peptídeo (HSPPC) que contém antígenos tumorais (CALDERWOOD et al., 2012). Portanto, causa uma imunização do hospedeiro contra um grande repertório de antígenos associados a tumores. A hidroxiapatita, utilizado em vários processos biotecnológicos para purificar proteínas, atua como adjuvante imunológico. Assim, Marconato et al. (2013) e Marconato et al. (2015) avaliaram o tratamento com a vacina intradérmica de pó de hidroxiapatita e HPS purificado dos tumores dos próprios cães com linfoma em estágio I a V, e observaram remissão tumoral em 50%, destes, metade não apresentou recidiva durante o período de acompanhamento, que foi de mais de um ano após o fim do tratamento.

Em todos os trabalhos utilizado foi observado o uso de quimioterapia prévia ou concomitante e no geral se observou que a quimio-imunoterapia também aumenta a atividade antitumoral elevando significativamente o tempo para progressão (TTP) em comparação com a duração da TTP obtida com a quimioterapia tradicional (209 versus 85 dias, respectivamente) (Marconato et al.; 2015). Ao contrário dos demais autores, Turek et al. (2007) não encontrou nenhuma melhora clínica relacionada com maior período de remissão tumoral nos pacientes que receberam a imunoterapia, comparado com o grupo tratado somente com quimioterapia.

A maioria dos trabalhos apresentados não apresentaram reações adversas associadas a administração da imunoterapia. O único efeito adverso, relatado por Di Nicola et al., 2009, apresentado por 66% dos cães, foi uma reação transitória no local de aplicação que consistia de eritema, prurido, sensibilidade e edema. Nenhum paciente necessitou de medicação e não se observou toxicidade residual e nem reação autoimune ao tratamento. Henson et al., 2010, descreve que a vacina utilizada em seu estudo não causou nenhuma reação tóxica quando administrada sozinha. No entanto, quando administrada com IL-2, foram relatadas vômito e apetite seletivo.

Ainda, ao associar-se com IL-2 e GM-CSF, observou-se vômito e diarreia transitória, leve aumento de fosfatase alcalina e ALT. Em ambos os casos, os efeitos colaterais foram brandos. 47% dos cães estavam anêmicos durante o início da imunoterapia, que poderia ser devido à quimioterapia ou alguma doença crônica concomitante, porém o hematócrito desses animais apresentou aumento durante o tratamento com a vacina. Os efeitos adversos encontrados por Marconato et al. (2013) durante o tratamento com a vacina de pó de hidroxiapatita e HPS autólogo, quando observados, foram reversíveis, tratáveis e dose dependente. O autor citou vômito transitório, febre, aumento de ALT, trombocitopenia e neutropenia passageiras. Não ocorreu nenhum óbito devido à vacina. Resultados diferentes foram encontrados por Turek et al. (2007) em que todos os animais toleraram bem a vacina e nenhum deles apresentou sinais de toxicidade. Semelhantemente, Peruzzi et al. (2010) e Gavazza et al. (2013) relataram não ter ocorrido nenhum efeito adverso como alterações nos parâmetros clínicos e hematológicos, toxicidade local ou sistêmica, disfunção orgânica ou mesmo febre, que poderiam ser atribuídos ao tratamento.

Todos os diversos tipos de imunoterapia estudados provocaram estimulação imunológica, mesmo que pequena, como no caso de Turek et al. (2007) que, através de exame histológico do local de vacinação, observou aumento de inflamação após a vacinação comparado com os mesmos cães antes do tratamento e também com os cães que receberam placebo, indicando um pequeno sinal de imunomodulação causada pela vacina. Peruzzi et al. (2010) observou que, após 2 aplicações da vacina, 13 cães (93%) apresentaram quebra da tolerância imunológica. A resposta foi poliespecífica e os epítomos de células T foram distribuídos ao longo de todo o antígeno. A vacina demonstrou ser imunogênica por ser detectado resposta de células T contra dTERT, sendo esta, ausente nos cães não vacinados (Gavazza et al., 2013). Segundo Henson et al., 2010, a imunoterapia com LMI, IL-2 e GM-CSF é segura e capaz de estimular o sistema imune de cães com linfoma de células B após tratamento quimioterápico, pois após a aplicação da vacina, todos os cães foram positivos ao teste dérmico de DTH, respondendo a, pelo menos, um dos dois antígenos inoculados. Da mesma forma, todos os pacientes vacinados com hidroxiapatita e HSP (Marconato et al., 2013) foram positivos no teste dérmico de DTH, indicando resposta do sistema imune às células tumorais, o que não foi observado nos cães não vacinados. Outro estudo com a mesma imunoterapia (Marconato et al., 2015), obteve

resultados semelhantes, os animais vacinados obtiveram alta taxa de resposta, sendo que 72.2% dos cães responderam positivamente à vacina. A melhora da imunidade com a imunoterapia também é confirmada por O'Connor et al., 2012 através de seus achados, relatados anteriormente.

A única imunoterapia que exige uma abordagem mais complexa é a vacinação com HSP devido à necessidade de remoção cirúrgica do linfonodo para a formulação da vacina o que, segundo o autor, é uma limitação. Mas, assim que retirado, a imunoterapia pode ser iniciada dentro de poucas horas.

A vacina com hGM-CSF CLDC ATCV foi a única que não obteve os resultados esperados, não havendo dados que sugiram sua aplicabilidade como imunoterapia no tratamento de linfoma de células B.

5. CONCLUSÃO

Há muitas variedades de imunoterapia para o tratamento de linfoma de células B em cães. Entretanto, a quantidade de trabalhos realizados para cada variedade imunoterápica ainda é pouca. Algumas imunoterapias demonstraram ter resultados positivos sobre o sistema imune, exercendo efeito antitumoral, aumentando a sobrevivência ou o tempo de remissão do tumor e sem efeitos colaterais graves. Portanto, estas deveriam ser avaliadas com maiores estudos, randomizados e com maior número de cães, a fim de verificar sua eficiência e interação medicamentosa quando associadas a diversos protocolos quimioterápicos realizados prévia, concomitante e posteriormente à imunoterapia.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMATO, R. J. Heat-shock protein-peptide complex-96 for the treatment of cancer. **Expert Opinion on Biological Therapy**, v. 7, p. 1267–73, 2007.

CALDERWOOD, S. K.; STEVENSON, M. A.; MURSHID, A. Heat shock proteins, autoimmunity, and cancer treatment. **Autoimmune Disease**. <doi:10.1155/2012/486069 > 2012.

CHEN, D. S.; MELLMAN, I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. **Immunity**, v. 39 n. 1 p. 1-10, 2013.

DI NICOLA, M.; ZAPPASODI, R.; CARLO-STELLA, C.; MORTARINI, R.; PUPA, S. M.; MAGNI M.; DEVIZZI L.; MATTEUCCI, P.; BALDASSARI, P.; RAVAGNANI, F.; CABRAS, A.; ANICHINI A.; GIANNI, A. M. Vaccination with autologous tumor-loaded dendritic cells induces clinical and immunologic responses in indolent B-cell lymphoma patients with relapsed and measurable disease: a pilot study. **Blood Journal**, v. 113, n. 1, p. 18-27, 2009.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ª.ed. São Paulo: Manole. 2004.

ETTINGER, S. N. Principles of Treatment for Canine Lymphoma. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 2, p. 92-97, 2003.

FIGHERA, R. A.; DE SOUZA, T. M.; DE BARROS, C. S. L. Linfossarcoma em cães. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.32, n.5, p.895-899, 2002.

GAVAZZA, A.; LUBAS, G.; FRIDMAN, A.; PERUZZI, D.; IMPELLIZERI, J. A.; LUBERTO, L.; MARRA, E.; ROSCILLI, G.; CILIBERTO, G.; AURISICCHIO, L. Safety and Efficacy of a Genetic Vaccine Targeting Telomerase Plus Chemotherapy for the Therapy of Canine B-Cell Lymphoma. **Human Gene Therapy**, v. 24, p. 728–738, 2013.

HENSON, M. S.; CURTSINGER, J. M.; LARSON, V. S.; KLAUSNER, J. S.; MODIANO, J. F.; MESCHER, M. F.; MILLER, J. S. Immunotherapy with autologous tumour antigen-coated microbeads (large multivalent immunogen), IL-2 and GM-CSF in dogs with spontaneous B-cell lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 9, n. 2, p. 95–105, 2010.

LYMPHOMA RESEARCH FOUNDATION. Disponível em: <http://www.lymphoma.org/site/pp.asp?c=bkLTKaOQLmK8E&b=6300153>>. Acesso em 26 mai. 2016.

MARCONATO, L.; FRAYSSINET, P.; ROUQUET, N.; COMAZZI, S.; LEONE, V. F.; LAGANGA, P.; ROSSI, F.; VIGNOLI, M.; PEZZOLI, L.; ARESU, L. Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blinded Chemoimmunotherapy Clinical Trial in a Pet Dog Model of Diffuse Large B-cell Lymphoma. **Clinical Cancer Research**, v. 20, n. 3, p. 668-677, 2013.

MARCONATO, L.; STEFANELLO, D.; SABATTINI, S.; COMAZZI, S.; RIONDATO, F.; LAGANGA, P.; FRAYSSINET, P.; PIZZONI, S.; ROUQUET, N.; ARESU, L. Enhanced therapeutic effect of APAVAC immunotherapy in combination with dose-intense chemotherapy in dogs with advanced indolent B-cell lymphoma. **Vaccine**, v. 33, p. 5080–5086, 2015.

O'CONNOR, C. M.; SHEPPARD, S.; HARTLINE, C. A.; HULS, H.; JOHNSON, M.; PALLA, S.; MAITI, S.; MA, W.; DAVIS, E.; CRAIG, S.; LEE, D. A.; CHAMPLIN, R.; WILSON, H.; COOPER, L. J. N. Adoptive t-cell therapy improves treatment of canine non-Hodgkin lymphoma post chemotherapy. *Scientific Reports*, < doi:10.1038/srep00249> 2012.

PERUZZI, D.; GAVAZZA, A.; MESITI, G.; LUBAS, G.; SCARSELLI, E.; CONFORTI, A.; BENDTSEN, C.; CILIBERTO, G.; LA MONICA, N.; AURISICCHIO, L. A Vaccine Targeting Telomerase Enhances Survival of Dogs Affected by B-cell Lymphoma. **The Molecular Therapy**, v. 18, n. 8, p. 1559–1567, 2010.

RUBINFELD, B.; UPADHYAY, A.; CLARK, S. L.; FONG, S. E.; SMITH, V.; KOEPPEN, H.; ROSS, S.; POLAKIS, P. Identification and immunotherapeutic targeting of antigens induced by chemotherapy. **Nature Biotechnology**, v. 24, p. 205–209, 2006.

RÜTGEN, B. C.; HAMMER, S. E.; GERNER, W.; CHRISTIAN, M.; ARESPACOCCHAGA, A. G.; WILLMANN, M.; KLEITER, M.; SCHWENDENWEIN, I.; SAALMÜLLER, A. Establishment and characterization of a novel canine B-cell line derived from a spontaneously occurring diffuse large cell lymphoma. **Leukemia Research**. < doi:10.1016/j.leukres.2010.01.021> 2010.

SHURIN, G. V.; TOURKOVA, I. L.; KANENO, R.; SHURIN, M. R. Chemotherapeutic agents in noncytotoxic concentrations increase antigen presentation by dendritic cells via an IL-12-dependent mechanism. **The Journal of Immunology**, v. 183, p. 137–144, 2009.

TIZARD, I. R., *Imunologia Veterinária*. 8ª ed. Elsevier. 2009.

TUREK, M. M.; THAMM, D. H.; MITZEY, A.; KURZMAN, I. D.; HUELSMEYER, M. K.; DUBIELZIG, R. R.; VAIL, D. M. Human granulocyte – macrophage colony stimulating factor DNA cationic-lipid complexed autologous tumour cell vaccination in the treatment of canine B-cell multicentric lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 5, n. 4, p. 219–231, 2007.

WITHROW E MacEWEN'S. **Small Animal Clinical Oncology**. 5ª ed. Elsevier. 2013.