

PROTEÍNAS DE FASE AGUDA POSITIVAS EM CÃES COM LINFOMA MULTICÊNTRICO: CORRELAÇÃO COM A IMUNOFENOTIPAGEM

Manuela Cristina Vieira¹, Thiago Demarchi Munhoz², Letícia Abrahão Anai³, Áureo Evangelista Santana⁴ (*in memoriam*)

¹Docente no curso de Medicina Veterinária, IFSULDEMINAS, Muzambinho, MG.

²Docente no curso de Medicina Veterinária, BARÃO DE MAUÁ, Ribeirão Preto, SP.

³Assistente de Suporte Acadêmico, UNESP, Jaboticabal, SP.

⁴Docente no curso de Medicina Veterinária, UNESP, Jaboticabal, SP.

e-mail de contato: manu-vet@hotmail.com

Recebido em: 15/01/2026 – Aprovado em: 02/03/2026 – Publicado em: 30/03/2026

DOI: 10.18677/EnciBio_2026A9

RESUMO

O linfoma é o tumor de tecido hemolinfopoiético mais comum nos cães e um dos tumores malignos de maior ocorrência na referida espécie. Um importante complemento ao diagnóstico é a investigação imunofenotípica da subpopulação de linfócitos envolvida e caracterização do subestádio do tumor, estabelecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Adicionalmente a avaliação das proteínas séricas em cães com neoplasias, poderia auxiliar o diagnóstico, prognóstico e monitoramento da doença. Inflamações, infecções, doenças imunológicas e neoplasias, podem estimular a resposta de fase aguda (RFA), que inclui alterações nas concentrações de determinadas proteínas, chamadas proteínas de fase aguda (PFA). Este ensaio foi concebido para avaliar as PFA positivas, através da técnica de SDS-PAGE, correlacionando-as a imunofenotipagem dos linfócitos, auxiliando no diagnóstico e prognóstico desta neoplasia. Para tanto, foram avaliados 30 cães, machos ou fêmeas, sendo 10 hígidos e 20 acometidos por linfoma multicêntrico, atendidos junto ao Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal/SP. Os animais foram distribuídos em três grupos, sendo um grupo controle (GC) constituído de cães hígidos (n=10), um grupo de cães acometidos por linfoma B (GLB) (n=12) e um grupo de cães acometidos por linfoma T (GLT) (n=8). No diagnóstico do linfoma canino somente a ceruloplasmina se destacou, elevando-se no GLB. Após o primeiro ciclo de quimioterapia a maioria das proteínas aumentou sua concentração sérica, provavelmente devido a prednisona. Na recidiva da doença todas as proteínas avaliadas aumentaram seus valores no GLT. Portanto, as PFA positivas demonstraram alterações biológicas importantes na síntese proteica de acordo com o imunofenótipo do linfoma nos cães.

PALAVRAS-CHAVE: Canina, doença linfoproliferativa, eletroforese de proteínas.

POSITIVE ACUTE PHASE PROTEINS IN DOGS WITH MULTICENTRIC LYMPHOMA: CORRELATION WITH IMMUNOPHENOTYPING

ABSTRACT

Lymphoma is the most common hemolymphopoietic tissue tumor in dogs and one of the most frequent malignant tumors in this species. An important complement to its diagnosis is the immunophenotypic investigation of the lymphocyte subpopulation involved and characterization of the tumor substage, as established by the World Health Organization (WHO). Additionally, the evaluation of serum proteins in dogs with neoplasms could aid in the diagnosis, prognosis, and monitoring of the disease. Inflammation, infections, immunological diseases, and neoplasms can stimulate the acute phase response (APR), which includes alterations in the concentrations of certain proteins, called acute phase proteins (APPs). This assay was designed to evaluate positive APPs using the SDS-PAGE technique, correlating them with lymphocyte immunophenotyping, thus assisting in the diagnosis and prognosis of this neoplasm. To this end, 30 dogs, male or female, were evaluated, 10 healthy and 20 affected by multicentric lymphoma, treated at the "Governador Laudo Natel" Veterinary Hospital of FCAV/UNESP, Jaboticabal/SP Campus. The animals were distributed into three groups: a control group (CG) consisting of healthy dogs (n=10), a group of dogs affected by B-cell lymphoma (BCL) (n=12), and a group of dogs affected by T-cell lymphoma (TCL) (n=8). In the diagnosis of canine lymphoma, only ceruloplasmin stood out, showing elevated levels in GLB. After the first cycle of chemotherapy, most proteins increased their serum concentration, probably due to prednisone. Upon disease relapse, all evaluated proteins increased their values in GLT. Therefore, positive PFAs demonstrated important biological alterations in protein synthesis according to the immunophenotype of lymphoma in dogs.

KEYWORDS: Canine, lymphoproliferative disease, protein electrophoresis.

INTRODUÇÃO

O linfoma é uma doença de caráter neoplásica advinda de células linforreticulares que se manifestam em órgãos linfóides e que possuem comportamento maligno (DALECK; NARDI, 2016). Esta neoplasia se desenvolve mais frequentemente em tecidos linfóides, como em linfonodos, baço e medula óssea, entretanto, também pode se desenvolver em tecidos não linfóides, como em rins, pulmão e cavidade nasal (MARCONATO *et al.*, 2011).

É uma das neoplasias mais comuns em cães com incidência anual estimada em 13 a 24 para cada 100.000 cães (MERLO *et al.*, 2008). No Brasil, a incidência anual é de 24 a 33 casos para cada 100.000 cães (PASTOR *et al.*, 2009). O linfoma é uma das neoplasias mais diagnosticadas no cão e corresponde a mais de 80% das doenças hematopoiéticas nesta espécie (HORTA, 2020).

A etiologia do linfoma canino ainda não é totalmente esclarecida, por se tratar de uma afecção multifatorial. Entre os fatores apontados como etiológicos para o linfoma, merecem destaque: Fatores genéticos, moleculares, infecciosos, ambientais e imunológicos (VAIL *et al.*, 2019). O linfoma pode afetar animais de todas as idades, porém há destaque para aqueles que têm entre seis a sete anos. Também não há predileção para raça ou sexo (VITOR *et al.*, 2016).

O linfoma pode ser classificado de acordo com a localização anatômica, na qual a forma mais comum é a multicêntrica. Baseado apenas em critérios citológicos

e histopatológicos, a classificação mais utilizada seria o sistema Kiel, dentro desse sistema, a forma mais frequente é o linfoma difuso de alto grau de grandes células. Entretanto, atualmente o sistema de classificação mais aceito e completo acerca do linfoma é o sistema WHO, que se baseia em critérios tanto histopatológicos como imunofenotípicos. De acordo com a literatura veterinária 60 a 80% dos linfomas caninos são de origem em células B (ARICÓ *et al.*, 2014).

O diagnóstico inicial do linfoma geralmente tem como base os resultados obtidos no exame físico, nas alterações hematológicas, bioquímico-séricas e exames de imagem. Porém, o diagnóstico definitivo só pode ser firmado pela avaliação citológica ou histológica do órgão afetado. Estudos revelam a importância da citologia aspirativa com agulha fina (CAAF) no diagnóstico do linfoma não-Hodking (SANTANA *et al.*, 2008).

Por ser uma neoplasia sistêmica, o tratamento necessita de abordagem ampla, e por isso a poliquimioterapia é de suma importância, podendo ser associados fármacos diferentes, porém mesmo assim, a grande maioria dos cães tratados podem apresentar recidivas, bem como desenvolver resistência a quimioterapia (MARCONATO *et al.*, 2019).

Neste contexto, a busca por elucidar os fatores predisponentes, prognósticos e estratégias para monitorar o tratamento desses pacientes têm se tornado constante na medicina veterinária, para que se possa intervir terapêuticamente antes que o paciente volte a apresentar os sinais clínicos (MARCONATO *et al.*, 2019).

Echkersall e Bell (2014) sugeriram que as proteínas de fase aguda (PFAs) são marcadores sensíveis para o linfoma multicêntrico em cães e que elas podem inclusive, em caso de recidiva, demonstrar alterações em suas concentrações precocemente, sendo considerado mais sensível que a citologia dos linfonodos periféricos.

Os reagentes de fase aguda (RFA) são marcadores inflamatórios que apresentam alterações significativas na concentração sérica durante a inflamação. Os reagentes de fase aguda causam diversos efeitos adversos, incluindo febre, anemia da doença crônica, anorexia, sonolência, letargia, amiloidose e caquexia (GULHAR *et al.*, 2023). O uso das PFAs na prática clínica aumentou significativamente na última década, com a maioria dos laboratórios comerciais incluindo rotineiramente a medição de PFAs em seus perfis bioquímicos. Graças à intensa pesquisa, hoje tem-se um bom entendimento dos potenciais papéis das PFAs, desde o diagnóstico e prognóstico até o monitoramento do tratamento. Apesar disso, as PFAs ainda são subutilizadas na medicina veterinária em comparação com a medicina humana (ROSSI, 2023).

As PFAs também são úteis na avaliação da resposta à terapia. A maioria dos sintomas clínicos é mediada por prostaglandinas e várias terapias funcionam interferindo nas vias da fosfolipase e da ciclo-oxigenase. Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e a administração de baixas doses de corticosteroides reduzem apenas a liberação de prostaglandinas, sem interferir na via inflamatória (SINNIAH *et al.*, 2021).

A injúria tecidual conduz a uma resposta imune inata imediata, produzindo agentes de resposta de fase aguda (RFA), entre eles se destacam as PFA, indispensáveis para o restabelecimento da homeostasia corporal (CERÓN *et al.*, 2005).

Assim, o estudo das PFA tem despertado grande interesse no diagnóstico dos linfomas. No entanto, não há relatos na literatura em cães com linfoma de imunofenótipo B ou T, correlacionando-os com as PFA. Portanto, o objetivo do

presente ensaio foi avaliar o perfil eletroforético das PFA positivas em cães com linfoma multicêntrico e correlacioná-lo com a imunofenotipagem das subpopulações linfocitárias, visando auxiliar no diagnóstico e prognóstico desta neoplasia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, com o protocolo nº 021929/09) (em anexo).

Instituições Envolvidas

Os cães com linfoma foram provenientes do Setor de Oncologia do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), Jaboticabal/SP, e do Centro Avançado de Veterinária (CAVET), localizado em Ribeirão Preto/SP. As análises hematológicas e bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária e as análises eletroforéticas no Laboratório de Pesquisa, ambos da FCAV/Unesp, Jaboticabal/SP. A determinação do imunofenótipo foi realizada no Laboratório de Imunohistoquímica, do Serviço de Patologia, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/Unesp), Botucatu/SP.

Grupos Experimentais

Trinta cães adultos foram distribuídos em três grupos experimentais:

Grupo Controle (GC): 10 cães hípidos, adultos, seis machos (60%) e quatro fêmeas (40%), raça Beagle, idade $4,9 \pm 3,03$ (anos), peso $12,34 \pm 1,39$ (kg), cujo estado de saúde foi avaliado por exames físicos e clínico-patológicos gerais.

Grupo Linfoma B (GLB): 12 cães com linfoma B, adultos, cinco machos (41,67%) e sete fêmeas (58,34%), sendo assim distribuídos, mestiços (SRD) (25%), Rottweiler (25%), Poodle (16,67%), Labrador (8,34%), Pinscher (8,34%), Basset Hound (8,34%) e Bull Terrier (8,34%), com idades entre $7,75 \pm 2,49$ (anos) e peso $24,98 \pm 15,06$ (kg).

Grupo Linfoma T (GLT): oito cães com linfoma T, adultos, dois machos (25%) e seis fêmeas (75%), sendo Boxer (37,5%), Dog Alemão, Beagle, Lhasa Apso, American Pit Bull Terrier e Bull Terrier (12,5%), com idades compreendidas entre $7,25 \pm 1,28$ (anos), e peso $24,41 \pm 10,11$ (kg).

Avaliação das Parcelas Experimentais

Os cães com linfoma multicêntrico tiveram o diagnóstico firmado com base no exame físico, citológico, hematológico, bioquímico sérico, mielograma, exames de imagem, imunohistoquímico e histopatológico. Assim, os referidos animais foram classificados de acordo com os critérios propostos pela OMS, em estádios I a V e subestádios a ou b.

Colheita de Material Biológico

Os cães que apresentaram linfadenomegalia foram submetidos ao exame citológico, obtido através da citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) do linfonodo. Confirmado o diagnóstico, foi realizada a biópsia do linfonodo acometido para obtenção de amostras. Na maioria dos cães com linfoma, nos estádios III, IV ou V, optou-se pelo linfonodo poplíteo, devido à facilidade de colheita. Todas as biópsias foram realizadas mediante anestesia geral intravenosa associada a anestesia local

epidural. Após os procedimentos anestésicos foi realizada tricotomia, antissepsia e ressecção do linfonodo. O linfonodo excisado, foi fixado em formol a 10% tamponado (pH 7,6), por 24 horas, e posteriormente transferido para solução de álcool 70%, com vistas à análise imuno-histoquímica.

As amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular, após antissepsia, em sistema a vácuo (tubos de 10 mL), distribuídas em dois tubos, um com EDTA para realização do hemograma, e outro sem anticoagulante para realização de exames bioquímicos e eletroforéticos. Após a colheita, as amostras sem anticoagulante foram submetidas à centrifugação por 5 minutos, a 1257,6 g (2500 rpm), e obtenção do soro. Ato contínuo, o soro foi recolhido e envasado em microtubos (eppendorfs®) (1,5mL) e armazenado sob congelamento a -18 °C, para posterior análise eletroforética.

Quimioterapia Antineoplásica

Os animais acometidos por linfoma foram tratados com o protocolo quimioterápico antineoplásico de Madison-Wisconsin modificado (19 semanas), incluindo sulfato de vincristina (0,75mg/m², IV), Lasparaginase (400UI/kg, IM), ciclofosfamida (250mg/m², VO), doxorubicina (30mg/m², perfusão) e prednisona (2mg/kg/dia, na 1^a semana; 1,5mg/kg/dia, na 2^a semana; 1mg/kg/dia, na 3^a semana; 0,5 mg/kg/dia, na 4^a semana).

Fracionamento Eletroforético

A eletroforese permite o fracionamento das proteínas que se localizam nas frações alfa globulina, beta globulina e gama globulina. O eletroforetograma foi obtido em matriz de gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), utilizando-se o sistema vertical de eletroforese. A polimerização do gel ocorreu pela adição de 15µL de tetrametiletilenodiamina (TEMED) e 0,3µL de persulfato de amônia (10%). A placa contendo o gel foi colocada em suporte apropriado em contato com uma cuba superior contendo solução tampão (pH 8,5), composta de 36,3g de tris-base, 112,5g de glicina, 10g de SDS e água destilada estéril suficiente para completar um litro de solução. As placas foram preenchidas com o gel de separação a 10% e gel de empilhamento a 4%.

Para o fracionamento das proteínas, as amostras foram preparadas utilizando-se 10µL de soro sanguíneo diluídos em 30µL de tampão-fosfato (PBS) e 20µL de gel mix e aquecidas sobre água em ebulição por 10 minutos. Uma alíquota de 5µL das referidas amostras foi depositada no fosso do gel. A placa foi colocada em suporte apropriado e submetida à corrente elétrica a 20 mA, em fonte adequada. Terminada a separação, o gel foi corado durante duas horas em solução de Azul de Comassie 0,2%, no agitador horizontal, e em seguida, foi retirado o excesso de corante com solução descorante, até que as frações se apresentassem nítidas. Os pesos moleculares (PM) e as concentrações das frações proteicas foram determinados por densitometria computadorizada (SHIMADZU CS-9301) por intermédio do escaneamento das amostras. Para a identificação das proteínas foram utilizados marcadores (SIGMA MARKER™) de PM 200, 116, 97, 66, 55, 45, 36, 29 e 20 KDa. Para avaliação densitométrica das bandas proteicas foram confeccionadas curvas de referência a partir da leitura do marcador padrão.

Análise Estatística

Para determinar se as proteínas de fase aguda positivas diferiram significativamente entre os cães sadios e os cães com linfoma B ou T, os valores

foram submetidos a Análise de Variância pelo Teste F ($p < 0,05$). Os dados foram analisados em um delineamento em parcelas subdivididas no tempo (grupos x momentos), e as médias dos grupos confrontadas pelo Teste de Tukey (5%). Foi utilizado o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System - version 9) para consecução da análise estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PROTEÍNAS DE FASE AGUDA POSITIVAS (PFAs)

As PFAs positivas desempenham diversas funções fisiológicas para o sistema imunológico, como destruição ou inibição do crescimento de microrganismos, atuação nos estados de inflamação sistêmica associada à anorexia e alterações metabólicas (JAIN *et al.*, 2011). Neste ensaio as PFAs positivas não apresentaram diferenças significativas entre os grupos GLB e GLT, no entanto, a AGP e CP apresentaram maiores concentrações séricas no grupo GLB, e a AAT e HP no grupo GLT (Tabela 1).

TABELA 1 – Valores médios e desvios-padrão obtidos para as proteínas de fase aguda positivas (PFAs), nos grupos Controle (GC), linfoma B (GLB) e linfoma T (GLT), nos momentos do diagnóstico (M0), após o 1º ciclo de quimioterapia (M5) e na recidiva da doença (MR) (FCVA/UNESP, Jaboticabal, 2013).

Proteínas	Valores de Referência	GC	GLB	GLT
α -1-Antitripsina (AAT) - M0	233 mg/dL (Hughes <i>et al.</i> , 1995)	270,88±60,05	210,94±95,40	243,33±101,75
AAT - M1	-----	-----	254,83±137,78	282,34±191,70
AAT - MR	-----	-----	162,21±110,60	270,44±228,84
α -1-Glicoprot. Ácida (AGP) - M0	28,6 mg/dL (Yuki <i>et al.</i> , 2010)	7,72±3,76	7,59±7,86	7,55±9,33
AGP - M1	-----	-----	11,69±7,13	15,23±6,42
AGP - MR	-----	-----	19,76±4,19	9,91±4,74
Haptoglobina (HP) - M0	30-180 mg/dL (Martinez <i>et al.</i> , 2004)	14,31±16,25	13,10±8,07 ^B	15,98±14,28
HP - M1	-----	-----	23,09±11,85 ^A	16,18±11,58
HP - MR	-----	-----	11,94±3,49 ^{AB}	17,72±11,56
Ceruloplasmina (CP) - M0	4,93 mg/dL (Martinez <i>et al.</i> , 2004)	3,06±1,23 ^B	28,31±16,50 ^a	18,25±22,65 ^{ab}
CP - M1	-----	-----	14,87±12,98	7,55±6,41
CP - MR	-----	-----	20,18±16,09	34,76±28,95

Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes entre momentos, e médias seguidas por letras minúsculas diferentes entre grupos, diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Neste caso, a resposta imune inata das PFAs apresentou variações entre cães acometidos por linfomas de diferentes imunofenótipos. Além disso, sabe-se que cães com linfoma T apresentam pior prognóstico (EINHORN *et al.*, 2024), explicando o aumento da AAT que é responsável pela inibição das enzimas proteolíticas, e aumento da HP que apresenta atividade imunomoduladora.

ALFA-1-ANTITRIPSINA (AAT)

A AAT é um membro da superfamília de inibidores de serina protease. Sintetizada principalmente pelos hepatócitos, a AAT também é encontrada no pulmão, rim e intestino (DESUEZA; LATIFF, 2018). A principal função da AAT é inibir a elastase neutrofílica para proteger o pulmão da excessiva degradação proteolítica da elastina e outros componentes do tecido conjuntivo. A AAT também inibe inúmeras outras enzimas proteolíticas, fornecendo mais de 90% da capacidade antiprotease do soro. Evidências nos últimos anos indicam que a AAT também possui propriedades anti-inflamatórias, imunomoduladoras e antimicrobianas de amplo espectro (BLANCO, 2017).

A AAT não se elevou nos cães dos grupos GLB e GLT no momento do diagnóstico, se apresentando maior no grupo controle, concordando com Vieira *et al.*, (2010), onde as concentrações séricas da AAT foram significativamente maiores em cães saudáveis, quando comparados aos cães com linfoma, portanto esta proteína não auxiliou no diagnóstico dessa neoplasia.

A AAT aumentou em ambos os grupos com linfoma após o primeiro ciclo de quimioterapia. Sabe-se que a prednisona aumenta a AGP (HARVEY; WEST, 1987) e HP (McGROTTY *et al.*, 2005), assim, sugere-se que a prednisona utilizada no primeiro ciclo de quimioterapia, possa ter interferido nesta elevação.

Um estudo em fígado de rato possibilitou uma análise funcional aprofundada utilizando dados proteômicos farmacodinâmicos abrangentes medidos ao longo de 66 horas após uma dose única de metilprednisolona. Como resultado, proteínas relacionadas à resposta inflamatória de fase aguda foram reguladas positivamente em resposta ao medicamento. Proteínas funcionalmente semelhantes mostraram grande diversidade em seus perfis temporais, indicando mecanismos complexos de regulação por corticosteroides que necessitam de estudos adicionais (AYYAR *et al.*, 2017).

A AAT diminuiu no GLB e aumentou no GLT no momento da recidiva da doença, e os níveis séricos não apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados, contudo apresentaram-se maiores no momento do diagnóstico dos cães do grupo GLT. Dessa maneira, a AAT que é uma inibidora de proteases, com atividade anti-inflamatória, imunomoduladora e antimicrobiana, demonstrou-se mais relevante na defesa do sistema imune dos cães com linfoma T (BLANCO, 2017).

Há de se ressaltar que são escassos os valores de normalidade para as PFA encontrados na literatura, sendo assim, sugere-se o estabelecimento de valores de referência para estas proteínas, em cada laboratório de pesquisa clínico-patológica. Além disso, a resposta imune inata da AAT nos cães acometidos por linfoma T (GLT) na recidiva da doença, mostrou-se muito mais intensa. Sabe-se que a AAT é o componente mais importante dentre os “inibidores de proteases”, que é um grupo de proteínas com a função de neutralizar as atividades das enzimas proteolíticas, durante um processo inflamatório agudo (ECKERSALL; BELL, 2014). Desta maneira, o aumento das concentrações séricas da AAT em todos os momentos estudados para os cães do grupo GLT, sugere maior concentração de enzimas proteolíticas em cães com linfoma T, e conseqüentemente, elevação desta PFA positiva que apresenta propriedades antiprotease e anti-inflamatória.

ALFA-1-GLICOPROTEÍNA ÁCIDA (AGP)

No momento do diagnóstico a AGP não se apresentou elevada, ou seja, não se comportou como PFA positiva nos cães com linfoma B ou T, embora se

esperasse o contrário. Em um estudo em cães com displasia coxofemoral a AGP também não se elevou na presença de inflamação (FIORATO *et al.*, 2024). No entanto, em um ensaio onde não houve a separação de cães linfomatosos de acordo com o imunofenótipo, as concentrações séricas da AGP foram significativamente maiores nos pacientes com esta neoplasia, quando comparadas com cães saudáveis no momento do diagnóstico, auxiliando no diagnóstico desses animais (VIEIRA *et al.*, 2010).

Após o primeiro ciclo de quimioterapia, que incluiu a prednisona como um dos fármacos, a AGP demonstrou-se elevada em relação ao momento do diagnóstico, discordando de Céron *et al.* (2005), que relataram que esta proteína liga-se à maioria das drogas. Além disso, com o início do tratamento a neoplasia e a inflamação tendem a regredir, no entanto, a AGP demonstrou-se elevada. Este achado concorda com um estudo que relatou que os níveis séricos da AGP (HARVEY; WEST, 1987) são influenciados pela presença de glicocorticóides, de modo a apresentar concentração elevada após o tratamento com estas drogas.

As concentrações séricas da AGP não apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados, e além disso, tanto nos cães controle como portadores de linfoma, deste ensaio e, em todos os momentos avaliados, encontraram-se abaixo do intervalo de normalidade. A AGP apresentou aumento de valores séricos nos animais acometidos por linfomas B ou T, no momento da recidiva da doença. Na recidiva da doença nos cães com linfoma B a AGP apresentou 2,6 vezes maior do que no momento do diagnóstico deste mesmo grupo. Este resultado corrobora parcialmente com Yuki *et al.* (2010), que relataram que a AGP é uma glicoproteína que responde positivamente ao estímulo inflamatório.

As proteínas de fase aguda (PFA) também desempenham papel no prognóstico na peritonite infecciosa felina (PIF) em gatos tratados com antivirais, concordando com este ensaio no momento da recidiva do linfoma. Um estudo recente demonstrou que um retorno sustentado às concentrações normais de AGP foi o indicador mais rápido e consistente para diferenciar a recuperação da remissão após o tratamento da PIF (ADDIE *et al.*, 2022). Como este foi um estudo retrospectivo com diferentes terapias utilizadas, o intervalo entre o momento da apresentação com PIF e a normalização da AGP não pôde ser estabelecido. A normalização das concentrações de AGP foi mais rápida com um novo análogo de nucleosídeo antiviral (ADDIE *et al.*, 2020), sugerindo que um declínio rápido pode indicar atividade virucida superior. Da mesma forma, um declínio rápido e sustentado na concentração de soro amilóide A foi observado em gatos com PIF tratados com a mesma terapia antiviral (KRENTZ *et al.*, 2021).

Ademais, um estudo em felinos revelou que as PFAs apresentam melhor correlação com a classificação etiológica dos derrames cavitários. A AGP medida no derrame mostrou-se o melhor parâmetro para diferenciar entre exsudatos e transudatos. Embora as PFAs na efusão e no soro não possam substituir a avaliação laboratorial e citológica de rotina dos derrames em cavidades corporais, a mensuração das PFAs, especialmente a AGP, representa uma ferramenta adicional útil para auxiliar na classificação e orientar os testes diagnósticos (HAZUCHOVA *et al.*, 2023).

Também foi realizado um estudo em gatos hípidos para determinação de valores de referência para AGP, concluindo-se que ocorre elevação significativa dos valores de acordo com o aumento da idade (THALMEIER *et al.*, 2023). Neste estudo discordou-se deste ensaio, onde os cães com linfoma apresentaram a média de idade de sete anos, demonstrando valores de AGP abaixo da normalidade.

HAPTOGLOBINA (HP)

A haptoglobina (HP) é uma glicoproteína que se liga à hemoglobina livre no plasma e desempenha papel crucial na proteção tecidual e na prevenção de danos oxidativos, além de possuir algumas funções regulatórias (NARIZNY; LEGINA, 2021).

No momento do diagnóstico do linfoma canino a HP não demonstrou elevações séricas relevantes, concordando parcialmente com Love *et al.* (2021), que demonstraram que concentração sérica de HP é um biomarcador útil para distinguir gatos normais daqueles com doença inflamatória gastrointestinal, mas não conseguiu diferenciar significativamente entre doença inflamatória intestinal e linfoma. Estudos adicionais podem ser benéficos para determinar o significado prognóstico da haptoglobina sérica, visto que este pode estar relacionado à gravidade da inflamação gastrointestinal. No entanto, há relatos que o fenótipo da HP pode avaliar a predisposição individual de uma pessoa a diversas doenças, inclusive neoplasias (NARIZNY; LEGINA, 2021).

As concentrações séricas de HP apresentaram diferenças significativas para a interação grupos x momentos, após o primeiro ciclo de quimioterapia nos cães portadores de linfoma B (GLB), aumentando em ambos os grupos doentes. O primeiro ciclo de quimioterapia incluiu a prednisona como um dos fármacos, concordando com um estudo que relatou que os níveis séricos da HP (McGROTTY *et al.*, 2005) são influenciados pela presença de glicocorticóides, de modo a apresentar concentração elevada após o tratamento com estas drogas. De outra parte, a HP diminuiu no soro dos cães portadores de linfoma B (GLB) e aumentou naqueles do grupo GLT, no momento da recidiva da doença, demonstrando suas propriedades bacteriostática e imunomoduladora nestes pacientes.

Os níveis aumentados de HP encontrados em inflamações crônicas podem desempenhar papel importante na reparação tecidual, devido a sua atividade angiogênica (CRAY , 2012), no entanto, a HP não se elevou em gatos com pancreatite (KRASZTEL *et al.*, 2022).

A concentração de HP no sangue pode ser usada como indicador bioquímico para diagnosticar o desenvolvimento de processos hemolíticos, inflamatórios e avaliar o estado funcional do fígado (NARIZNY; LEGINA, 2021).

CERULOPLASMINA (CP)

Os níveis séricos de CP apresentaram-se significativamente mais elevados no grupo GLB em relação aos cães do grupo controle (GC) no momento do diagnóstico, e além disso, mostraram-se maiores nos cães acometidos por linfoma, se comparados aos valores de normalidade, nos três momentos analisados. Este achado corrobora com Calazans *et al.* (2009), que relataram aumento da CP em cães com linfoma, sugerindo uma resposta à reação inflamatória nestes animais.

A CP diminuiu em ambos os grupos de cães acometidos por linfoma após o primeiro ciclo de quimioterapia. Este resultado era esperado, pois com o início do tratamento a neoplasia e a inflamação tendem a diminuir nesses pacientes. A CP diminuiu no soro de animais do GLB e aumentou no GLT, no momento da recidiva da doença, portanto, a proteína apresentou comportamento biológico diferente entre cães portadores de linfomas B ou T. No entanto, segundo Lucas *et al.* (2010), a ausência de alteração da CP no linfoma canino e a influência da quimioterapia, faz desta uma PFA inapropriada para monitorar o linfoma canino. Além disso, estudos precedentes não evidenciaram valores séricos para CP que pudessem diferenciar

significativamente cães acometidos por linfoma ou leucemia de cães hígdos (TECLES *et al.*, 2005), discordando do ensaio em tela.

Há de se ressaltar que existe uma série de alterações nas proteínas plasmáticas que ocorrem em uma ampla variedade de espécies, em resposta a traumas, inflamações e infecções, independente do agente etiológico. Essas proteínas plasmáticas fazem parte da resposta imune inata. Além disso, parece que várias proteínas plasmáticas podem ser preditivas de morbidade e/ou mortalidade (POWANDA; MOYER, 2021).

CONCLUSÕES

Nas condições em que este ensaio foi realizado, foi possível concluir que:

- Algumas PFAs apresentaram variações biológicas importantes na sua biossíntese de acordo com o imunofenótipo do linfoma.
- No diagnóstico somente a ceruloplasmina se apresentou como PFA positiva nos cães com linfoma B, demonstrando fator protetivo nesses pacientes.
- Após o 1º ciclo de quimioterapia as proteínas AAT, AGP e HP aumentaram suas concentrações, indicando a interferência dos fármacos nessa elevação.
- Após o 1º ciclo de quimioterapia a CP diminuiu suas concentrações nos GLB e GLT, sugerindo menor síntese hepática, devido a melhora clínica dos pacientes.
- Na recidiva da doença as proteínas AAT, AGP, HP e CP aumentaram suas concentrações nos cães com linfoma T e somente a AGP aumentou a concentração no GLB, demonstrando a importância dessas proteínas como valor prognóstico da doença.

REFERÊNCIAS

ADDIE, D. D.; SILVEIRA, C.; ASTON, C.; BRAUCKMANN, P.; COVELL-RITCHIE, J. *et al.* Alpha-1 acid glycoprotein reduction differentiated recovery from remission in a small cohort of cats treated for feline infectious peritonitis. **Viruses**. 2022;14(4):744. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35458474/doi:10.3390/v14040744>

ADDIE, D. D.; COVELL-RITCHIE, J.; JARRETT, O.; FOSBERY M. Rapid resolution of non-effusive feline infectious peritonitis uveitis with an oral adenosine nucleoside analogue and feline interferon omega. **Viruses**. 2020;12(11):1216. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33121021/doi:10.3390/v12111216>

ARICÓ, A; FERRARESSO, S; BRESOLIN, S; MARCONATO, L; COMAZZI, S; TEKRONNIE, G; ARESU, L. Array-based comparative genomic hybridization analysis reveals chromosomal copy number aberrations associated with clinical outcome in canine diffuse large B cell lymphoma. **Plos One**. 2014;9(11):e111817. doi: 10.1371/journal.pone.0111817. eCollection 2014. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25372838/>

AYYAR, V. S.; ALMON, R. R.; DUBOIS, D. C.; SUKUMARAN, S.; QU, J.; *et al.* Functional proteomic analysis of corticosteroid pharmacodynamics in rat liver: Relationship to hepatic stress, signaling, energy regulation, and drug metabolism. **Journal Proteomics**, v. 160, p. 84-105, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.03.007>

BLANCO I. Alpha-1 antitrypsin biology. In: Blanco I, editor. Blanco's overview of alpha-1 antitrypsin deficiency: **Academic Press**; 2017. p. 23-37. Disponível em: <https://www.jornaldepneumologia.com.br/details/3511/pt-BR/update-on-and-future-perspectives-for-the-diagnosis-of-alpha-1-antitrypsin-deficiency-in-brazil>
doi: [10.36416/1806-3756/e20200380](https://doi.org/10.36416/1806-3756/e20200380)

CALAZANS, S. G.; DALECK, C. R.; FAGLIARI, J. J.; REPETTI, C. F.; DE NARDI, A. *et al.* Proteinograma sérico de cães saudáveis e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 5, p. 1044-1048, 2009.

CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, Baton Rouge, v.34, n.2, p.85-99, 2005. Disponível em <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x>
doi:10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x

CRAY, C. Acute phase proteins in animals. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, Danvers, v. 105, p. 113-150, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/bookseries/pii/B9780123945969000056?via%3Dihub>
doi: 10.1016/B978-0-12-394596-9.00005-6.

DALECK, R. C.; DE NARDI, B. A. **Oncologia em cães e gatos**. Editora Gen. 2ª edição. 2016.

DESUEZA, F. W.; LATIFF, E. A. Hereditary lung diseases [Article in Spanish]. **Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**. 2018;12(63):3719-3725. Disponível em: <https://www.medicineonline.es/enfermedad-pulmonar-obstruccion-cronica-articulo-S0304541218302105>
doi: <https://doi.org/10.1016/j.med.2018.09.011>

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, London, v.185, p. 2327, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20621712/>
doi: [10.1016/j.tvjl.2010.04.009](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.009)

EINHORN, A.; DANK, G.; HANAEL, E.; KENT, M. S.; CLIFFORD, C. A. *et al.* Outcomes and prognostic factors in canine T cell lymphoma treated with lomustine, vincristine, cyclophosphamide, and prednisone chemotherapy. **Veterinary Oncology** (2024) 1:6. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s44356-024-00007-y#citeas> <https://doi.org/10.1186/s44356-024-00007-y>

FIORATO, C. A.; CONTI, J. B.; MASSINI, P. F.; FROSSARD, N. K. Avaliação da proteína C reativa, glicoproteína ácida e velocidade de hemossedimentação em cães com displasia coxofemoral. **Revista Aracê**, São José dos Pinhais, v. 6, n. 4, p. 14941-14953, 2024. ISSN 2358-2472 Disponível em: <https://periodicos.newsciencepubl.com/arace/article/view/2207>.
doi: [10.56238/arev6n4-230](https://doi.org/10.56238/arev6n4-230).

GULHAR, R; ASHRAF, M. A; JIALAL, I. Physiology, Acute Phase Reactants. StatPearls Publishing; 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519570/>

HARVEY, J. W. & WEST, C. L. Prednisone-induced increases in serum alpha-2 globulin and haptoglobin concentration in dogs. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 24, n. 1, p. 90-92, 1987. doi: 10.1177/030098588702400115. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2435050/>

HAZUCHOVA, K.; HELD, S.; KLEMM, I.; BAUER, N. Simplified Light's Criteria and Acute Phase Proteins Reflect Aetiology of Feline Body Cavity Effusions Better than the Traditional Classification Scheme. *Animals* 2023, 13, 1918. <https://doi.org/10.3390/ani13121918> <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37370428/>

HORTA, G. F. Linfoma canino: Revisão. **Pubvet**, v. 14, p. 163, 2020. doi: 10.31533/pubvet.v14n8a632.1-4

HUGHES, D.; ELLIOTT, D. A.; WASHABAU, R. J.; KUEPPERS, F. Effects of age, sex, reproductive status, and hospitalization on serum alpha-1-antitrypsin concentration in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 56, n. 5, p. 568-572, 1995.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, New Delhi, v. 3, p.118-127, 2011.

KRASZTEL, M, M; CZOPOWICZ, M; SZALUŚ-JORDANOW, O; MOROZ, A; MICKIEWICZ, M; *et al.* Accuracy of acute-phase proteins in identifying lethargic and anorectic cats with increased serum feline pancreatic lipase immunoreactivity. **Veterinary Clinical Pathology** 2022 Mar;51(1):93-100. doi: 10.1111/vcp.13097.

KRENTZ, D.; ZENGER, K.; ALBERER, M.; FELTEN, S.; BERGMANN, M. *et al.* Curing cats with feline infectious peritonitis with an Oral multi-component drug containing GS-441524. *Viruses*. 2021;13(11):2228. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34835034/doi:10.3390/v13112228>

LOVE, E. K.; LEIBMAN, N. F.; RINGOLD, R.; LAMB, K. Serum haptoglobin concentrations in feline inflammatory bowel disease and small-cell alimentary lymphoma: a potential biomarker for feline chronic enteropathies. **Journal of Feline Medical Surgery**. 2021;23(10):959-964. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11197119/doi:10.1177/1098612X21991448>

LUCAS, S. R. R.; MERLO, A.; MIRANDOLA, R. M. S.; GASPARIN, T. P. Ceruloplasmin concentration in dogs with multicentric lymphoma undergoing chemotherapy. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 6, p. 477-482, 2010. Disponível em: <https://revistas.usp.br/bjvras/en/article/view/26810>
doi: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2010.26810>

MARCONATO, L.; ARESU, L.; STEFANELLO, D.; COMAZZI, S.; MARTINI, V. *et al.* Opportunities and challenges of active immunotherapy in dogs with B-cell lymphoma:

a 5-year experience in two veterinary oncology centers. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer** (2019) 7:146. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31174615/>
doi: 10.1186/s40425-019-0624-y

MARCONATO, L.; STEFANELLO, D.; VALENTI, P.; BONFANTI, U.; COMAZZI, S. *et al.* Predictors of long-term survival in dogs with high-grade multicentric lymphoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. 2011; 238(4):480–5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21320018/>
doi: 10.2460/javma.238.4.480

MARTINEZ-SUBIELA, S.; GINEL, P. J.; CERÓN, J. J. Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs. **Veterinary Record**, London, 2004, v. 154, p. 814–817.

MERLO, A.; REZENDE, B. C. G.; FRANCHINI, M. L.; MONTEIRO, P. R. G.; LUCAS, S. R. R. Serum amyloid A is not a marker for relapse of multicentric lymphoma in dogs. April 2008. **Veterinary Clinical Pathology** 37(1):79-85. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18366549/>
doi:[10.1111/j.1939-165X.2008.00016.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2008.00016.x)

McGROTTY, Y. L.; ARTEAGA, A.; KNOTTENBELT, C. M.; RAMSEY, I. K.; ECKERSALL, P. D. Haptoglobin concentrations in dogs undergoing trilostane treatment for hyperadrenocorticism. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 34, n. 3, p. 255-258, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16134074/>
doi: 10.1111/j.1939-165x.2005.tb00050.x

NARYZNY, S. N.; LEGINA, O. K. Haptoglobin as a biomarker. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2021, Vol. 15, No. 3, pp. 184–198. **Biomeditsinskaya Khimiya**. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8365284/>
DOI: 10.1134/S1990750821030069

PASTOR, M.; CHALVETMONFRAY, K.; MARCHAL, T.; KECK, G.; MAGNOL, J. P. *et al.* Genetic and environmental risk indicators in canine non-Hodgkin's lymphomas: breed associations and geographic distribution of 608 cases diagnosed throughout France over 1 year, **Journal of Veterinary Internal Medicine** 23:301-310, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19192140/> doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0255.x

POWANDA, M. C.; MOYER, E. D. A brief, highly selective history of acute phase proteins as indicators of infection, inflammation and injury. **Inflammopharmacology** (2021) 29:897–901 <https://doi.org/10.1007/s10787-021-00820-z>

ROSSI, G. Acute phase proteins in cats: Diagnostic and prognostic role, future directions, and analytical challenges. **Veterinary Clinical Pathology**. 2023, 52 (Suppl. S1), 37–49. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36740231/>
doi: 10.1111/vcp.13238

SANTANA, A. E.; SEKI, M. C.; GAMA, F. G. V.; SOBREIRA, M. F. R.; CANESIN, A. P. M. Citologia Aspirativa com Agulha Fina Aplicada ao Estudo das Neoplasias. In: DALECK, R. C.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo:Roca, 2008, cap. 4, p. 76-91.

SINNIAH, A.; YAZID, S.; FLOWER, R. J. From NSAIDs to glucocorticoids and beyond. **Cell**. 2021;10(12):3524. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34944032/> doi:10.3390/cells10123524

TECLES, F.; SPIRANELLI, E.; BONFANTI, U.; CERÓN, J. J.; PALTRINIERI, S. Preliminary studies of serum acute-phase protein concentrations in hematologic and neoplastic diseases of the dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n.19, p.865-870, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16355682/> doi: 10.1892/0891-6640(2005)19[865:psosap]2.0.co;2

THALMEIER, S.; GÜSSOW, A.; HÄUSER, M. K.; BAUER, N.; HAZUCHOVA, K. Cat alpha-1-acid glycoprotein enzyme-linked immunosorbent assay: performance characteristics and reference intervals. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. 2023 maio;25(5):1098612X231162836. doi: 10.1177/1098612X231162836.

VAIL, D. M.; PINKERTON, M.; YOUNG, K, M. Hematopoietic Tumors SECTION A: CANINE LYMPHOMA AND LYMPHOCYTIC LEUKEMIAS. Chapter 33. 688-772, 2019. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7161413/>

VIEIRA, M. C.; COLETA, F. E. D.; GODOY, A. V.; SOBREIRA, M. F. R.; GALVÃO, A. L. B.; *et al.* Acute phase proteins in canine lymphoma during antineoplastic chemotherapy. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, Botucatu, v. 3, p. 86-92, 2010. Disponível em: <https://bjvp.org.br/bjvp/article/view/57> doi: <https://doi.org/10.24070/bjvp.1983-0246.003016>

VITOR, C. A. S.; ASSIS, F. M. S.; MANRIQUE, W. G. Internação em cão: Revisão de literatura e relato de caso. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 14, n. 2, p. 51-51, 2016. Disponível em: <https://www.revistamvez-crmv-sp.com.br/index.php/recmvz/article/view/31856>

YUKI, M.; ITOH, H.; TAKASE, K. Serum α 1-acid glycoprotein concentration in clinically healthy puppies and adult dogs and in dogs with various diseases. **Veterinary Clinical Pathology**. v. 39, p. 65-71, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19761561/> doi: 10.1111/j.1939-165X.2009.00181.x