



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Ciclo de Estudos Integrado Conducente ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária

Artigo de Revisão

FOSFATO DE TOCERANIB EM ONCOLOGIA VETERINÁRIA DE ANIMAIS DE COMPANHIA

Allison Matias Cardoso

Coimbra, julho de 2024



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Ciclo de Estudos Integrado Conducente ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária

Artigo de Revisão

FOSFATO DE TOCERANIB EM ONCOLOGIA VETERINÁRIA DE ANIMAIS DE COMPANHIA

Coimbra, julho de 2024

Allison Matias Cardoso

Constituição do Júri

Trabalho realizado sob a orientação

Presidente do Júri: Professora Doutora Sofia Giestas Cancela Duarte

Professora Doutora Ana Catarina Pais dos Santos Figueira

Arguente: Professor Doutor Hugo Corte-Real Vilhena

Orientador: Professora Doutora Ana Catarina Pais dos Santos Figueira



Dissertação de Mestrado do Ciclo de Estudos Integrado Conducente ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária



AGRADECIMENTOS

Não podia terminar esta etapa sem antes agradecer a todos os que tornaram este sonho possível.

Gostaria de começar por agradecer a todo o corpo docente e não docente da Escola Universitária Vasco da Gama e em especial à minha orientadora, Professora Doutora Ana Catarina Figueira, pelo carinho e apoio que demonstra pelos seus alunos ao longo do curso e pela paciência, disponibilidade e ajuda prestada durante todo o processo de elaboração desta dissertação.

À Dra. Juliana Moreira e Dra. Sara Corvelo por me terem acolhido de forma tão carinhosa, nas suas instituições e terem tornado o meu estágio curricular numa experiência tão enriquecedora. Às respetivas equipas, um muito obrigado pelos ensinamentos transmitidos.

Aos meus amigos de sempre, Carolina Almeida, Luís Santos e Mariline Fernandes por tantos anos de amizade e companheirismo e por todo o apoio incondicional que sempre demonstraram.

Aos meus pilares durante estes cinco anos de universidade Ana Luísa Chaves, Joel Pinheiro e Miguel Martins, por terem transformado este percurso em algo incrível que jamais esquecerei. Por todas as gargalhadas, tardes de estudo intensas e noitadas, pela amizade e por nunca me terem deixado desistir, muito obrigado, sem vocês teria sido muito mais difícil.

Um especial obrigado aos meus avós, Alice e Manuel, que em tanto contribuíram para a realização deste sonho e infelizmente partiram durante o percurso. A eles, dedico este trabalho.

À minha irmã Cristiana, por toda a paciência que tem comigo, por suportar as minhas crises existenciais e estar sempre disposta a ajudar-me quando mais preciso. É sem dúvida, um dos meus pilares e um exemplo a seguir. À minha irmã Joana, a “bebé” da casa, por animar os meus dias e ser o meu porto seguro.

Por fim, agradeço aos meus pais por sempre me apoiarem e por todo o esforço que fizeram para que eu pudesse realizar este sonho de me tornar médica veterinária. São um exemplo de determinação e sem eles nada disto seria possível!

A todos os que não foram mencionados, mas que de uma forma ou de outra contribuíram para o meu sucesso académico e pessoal, o meu muito obrigado!

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. ABORDAGEM TERAPÊUTICA AO PACIENTE ONCOLÓGICO.....	5
2.1. QUIMIOTERAPIA CONVENCIONAL.....	7
2.2. QUIMIOTERAPIA METRONÓMICA.....	7
2.3. QUIMIOTERAPIA MOLECULAR DIRIGIDA.....	7
3. RECETORES DE TIROSINA QUINASE.....	8
4. INIBIDORES DOS RECETORES TIROSINA QUINASE.....	9
4.1. MASITINIB.....	11
4.2. FOSFATO DE TOCERANIB.....	11
4.2.1. Farmacocinética.....	12
4.2.2. Posologia de administração.....	12
4.2.3. Efeitos adversos.....	13
4.2.4. Terapias combinadas.....	15
5. FOSFATO DE TOCERANIB EM MASTOCITOMAS CANINOS.....	17
6. FOSFATO DE TOCERANIB EM GATOS.....	19
7. USO “OFF-LABEL” DO FOSFATO DE TOCERANIB EM CÃES.....	20
7.1. ADENOCARCINOMA DAS GLÂNDULAS ANAIS.....	21
7.2. CARCINOMA DA TIROIDE.....	22
7.3. CARCINOMA NASAL.....	23
7.4. NEOPLASIA DO ESTROMA GASTROINTESTINAL.....	24
7.5. OSTEOSSARCOMA.....	24
7.6. HEMANGIOSSARCOMA.....	25
8. CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo de ação dos Inibidores Tirosina Quinase	10
---	----

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Resumo dos principais resultados de estudos sobre o uso “off label” do fosfato de toceranib em diversos tipos de neoplasias.....	27
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AGA – Adenocarcinoma das glândulas anais

AINEs – Anti-inflamatórios não esteroides

ATP – Adenosina trifosfato

CEPs – Células progenitoras endoteliais circulantes

c-KIT – Domínio justamembranar do recetor KIT

Cmáx – Concentração máxima plasmática

COX-1 e COX-2 – Cicloxigenases 1 e 2

CSFR-1 – Recetor 1 do fator estimulador de colónias

DMT – Dose máxima tolerada

FDA – *Food and drug administration*

FGF-R – Recetor do fator de crescimento de fibroblastos

GFs – Fatores de crescimento

IECAs – Inibidores da enzima de conversão da angiotensina

KIT – Recetor do fator de células estaminais

ILPD – Intervalo livre de progressão de doença

TKIs – Inibidores dos recetores tirosina quinase

PDGF-R – Recetor do fator de crescimento derivado de plaquetas

RET – *Gene rearranged during transfection*

RTKs – Recetores tirosina quinase

TOC – Fosfato de toceranib

TKs – Tirosina quinase

VEGF-R – Recetor do fator de crescimento endotelial vascular

Fosfato de toceranib em oncologia veterinária de animais de companhia

Allison Cardoso^a, Ana Catarina Figueira^{a,b,c}

^a Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (allison_1c@hotmail.com) (ana.figueira@euvg.pt)

^b Hospital Veterinário Universitário de Coimbra (HVUC), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal

^c Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal

RESUMO

A doença oncológica em animais de companhia tem-se tornado uma crescente preocupação, devido ao aumento da sua esperança de vida e a uma maior procura por cuidados médico veterinários. A terapêutica oncológica tem vindo a evoluir, procurando tratamentos mais direcionados às células neoplásicas e com menos efeitos adversos.

Uma nova abordagem no tratamento de neoplasias é a administração de inibidores de alvos moleculares específicos, que se encontram alterados nas células tumorais, nomeadamente recetores tirosina quinase.

Os inibidores dos recetores tirosina quinase, como o fosfato de toceranib, têm vindo a destacar-se no tratamento de neoplasias, mostrando eficácia e estando associados à ocorrência de menos efeitos adversos.

O fosfato de toceranib é um inibidor, capaz de bloquear a função de diversos recetores tirosina quinase, atuando como um inibidor competitivo do ATP. Funciona como agente anti-angiogénico, mas também possui efeitos anti tumorais diretos, o que o torna uma opção terapêutica mais versátil.

O fosfato de toceranib está aprovado no tratamento de mastocitomas caninos de grau II e III não extirpáveis. Embora esteja aprovado apenas para mastocitomas, tem sido utilizado em regime “off-label”, como terapia adjuvante ou de forma paliativa em diversos tipos de neoplasias, nomeadamente adenocarcinoma das glândulas anais, carcinoma da tiroide, adenocarcinoma nasal, neoplasias do estroma gastrointestinal, osteossarcoma e hemangiossarcoma, exibindo resultados favoráveis particularmente no aumento do tempo de sobrevida dos pacientes.

A dose mais utilizada nos diversos tipos de neoplasias tem sido, de 2,5 a 2,75mg/Kg, a cada 48h ou três vezes por semana. Nesta dose, verificou-se uma diminuição da frequência e gravidade dos efeitos adversos observados nos pacientes quando comparados aos observados em pacientes sujeitos à dose *standard*. Os efeitos adversos mais observados são toxicidades gastrointestinais.

O fosfato de toceranib representa assim uma alternativa viável em casos onde as opções terapêuticas convencionais são limitadas.

PALAVRAS-CHAVE: Fosfato de Toceranib; Inibidores Tirosina Quinase; Oncologia Veterinária; Animais de companhia

ABSTRACT

The occurrence of oncological diseases in companion animals has become a growing concern due to their increased life expectancy and a higher demand for veterinary care. Oncological therapy has been evolving, seeking treatments that are more targeted to neoplastic cells and have fewer adverse effects.

A new approach in the treatment of neoplasms is the administration of inhibitors of specific molecular targets that are altered in tumor cells, particularly tyrosine kinase receptors.

Tyrosine kinase receptor inhibitors, such as toceranib phosphate, have been gaining prominence in the treatment of neoplasms, showing efficacy and being associated with fewer adverse effects.

Toceranib phosphate is an inhibitor capable of blocking the function of various tyrosine kinase receptors, acting as a competitive ATP inhibitor. It functions as an anti-angiogenic agent but also has direct anti-tumor effects, making it a more versatile therapeutic option.

Toceranib phosphate is approved for the treatment of non-resectable grade II and III canine mast cell tumors. Although it is only approved for mast cell tumors, it has been used "off-label" as an adjuvant or palliative therapy in various types of neoplasms, including anal gland adenocarcinoma, thyroid carcinoma, nasal adenocarcinoma, gastrointestinal stromal tumors, osteosarcoma, and hemangiosarcoma, showing favorable results particularly in increasing the survival time of patients.

The most commonly used dose in various types of neoplasms has been 2.5 to 2.75 mg/kg, every 48 hours or three times a week. At this dose, a decrease in the frequency and severity of adverse effects observed in patients was noted compared to those observed in patients subjected to the standard dose. The most commonly observed adverse effects are gastrointestinal toxicities.

Thus, toceranib phosphate represents a viable alternative in cases where conventional therapeutic options are limited.

KEYWORDS: Toceranib Phosphate; Tyrosine Kinase Inhibitors; Veterinary Oncology; Pets

1. INTRODUÇÃO

A doença oncológica constitui uma das principais preocupações na saúde dos animais de companhia e é considerada uma das principais causas de morte em cães, principalmente idosos (Dias-Pereira, 2022). O aumento da esperança média de vida dos animais de companhia aliada a uma maior preocupação e consequente crescente procura de cuidados médico-veterinários por parte dos tutores, conduziu a um aumento do número de diagnósticos de neoplasias (Fleming, Creevy and Promislow, 2011).

A medicina oncológica tem evoluído ao longo dos anos com o objetivo de encontrar estratégias terapêuticas mais direcionadas para as células neoplásicas e, consequentemente, com menos efeitos adversos e um maior tempo de sobrevivência dos animais de companhia (Ebrahimi *et al.*, 2023).

Até há vinte anos, a cirurgia era a principal opção de tratamento do cancro nos animais de companhia, no entanto, atualmente, estão disponíveis diversas técnicas que permitem o tratamento de tumores inoperáveis ou metastizados, com graus variáveis de sucesso. Algumas das terapias disponíveis incluem a radioterapia, quimioterapia convencional, quimioterapia metronómica, quimioterapia molecular dirigida, eletroquimioterapia, imunoterapia, fototerapia, fotoquimioterapia, entre outras (Khanna and Foskett, 2017).

A escolha do protocolo terapêutico depende do diagnóstico definitivo do tipo de tumor, do seu comportamento biológico e do estadió clínico, bem como de fatores relacionados com o paciente e com os tutores. Uma completa avaliação do estado geral de saúde do animal, previamente ao início dos tratamentos, é de extrema importância, pois permite determinar se existem patologias concomitantes que levem à necessidade de ajustes no protocolo terapêutico (Couto, 2020). Os tutores devem ser informados sobre o diagnóstico, prognóstico, opções terapêuticas, vantagens e desvantagens de cada uma, bem como de todos os custos associados para que possam tomar a sua decisão em consciência (Couto, 2020). Um tutor informado torna-se mais cooperante na realização dos tratamentos prescritos e na monitorização do animal (Biller *et al.*, 2016).

O uso de inibidores dos recetores tirosina quinase (TKIs) tem ganho uma importância significativa no tratamento de doentes oncológicos nas últimas décadas, por se mostrarem eficazes e com menos efeitos secundários do que os quimioterápicos convencionais. Um inibidor que tem vindo a ganhar expressão em oncologia veterinária é o fosfato de toceranib (Petros and Aaron, 2022).

O fosfato de toceranib é um inibidor com capacidade de bloquear a função de vários tipos de recetores de tirosina quinase (RTKs), expressos na superfície das células tumorais e de novos vasos sanguíneos (Bernabe *et al.*, 2013). Funciona como um inibidor competitivo da adenosina trifosfato (ATP), prevenindo assim a fosforilação dos recetores e subsequente transdução de sinal a jusante (Ebrahimi *et al.*, 2023).

O fosfato de toceranib foi originalmente desenvolvido como um agente anti-angiogénico, por ter a capacidade de inibir alguns tipos de recetores responsáveis pela angiogénese dos tumores. No entanto, atualmente sabe-se que possui também efeitos anti tumorais diretos (Bernabe *et al.*, 2013).

Apesar deste fármaco ter sido aprovado apenas no tratamento de mastocitomas cutâneos de grau II e III não extirpáveis, tem sido amplamente utilizado no tratamento de diversas neoplasias tanto de forma isolada como associado a protocolos com outros quimioterápicos ou radioterapia. Tem mostrado resultados positivos na inibição da neoangiogénese e consequente remissão de vários tipos de tumores, nomeadamente adenocarcinomas das glândulas anais (AGA), carcinomas da tireoide, carcinomas da cabeça e pescoço e tumores nasais (Petros and Aaron, 2022).

O objetivo desta revisão bibliográfica é apresentar uma compilação das mais recentes informações disponíveis na literatura relativamente ao uso do fosfato de toceranib em tumores de animais de companhia, com referência aos diferentes tipos de tumores com evidências de resposta ao fosfato de toceranib, identificando os protocolos utilizados, bem como aos potenciais efeitos secundários.

2. ABORDAGEM TERAPÊUTICA AO PACIENTE ONCOLÓGICO

Existem vários fatores a considerar ao elaborar um plano de tratamento de um paciente oncológico. Um dos fatores fundamentais é o objetivo do tratamento, pois este pode condicionar o tipo de terapia a implementar (Biller *et al.*, 2016).

Idealmente, todos os tratamentos teriam como objetivo a erradicação total das células tumorais resultando num estado permanente de cura, mas na maioria das vezes tal não é possível devido ao estado de saúde do animal, à presença de doenças concomitantes e ao potencial citotóxico dos fármacos. Estes fatores levam à necessidade de diminuir as doses utilizadas, de forma a manter os efeitos secundários dentro de um nível aceitável (Couto, 2020). Em animais cujo prognóstico é desfavorável e com um curto período de sobrevivência, pode não ser justificável a implementação de tratamentos com doses elevadas devido aos efeitos adversos dos fármacos. Nestes casos, pode-se

implementar um tratamento paliativo, no qual o objetivo é melhorar a qualidade de vida do animal e aumentar a sua sobrevivência, mas sem expectativa de que haja erradicação da neoplasia, ou seja, que o paciente atinja a remissão (Frimbergger and Moore, 2017).

A escolha do protocolo terapêutico depende de vários fatores e deve ter por base o tipo de tumor, o grau histológico e o estadió clínico (Biller *et al.*, 2016). Atualmente, sabe-se que na maioria das vezes existe uma maior taxa de sucesso quando se implementa uma terapêutica combinada, com diversas formas de tratamento podendo incluir cirurgia, radioterapia, quimioterapia, imunoterapia, bem como tratamento sintomático, suporte nutricional e manejo da dor (Biller *et al.*, 2016; Couto, 2020).

A cirurgia é a técnica de eleição para a erradicação de neoplasias localizadas, em estadió inicial e com baixo potencial metastático (Farese, Liptak and Withrow, 2020). A radioterapia, consiste na utilização de radiação ionizante que conduz à morte celular, visando a erradicação das células neoplásicas (Allen, Her and Jaffray, 2017). Estes tratamentos, são utilizados na maioria das vezes com o objetivo de atingir a cura do paciente, embora possam ser usados com carácter paliativo em animais com doença metastática (Couto, 2020).

O tratamento de imunoterapia tem por base capacitar o sistema imunológico no reconhecimento de células alteradas e na sua eliminação (Bergman, 2019). A imunoterapia tem como alvo as células neoplásicas, não afetando os tecidos normais. Pode funcionar de forma passiva, através da administração de anticorpos monoclonais, ou de forma ativa, desencadeando respostas imunitárias específicas, através da administração de vacinas (Buonaguro *et al.*, 2011). Possui ainda, capacidade de induzir uma resposta prolongada, auxiliando na prevenção de recidivas (Biller *et al.*, 2016).

Nas últimas décadas, a quimioterapia tem sido a terapia de eleição para o tratamento de neoplasias sistémicas, como tumores hematopoiéticos e em tumores sólidos metastizados (Gustafson and Bailey, 2020). Consiste na administração de fármacos com ação citostática ou citotóxica em doses próximas da dose máxima tolerada (DMT) (Schito *et al.*, 2020).

Atualmente estão disponíveis três modalidades de quimioterapia: quimioterapia convencional, quimioterapia metronómica e quimioterapia molecular dirigida (Biller *et al.*, 2016).

2.1. QUIMIOTERAPIA CONVENCIONAL

A quimioterapia convencional consiste na administração da DMT de quimioterápicos, com intervalos de administração relativamente longos (Schito *et al.*, 2020). Estas pausas são fundamentais para permitir a recuperação dos tecidos normais sensíveis aos fármacos, especialmente os precursores da medula óssea e as células epiteliais gastrointestinais e assim evitar atingir níveis de toxicidade inaceitáveis (Biller, 2014). No entanto, estes períodos de intervalo também permitem a recuperação das células neoplásicas, levando ao desenvolvimento do tumor e possibilitando que este metastize (Schito *et al.*, 2020). Embora a quimioterapia convencional, frequentemente, conduza ao aumento da sobrevida dos animais de companhia, nem sempre resulta na erradicação do tumor (Biller, 2014).

2.2. QUIMIOTERAPIA METRONÓMICA

A quimioterapia metronómica consiste na administração de quimioterápicos em doses mais baixas, mas com uma maior frequência de administração e a longo prazo, com diminuição da gravidade dos efeitos secundários e dos níveis de toxicidade atingidos (Biller, 2014). Esta posologia leva a alteração no mecanismo de ação dos fármacos, que deixam de ter efeitos citotóxicos e passam a inibir o crescimento tumoral por meio de mecanismos imunomoduladores e antiangiogénicos (Gaspar *et al.*, 2018).

Fármacos com alvo molecular, como o fosfato de toceranib e anti-inflamatórios não esteroides têm demonstrado exercer efeitos antiangiogénicos por atuarem em recetores específicos (Gustafson and Bailey, 2020). Atualmente, estão a ser estudados diversos protocolos de quimioterapia metronómica que combinam anti-inflamatórios não esteroides, medicamentos alquilantes em baixas doses e o fosfato de toceranib (Gaspar *et al.*, 2018).

2.3. QUIMIOTERAPIA MOLECULAR DIRIGIDA

Uma nova abordagem no tratamento de neoplasias consiste na administração de inibidores de alvos moleculares específicos, que se encontram alterados em células tumorais (Maeda, 2023). Alguns dos alvos importantes para intervenção terapêutica são os RTKs, fatores de transcrição, proteínas que bloqueiam a apoptose, proteínas de choque térmico e reguladores de exportação nuclear (Ebrahimi *et al.*, 2023).

Fármacos com este tipo de mecanismo de ação são responsáveis pela inibição do crescimento de células neoplásicas e prevenção da sua metastização, possibilitando uma intervenção direta nas células tumorais e indireta ao nível do microambiente tumoral (London, 2014).

Atualmente, existem duas classes de fármacos capazes de inibir alvos moleculares específicos: os anticorpos monoclonais e os inibidores de moléculas pequenas (Hernández *et al.*, 2021). Os anticorpos monoclonais são direcionados a proteínas expressas na superfície celular, pois como estes são macromoléculas não possuem capacidade de atravessar a membrana celular (Maeda, 2023). São amplamente usados em medicina humana no tratamento de diversas neoplasias, doenças autoimunes e inflamações crônicas (Posner *et al.*, 2019), no entanto ainda não existe nenhum anticorpo monoclonal aprovado para uso em oncologia veterinária (Klingemann, 2021). Os inibidores de moléculas pequenas, visam proteínas na superfície celular, do citoplasma e do núcleo (Maeda, 2023).

Em medicina veterinária, o uso de inibidores de moléculas pequenas é ainda relativamente recente, estando disponíveis apenas dois fármacos, toceranib e masitinib aprovados para uso em cães (Hernández *et al.*, 2021).

3. RECETORES DE TIROSINA QUINASE

Tirosina quinase (TKs) são proteínas que se ligam ao ATP e adicionam grupos fosfato a aminoácidos chave, quer nelas próprias (autofosforilação) ou noutras proteínas, promovendo a transmissão de sinais celulares (Frezoulis and Harper, 2022). Este processo de sinalização ocorre em resposta a reações geradas pela ligação de fatores de crescimento (GFs) ao seu recetor específico. As vias de sinalização têm origem fora da célula e transmitem-se ao núcleo através do citoplasma (Lemmon and Schlessinger, 2010).

Os RTKs são proteínas transmembranares, que possuem um domínio extracelular onde se ligam os GFs e se inicia o processo de sinalização e um domínio citoplasmático, onde ocorre a fosforilação (Trenker and Jura, 2020). A sinalização dos RTKs desempenha um papel fundamental no crescimento, proliferação, diferenciação e sobrevivência das células (Frezoulis and Harper, 2022).

Existem várias subfamílias de RTKs, incluindo o recetor do fator de células estaminais (KIT), recetor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF-R), recetor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF-R), recetor do fator de crescimento de fibroblastos (FGF-R) e os recetores Tie1 e Tie2

para angiopoietina (Biller, 2014; Yamaoka *et al.*, 2018). Num processo neoplásico, o VEGF-R é dos recetores mais importantes, pois é o que mais contribui para a indução do processo de angiogénese tumoral, através da proliferação e migração das células endoteliais e da mobilização de células progenitoras endoteliais circulantes (CEPs) da medula óssea para locais de neovascularização (Biller, 2014). Este processo é crucial para o crescimento e desenvolvimento tumoral (London, 2014).

A expressão anómala dos RTKs leva a um distúrbio no crescimento celular que contribui para a génese de várias doenças, nomeadamente múltiplos tipos de cancro que dependem da atividade dos RTK para o seu crescimento (Du and Lovly, 2018; Saraon *et al.*, 2021). A ativação aberrante dos recetores pode ocorrer através de mecanismos de mutação, sobreexpressão, geração de proteínas de fusão ou fosforilação autócrina, resultando em sinalização intracelular anómala e impulsionando processos de oncogénese, nomeadamente o crescimento, angiogénese e metastização tumoral (Saraon *et al.*, 2021; Frezoulis and Harper, 2022).

As mutações podem levar a alterações na estrutura e função das proteínas que resultam na ativação oncogénica dos RTKs (Frezoulis and Harper, 2022). A sobreexpressão de RTKs é um grande impulsionador da oncogénese e é mais comumente causada por duplicações focais de regiões genómicas contendo RTKs que, ao aumentar os níveis de RTKs resultam na sua ativação aberrante. Rearranjos cromossómicos geram proteínas de fusão oncogénicas que impulsionam o desenvolvimento de uma série de tumores (Saraon *et al.*, 2021).

Ao longo das últimas duas décadas, os RTKs têm representado um alvo importante para as terapias moleculares dirigidas, com vários TKIs a serem desenvolvidos e clinicamente aprovados para vários tipos de tumores (Saraon *et al.*, 2021).

4. INIBIDORES DOS RECETORES TIROSINA QUINASE

Os TKIs são fármacos que competem com o local de ligação de ATP dos RTKs alterados, funcionando como inibidores competitivos (figura.1) (Maeda, 2023). A ligação do ATP é necessária para que ocorra a autofosforilação dos RTKs e subsequente sinalização, essencial para a sobrevivência e crescimento das células tumorais (Saraon *et al.*, 2021).

Os TKIs ao competirem diretamente com o local específico de ação dos RTKs, impedem a sua autofosforilação, inibindo o crescimento das células tumorais e conduzindo a morte celular (Yamaoka

et al., 2018). Estas moléculas, para além do efeito direto que exercem na inibição dos recetores, também possuem capacidade de interagir fora do local de ligação do ATP, nomeadamente ao nível da angiogénese tumoral, através da inibição do VEGF-R e PDGF-R nas células endoteliais (Ebrahimi *et al.*, 2023).

Em medicina veterinária, a utilização deste tipo de fármacos é relativamente recente existindo apenas dois TKIs aprovados para uso em cães, fosfato de toceranib e masitinib (Couto, 2020). O imatinib, um inibidor aprovado para medicina humana, é por vezes utilizado extra-indicação (*off label*) em medicina veterinária, nomeadamente em cães, sendo referido como bem tolerado (Hernández *et al.*, 2021).

O fosfato de toceranib e o masitinib são inibidores não seletivos, de baixa especificidade, desenvolvidos para produzir o seu efeito em múltiplos tipos de tirosina quinase envolvidos na progressão tumoral (Maeda, 2023). São administrados por via oral, por longos períodos, sem a necessidade de interrupções prolongadas como os quimioterápicos convencionais (London, 2014).

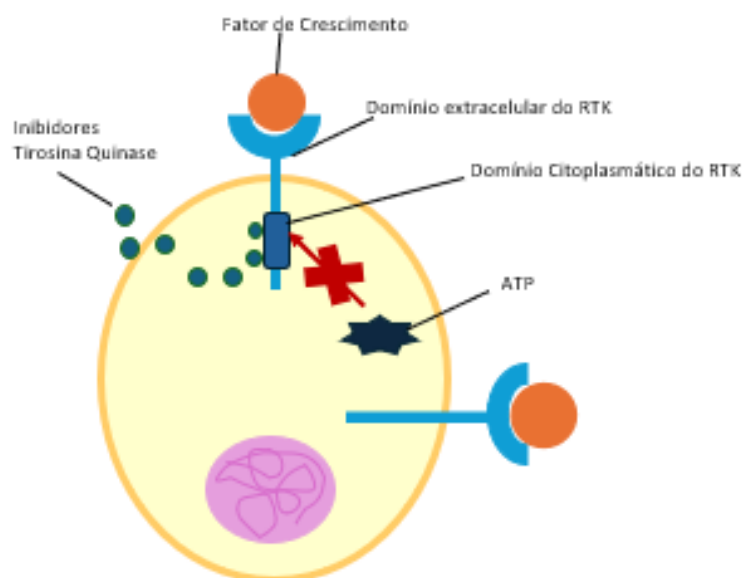


Figura 1 - Mecanismo de ação dos Inibidores Tirosina Quinase (RTK: Recetores Tirosina Quinase; ATP: Adenosina Trifosfato) (Adaptado de: Saraon *et al.*, 2021)

4.1. MASITINIB

O masitinib foi o primeiro inibidor de moléculas pequenas a ser aprovado para uso em cães, em 2008 (Maeda, 2023). Possui capacidade de bloquear os recetores KIT e PDGF-R. Está indicado no tratamento de mastocitomas caninos de grau II e III, com mutação confirmada no recetor tirosina quinase KIT e tem demonstrado atrasar significativamente a progressão do tumor (Hernández *et al.*, 2021). A posologia de administração é de 12,5 mg/kg (com um intervalo de dosagem de 11–14 mg/kg), a cada 24 horas (Gentilini *et al.*, 2020).

4.2. FOSFATO DE TOCERANIB

O fosfato de toceranib é um inibidor de moléculas pequenas, que bloqueia a sinalização de diversos RTKs na superfície celular, através de um mecanismo de inibição competitiva e reversível da ligação ao ATP, impedindo a fosforilação do recetor e consequente sinalização (London, 2014). Inicialmente, o fosfato de toceranib foi desenvolvido como um agente anti-angiogénico, uma vez que este tem como principais alvos terapêuticos a inibição dos recetores 2 do fator de crescimento endotelial vascular e recetor β do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF-R β), intervenientes fulcrais no desenvolvimento da angiogénese tumoral (Yancey *et al.*, 2010).

Atualmente, sabe-se que também exerce efeitos inibitórios sobre outras moléculas como o KIT, recetor 1 do fator estimulador de colónias (CSFR-1), envolvido no desenvolvimento de tumores hematopoiéticos e o gene “*rearranged during transfection*” (RET) relacionado com tumores endócrinos, resultando numa atividade anti tumoral direta (Maeda, 2023).

O facto do fosfato de toceranib apresentar simultaneamente estes dois tipos de atividade, permite-lhe uma aplicabilidade clínica mais abrangente e vantajosa que a maioria dos TKIs que apenas apresentam como alvo os recetores angiogénicos (Maeda, 2023). Existem ainda evidências de que o fosfato de toceranib possui propriedades imunomoduladoras a nível tumoral através da modulação de linfócitos T reguladores (London, 2014). O fosfato de toceranib é atualmente o inibidor de tirosina quinase mais utilizado em medicina veterinária (London, 2014). Foi licenciado em 2009, para o tratamento de mastocitomas cutâneos caninos, recorrentes não extirpáveis de grau II e III, mas já existem estudos que demonstram a sua eficácia noutros tipos de tumores, nomeadamente sarcomas e carcinomas (Harper and Blackwood, 2016; Maeda, 2023).

4.2.1. Farmacocinética

O fosfato de toceranib é administrado por via oral, apresentando uma biodisponibilidade de aproximadamente 80% em cães. Até à data, não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros farmacocinéticos dependendo do estado alimentado vs em jejum (Bernabe *et al.*, 2013). Este fármaco encontra-se altamente ligado a proteínas plasmáticas e tem metabolização hepática, num único metabolito, o N-óxido alicíclico. A sua excreção ocorre maioritariamente a nível intestinal nas fezes, estimando-se que apenas cerca de 10% seja excretado por via renal, através da urina (Yancey, Merritt, White, *et al.*, 2010).

Num estudo em cães nos quais foi administrado fosfato de toceranib na dose de 3,25 mg/kg, por via oral, verificou-se que a concentração máxima plasmática (C_{máx}) do fármaco foi de 67,8ng/ml, atingida cerca de 7 horas após a administração e o tempo de semi-vida foi em média de 16,8 horas. Seguindo a posologia de administração adotada neste estudo, determinou-se que o fármaco apresentava concentrações mensuráveis por cerca de 48 h, parâmetros que apoiam a sua administração a cada dois dias na dose inicial de 3,25 mg/kg para o tratamento de mastocitomas caninos. O toceranib, apresenta depuração moderada, alto volume de distribuição e tempo de semi-vida moderado (Yancey *et al.*, 2010).

4.2.2. Posologia de administração

O fosfato de toceranib está formulado para ser administrado em cães, por via oral, à dose de 3,25mg/kg a cada 48 horas. No entanto, existem evidências que demonstram que existe uma boa atividade biológica quando a dose administrada é inferior à DMT (London, 2017) .

Um estudo, realizado em cães com mastocitomas cutâneos recorrentes, aos quais foi administrado fosfato de toceranib, na dose de 2,5 mg/kg a cada 48 horas, demonstrou uma atividade biológica favorável em 68% dos animais. Um resultado positivo, quando comparado com outro grupo de cães que recebeu fosfato de toceranib na dose de 3,25 mg/kg a cada 48h, com respostas favoráveis em 60% dos animais (London, 2014).

Outro estudo realizado por Bernabe *et al.*, (2013) demonstrou que cães com tumores sólidos sujeitos a protocolos terapêuticos com fosfato de toceranib na posologia de 2,4 a 2,9 mg/kg, por via oral, a cada 48 horas, exibiam concentrações plasmáticas suficientes para inibição dos alvos terapêuticos. Este

estudo comprovou ainda que a administração de doses mais baixas do fármaco, está relacionada a uma menor ocorrência de efeitos adversos e com gravidade reduzida, quando comparado com os efeitos provocados pela dosagem indicada no rótulo.

Atualmente, diversos oncologistas veterinários administram fosfato de toceranib na posologia de 2,5 a 2,75 mg/kg em dias alternados (a cada 48 horas) e têm relatado alto grau de eficácia (London and Thamm, 2020).

Em relação à frequência de administração, apesar do fosfato de toceranib estar aprovado para ser administrado a cada 48 horas, existem evidências que demonstram que este é mais bem tolerado por pacientes com neoplasias sólidas quando administrado apenas três vezes por semana, principalmente quando combinado com outros fármacos, como por exemplo AINEs (London, 2014)).

4.2.3. Efeitos adversos

A observação de efeitos adversos em pacientes que realizam protocolos terapêuticos com TKIs deve-se à inibição crônica de RTKs expressos na superfície celular de células não neoplásicas (células “normais”), que necessitam dessas vias de sinalização para a sua sobrevivência e multiplicação (London *et al.*, 2009; Gustafson and Bailey, 2020).

Inibidores não específicos, como o fosfato de toceranib, que têm como alvo diversos grupos de RTKs, estão associados a um maior perfil de eventos adversos do que inibidores seletivos, mas, por norma, apresentam menos efeitos secundários que os tratamentos com quimioterápicos convencionais (London *et al.*, 2009).

Os efeitos adversos mais comuns em tratamentos com fosfato de toceranib estão associados ao trato gastrointestinal e incluem hiporexia, náusea, vômito, diarreia, colite e, embora menos frequente, hematoquezia (Harper and Blackwood, 2016; Shyam Sunder, Sharma and Pokharel, 2023). Por norma, estes sinais clínicos ocorrem de forma ligeira e auto limitante e estão geralmente associados a doses mais elevadas de toceranib, embora possam ocorrer mesmo em baixas doses (Shyam Sunder, Sharma and Pokharel, 2023).

O mecanismo que despoleta estes sinais é ainda bastante debatido, mas pressupõe-se que seja consequência da interrupção do fluxo sanguíneo da mucosa gastrointestinal, semelhante ao que acontece com os AINEs, e de efeitos tóxicos diretos induzidos nas células da mucosa. A limitada

capacidade de cicatrização da mucosa gastrointestinal e o aumento da inflamação, também parecem estar associados (Shyam Sunder, Sharma and Pokharel, 2023).

Outro efeito adverso observado é a mielossupressão, nomeadamente neutropenia, em consequência da inibição da sinalização do KIT e de outros recetores, levando a alteração na génese dos neutrófilos (Shyam Sunder, Sharma and Pokharel, 2023). A neutropenia induzida pelo fosfato de toceranib é geralmente ligeira e de resolução espontânea, não constituindo risco acrescido ao desenvolvimento de infeções bacterianas (Elliott *et al.*, 2017; Gustafson and Bailey, 2020). É, no entanto, aconselhável a monitorização do hemograma uma vez por semana até estabilizar e depois, uma vez por mês durante o restante tempo de tratamento (Galinsky and Buchanan, 2009).

Nefropatia com perda de proteína, proteinúria e hipertensão sistémica têm sido relatados, embora com pouca frequência, em cães em tratamento com fosfato de toceranib (Biller *et al.*, 2016). Segundo Bernabe *et al.*, (2013) estes efeitos adversos poderão ocorrer devido à inibição da sinalização do VEGF-R, que levará a perda de integridade dos capilares fenestrados e consequente perda de proteína. Estes efeitos são por norma leves a moderados e controlados com tratamento sintomático, mas ocasionalmente podem ocorrer de forma mais grave, podendo haver a necessidade de interromper o tratamento, pelo que os animais devem ser mantidos sob vigilância (Gustafson and Bailey, 2020).

Relativamente a efeitos hepatotóxicos, está descrito que o uso de fosfato de toceranib pode levar a aumento moderado e reversível das enzimas hepáticas, sendo aconselhável a monitorização destas a cada duas semanas nos primeiros dois meses de tratamento e uma vez por mês, no restante período (Qian *et al.*, 2020). Esta avaliação serve para ponderar a necessidade de interrupção da terapia ou implementação de mudanças na posologia de administração (Shyam Sunder, Sharma and Pokharel, 2023).

A terapia com fosfato de toceranib pode perturbar o normal funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-tiroide, pelo que a avaliação periódica das hormonas tiroxina total (T4T), tiroxina livre (T4L), triiodotironina total (T3T) e hormona estimulante da tiroide (TSH) é de extrema importância e deve ser realizada principalmente em animais sujeitos a longos períodos de tratamento (Hume *et al.*, 2018).

Embora de forma rara, existem relatos de animais de companhia que desenvolveram dor ou fraqueza muscular e miopatias subsequentes à utilização de fosfato de toceranib, mas estima-se que estejam associadas a comorbilidades subjacentes (London, 2017).

4.2.3.1. Controlo dos Efeitos Adversos

A prevenção e controlo dos efeitos adversos decorrentes da utilização de TKIs, nomeadamente o fosfato de toceranib, é importante para a estabilização e melhoria do estado geral dos pacientes oncológicos. Para isso, podem ser adotadas várias estratégias, como a redução da dose e/ou frequência de administração ou mesmo interrupção da terapêutica, aliada a terapia sintomática (Terada, Noda and Inui, 2015).

Embora os efeitos gastrointestinais sejam geralmente ligeiros e auto limitantes, deve associar-se terapia de suporte com protetores gástricos e antieméticos.

A hiporexia, náusea e vômito são efeitos secundários comuns e geralmente respondem bem com a administração de antieméticos como metoclopramida (0,5mg/kg), ondansetron (0,5-1 mg/kg), citrato de maropitant (1 mg/kg) (London, 2014). Em caso de anorexia marcada pode ser necessário recorrer a estimulação farmacológica do apetite com, por exemplo, mirtazapina (0,5 mg/kg) (London, 2014).

A hipertensão pode ser controlada com recurso a amlodipina, sendo recomendada a monitorização regular da pressão sanguínea durante todo o período de tratamento com toceranib (Bojan, Torok-Vistai and Parvu, 2021).

A nefropatia com perda de proteína e consequente proteinúria embora geralmente sejam leves a moderadas é recomendada a interrupção do protocolo antineoplásico e a administração de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECAs), como por exemplo, enalapril e benazepril (Tjostheim *et al.*, 2016).

4.2.4. Terapias combinadas

Vários protocolos terapêuticos, que combinam a administração de fosfato de toceranib com outros fármacos, têm sido desenvolvidos e testados, tendo alguns deles revelado ser bastante úteis no tratamento de diversas neoplasias (London, 2014).

Um dos protocolos que tem sido estudado é a combinação de fosfato de toceranib com AINEs, nomeadamente o piroxicam, um inibidor misto das cicloxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2) com atividade demonstrada no tratamento de alguns tipos de carcinomas (De Vos *et al.*, 2012). Um ensaio clínico realizado por Chon *et al.* (2012) em cães com tumores sólidos, demonstrou que a associação de fosfato

de toceranib na dose de 3,25 mg/kg a cada 48 horas e de piroxicam na dose de 0,3 mg/kg a cada 24 horas, ambos administrados por via oral, era segura, não tendo sido registado aumento da frequência de efeitos adversos e tendo sido observadas várias respostas antitumorais (Chon *et al.*, 2012). De forma a diminuir o risco de toxicidade gastrointestinal, recomenda-se a administração destes fármacos de forma intercalada (De Vos *et al.*, 2012).

Outra associação farmacológica que tem sido alvo de ensaios clínicos é a combinação de fosfato de toceranib com vimblastina, nomeadamente no tratamento de mastocitomas (London, 2014). Um estudo realizado por Todd *et al.*, (2021) no qual foi administrado toceranib e vimblastina em cães com mastocitomas de alto grau, com presença de metástases, demonstrou que esta associação farmacológica apresenta efeitos sinérgicos, pois obteve uma elevada taxa de respostas positivas ao tratamento. No entanto, foi necessária a redução da dose e da frequência de administração da vimblastina devido à ocorrência de mielossupressão, com neutropenia marcada. A DMT de vimblastina foi de 1,6 mg/m² a cada duas semanas em conjunto com toceranib na dose de 2,75 mg/kg, três vezes por semana (Todd *et al.*, 2021).

Carlsten *et al.* (2012) estudaram a eficácia e segurança da utilização de fosfato de toceranib como adjuvante em protocolos de radioterapia, em cães com mastocitomas não extirpáveis ou metastáticos. Os cães, receberam fosfato de toceranib, na dose de 2,75mg/kg, por via oral, três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira), alternadamente com a administração de prednisolona (1mg/kg, a cada 48h) durante uma semana, previamente ao início da radioterapia hipofracionada na dose de 6Gy uma vez por semana durante quatro semanas. Com este protocolo, observou-se uma taxa de resposta de 76%, um intervalo livre de progressão da doença (ILPD) médio de 10,5 meses e não foram registados agravamentos na toxicidade induzida pela radiação, o que sugere que este plano terapêutico pode ter benefícios clínicos (Carlsten *et al.*, 2012).

Outros estudos demonstraram que a combinação destas duas metodologias terapêuticas também é benéfica no tratamento de cães com carcinoma nasal, duplicando o tempo médio de sobrevida quando comparado com protocolos que apenas utilizam radioterapia fracionada (Ehling *et al.*, 2021).

5. FOSFATO DE TOCERANIB EM MASTOCITOMAS CANINOS

O mastocitoma é uma neoplasia que tem origem nos mastócitos, células imunitárias que participam nas reações alérgicas e que contêm no seu interior substâncias vasoativas como histamina, heparina, serotonina e dopamina (Kumar and Sharma, 2010). Surgem fundamentalmente na pele, representando cerca de 21% dos tumores cutâneos em cães, mas podem ocorrer noutras localizações como baço, fígado, intestinos e junções mucocutâneas (Halsey *et al.*, 2017; Pizzoni *et al.*, 2018).

O tratamento de eleição é a excisão cirúrgica da massa com margens amplas (Carlsten *et al.*, 2012). Em tumores recorrentes, metastáticos, altamente infiltrativos e não passíveis de remoção cirúrgica é fulcral a implementação de um protocolo terapêutico adequado (Weishaar *et al.*, 2018). As terapias mais comumente utilizadas nestes casos eram a radioterapia, isolada ou combinada com outros fármacos, e a quimioterapia convencional, mas, uma vez que a taxa de resposta era maioritariamente baixa e de curta duração, houve a necessidade de desenvolver novas terapias, como os TKIs (Carlsten *et al.*, 2012; Frezoulis and Harper, 2022).

Em 2009, o inibidor de moléculas pequenas, fosfato de toceranib, foi aprovado pela “Food and Drug Administration” (FDA) para uso em cães com mastocitomas de grau II ou III não extirpáveis (Maeda, 2023). Um dos estudos que contribuiu para a aprovação do fosfato de toceranib, foi um ensaio clínico levado a cabo por Cheryl London (2009) no qual este fármaco foi administrado na dose de 3,25mg/kg, por via oral, a cada 48 horas, em cães com mastocitomas de grau intermédio ou alto (II ou III) recorrentes. Este estudo demonstrou atividade biológica de 60%, com um tempo médio de resposta de 18 semanas. Nos animais que apresentavam mutação em c-KIT verificou-se uma taxa de resposta maior (London *et al.*, 2009).

Pressupõe-se que o efeito terapêutico do toceranib em mastocitomas se deva, principalmente, à inibição da sinalização do KIT, um recetor de tirosina quinase expresso na superfície celular de células estaminais hematopoiéticas, melanócitos e mastócitos (Maeda, 2023). A sinalização deste recetor é fulcral para a diferenciação, sobrevivência e função dos mastócitos (Biller, 2014). Os mastócitos participam na produção do VEGF e contribuem ativamente no processo de angiogénese. Outro mecanismo de ação do fosfato de toceranib em mastocitomas, prende-se na capacidade deste em inibir a sinalização do VEGF-R2, limitando a angiogénese e consequentemente o suprimento de nutrientes e oxigénio às células neoplásicas (London *et al.*, 2009; Frezoulis and Harper, 2022).

Estima-se que cerca de 30% dos tumores de mastócitos caninos de grau II e III, apresentam mutações no domínio justamembranar do recetor KIT (c-KIT), o que resulta numa ativação indiscriminada do recetor e consequente proliferação celular descontrolada, estando associadas a tumores de graus mais elevados, maior risco de recidiva local e metastização, pior prognóstico e menor eficácia dos tratamentos citotóxicos comuns, nomeadamente quimioterapia convencional e radioterapia (Halsey *et al.*, 2017; Weishaar *et al.*, 2018).

Diversos estudos demonstraram que animais de companhia que apresentam este tipo de mutações em c-KIT, mostram uma maior taxa de resposta ao tratamento com TKIs, nomeadamente fosfato de toceranib, quando comparados a animais de companhia que não possuem a mutação (Weishaar *et al.*, 2018; Maeda, 2023).

Os efeitos adversos mais comumente observados em cães com mastocitomas, sujeitos a tratamentos com fosfato de toceranib são principalmente a nível gastrointestinal, incluindo perda de peso, diarreia, vômitos e embora menos frequente hematoquezia (Weishaar *et al.*, 2018).

A toxicidade gastrointestinal, no tratamento de mastocitomas, pode ser justificada pela desgranulação dos mastócitos e consequente libertação de histamina, que é um dos principais estímulos para a secreção de ácido gástrico. A hiperhistaminémia conduz à diminuição do pH do estômago e irritação gástrica, deixando o paciente mais predisposto ao desenvolvimento de úlceras e toxicidade gastrointestinal (Kovac *et al.*, 2018). A libertação de heparina é também comum, resultando em hemorragia e equimoses na região peri tumoral (London, 2017).

Dependendo da gravidade dos efeitos adversos, deve ser avaliada a necessidade de redução da dose ou frequência de administração do fosfato de toceranib ou mesmo a interrupção da terapia (Bernabe *et al.*, 2013). A utilização de uma dose de 2,4-2,75 mg/Kg, ou seja, inferior à DMT, está igualmente associada a eficácia terapêutica e tem efeitos secundários mais reduzidos (London, 2014).

A administração conjunta de toceranib com outros fármacos que predisõem às úlceras gástricas, como corticosteroides e AINEs, deve ser feita com precaução e os cães devem ser mantidos sob vigilância durante o tratamento (Tilley *et al.*, 2021).

6. FOSFATO DE TOCERANIB EM GATOS

Apesar dos TKIs serem atualmente fármacos relevantes para o tratamento de doenças oncológicas em humanos e em cães, o seu papel em medicina felina ainda não está bem determinado, não existindo nenhum inibidor aprovado para uso em gatos. O fosfato de toceranib parece ser o inibidor com maior grau de eficácia e mais bem tolerado em gatos, especialmente no tratamento de mastocitomas, carcinomas mamários e carcinomas de células escamosas (Žagar and Schmidt, 2023).

Apesar deste fármaco não estar licenciado para uso em gatos, é por vezes utilizado em regime “off label”, na dose de 2,5-2,78 mg/kg, três vezes por semana, mostrando ser eficaz e bem tolerado pela maioria dos pacientes felinos (Žagar and Schmidt, 2023).

Num estudo de Harper e Blackwood (2016), sobre a toxicidade do fosfato de toceranib em gatos com neoplasias sólidas, sujeitos a tratamento por pelo menos duas semanas consecutivas, verificou-se que 70% dos animais apresentou sinais gastrointestinais ligeiros ou de mielossupressão leves e 14% desenvolveu hepatotoxicidade grave. Estes achados levaram a concluir que, de forma geral, o fosfato de toceranib é bem tolerado em gatos, no entanto, a hepatotoxicidade é uma preocupação e por esse motivo os animais devem ser mantidos sob vigilância clínica durante o tratamento.

Apesar do fosfato de toceranib não estar licenciado para uso em gatos com mastocitomas, diversos estudos já demonstraram a sua eficácia (Žagar and Schmidt, 2023). Berger *et al.* (2018) num estudo com 50 gatos com mastocitomas em diversas localizações (22 cutâneos, 10 esplênicos, 17 gastrointestinais, 1 outro) administraram fosfato de toceranib na dose de 2,5 mg/kg três vezes por semana, obtiveram uma taxa geral de resposta de 80% e um ILPD médio de 32 semanas. O tratamento foi bem tolerado pela maioria dos animais sendo que os efeitos adversos mais observados foram os gastrointestinais e neutropenia (Berger, Johannes, Post, *et al.*, 2018).

Tal como nos gatos, em que a administração de fosfato de toceranib é feita em regime “off label”, nos cães o seu uso também se encontra descrito em determinados tipos de neoplasias que não em mastocitoma, como a seguir se descrevem.

7. USO “OFF-LABEL” DO FOSFATO DE TOCERANIB EM CÃES

O fosfato de toceranib tem sido amplamente utilizado em regime “off-label”, como parte integrante de protocolos terapêuticos de diversos tipos de neoplasias, principalmente após falha das terapias convencionais e como tratamento paliativo, dado o seu amplo perfil de alvos terapêuticos (Frezoulis and Harper, 2022).

A primeira avaliação da eficácia e segurança do fosfato de toceranib, em medicina veterinária, consistiu num ensaio clínico realizado em 57 cães com diversos tipos de neoplasias, no qual se obteve uma taxa de resposta geral de 54%. O tipo de tumor que melhor respondeu à terapia foi o mastocitoma, seguido de carcinomas, sarcomas, melanomas e mielomas (London *et al.*, 2009). Este estudo contribuiu para que o fosfato de toceranib fosse aprovado para uso em mastocitomas, mas sugeriu que poderá ter atividade biológica também noutro tipo de tumores (London *et al.*, 2009).

Em 2012, London *et al.* desenvolveram um estudo retrospectivo que analisou 32 casos de adenocarcinoma das glândulas anais, 23 de osteossarcoma metastático, 15 de carcinoma da tiroide, 8 de carcinoma da cabeça e pescoço e 7 de adenocarcinoma nasal, perfazendo um total de 85 animais de companhia em estudo. Todos os animais foram sujeitos a tratamento com fosfato de toceranib na dose média de 2,8 mg/kg, por via oral, sendo que 59% dos cães receberam o fármaco três vezes por semana e os restantes a cada 48 horas, durante aproximadamente quatro meses (London *et al.*, 2012). Este estudo revelou uma eficácia de 74%, sendo que o tipo de neoplasia com melhor resposta ao tratamento foi o AGA no qual se observou eficácia em 28 dos 32 animais em estudo com este tipo de neoplasia. Seguindo-se o carcinoma da tiroide com 12 dos 15 cães em estudo a evidenciar eficácia, o osteossarcoma com 11 cães, o carcinoma da cabeça e pescoço com 7 cães e o adenocarcinoma nasal com 5 cães a demonstrar eficácia (London *et al.*, 2012).

Tendo em conta estes dados, o fosfato de toceranib revelou ter uma ampla atividade biológica contra tumores sólidos, particularmente carcinomas (London, 2020).

O presente trabalho foca-se na utilização do fosfato de toceranib em adenocarcinoma das glândulas anais, carcinoma da tiroide, carcinoma nasal, neoplasias do estroma gastrointestinal, osteossarcoma e hemangiossarcoma, no entanto, existem estudos que avaliam a eficácia e segurança do fosfato de toceranib em outros tipos de neoplasias em cães, nomeadamente em tumores da base cardíaca (Lew

et al., 2019), tumores de bexiga (Lynn Gustafson and Biller, 2019) e linfoma (Yamazaki *et al.*, 2017). A escolha dos tumores a abordar prendeu-se pela bibliografia disponível.

7.1. ADENOCARCINOMA DAS GLÂNDULAS ANAIS

O adenocarcinoma das glândulas anais é uma neoplasia com origem nas glândulas apócrinas dos sacos anais, localmente invasivo e com elevado potencial de metastização, principalmente para os gânglios linfáticos regionais (Heaton *et al.*, 2020). O tratamento de eleição é a remoção cirúrgica do tumor e dos gânglios linfáticos afetados (Repasy, Selmic and Kisseberth, 2022).

Embora o mecanismo de ação do fosfato de toceranib no tratamento do AGA não esteja completamente compreendido, existem evidências de que este tipo de neoplasias expressa diversos alvos terapêuticos do fosfato de toceranib, nomeadamente KIT, PDGF-R e VEGF-R, o que torna este fármaco numa opção terapêutica válida, essencialmente em casos em que a remoção cirúrgica não é possível (Frezoulis and Harper, 2022). O fosfato de toceranib ao inibir a sinalização destes recetores, que estão sobreexpressos ou têm mutações oncogénicas, impede a proliferação celular, dificulta a angiogénese e conseqüentemente a sobrevivência das células tumorais (Elliott, 2019; Frezoulis and Harper, 2022).

Dois estudos retrospectivos avaliaram a eficácia do fosfato de toceranib em cães com AGA, previamente submetidos a tratamentos como cirurgia, radioterapia ou quimioterapia convencional, mas sem sucesso terapêutico. Os pacientes foram sujeitos a tratamento com fosfato de toceranib na posologia de 2,81mg/Kg, três vezes por semana durante 25 semanas (London *et al.*, 2012) e 2,75mg/Kg, a cada 48 horas, durante 27 semanas (Heaton *et al.*, 2020). Nestes estudos, verificou-se que 62,5% (London *et al.*, 2012) e 69% (Heaton *et al.*, 2020) dos cães respondeu positivamente ao tratamento, tendo estabilizado o seu quadro clínico e obtido um ILPD de 210 e 313 dias, respetivamente. O tempo médio de sobrevivência dos pacientes foi de 434 dias (Heaton *et al.*, 2020). Cerca de metade dos cães manifestou efeitos adversos como diarreia, anorexia e neutropenia, tendo sido necessário diminuir a dose do fármaco ou alterar a frequência de administração em cerca de 44% dos pacientes. Os restantes foram controlados apenas com tratamento de suporte (Heaton *et al.*, 2020). Os cães que desenvolveram hipercalemia previamente ou durante o tratamento, tiveram pior prognóstico (London *et al.*, 2012).

Um outro estudo, avaliou a resposta de 15 cães com AGA em estadio IV (metastização à distância) ao tratamento com fosfato de toceranib, mas como terapia única. Os pacientes receberam o fármaco na

dose 2,4mg/kg, três vezes por semana. Observaram doença estável em 13 cães, com um ILPD médio de 354 dias. O tempo de sobrevida mediano foi de 356 dias. Não foram observados efeitos adversos graves. Estes dados indicam que o fosfato de toceranib como terapia única em doença avançada melhora a sintomatologia clínica e atrasa a progressão da doença, mas não tem capacidade de provocar a remissão do tumor. Assim, o fosfato de toceranib como terapia única, poderá não ser a melhor opção de tratamento para estes casos (Elliott, 2019).

Os dados apresentados sugerem que o fosfato de toceranib tem atividade biológica contra o AGA em cães, podendo ser utilizado no tratamento de tumores não extirpáveis ou doença metastática. Embora não exiba eficácia significativa quando utilizado como terapia única, quando utilizado como tratamento adjuvante com quimioterapia ou radioterapia permite uma melhoria significativa na resposta terapêutica (Frezoulis and Harper, 2022).

7.2. CARCINOMA DA TIROIDE

O carcinoma da tiroide é a neoplasia endócrina mais comum em cães (Enache *et al.*, 2023). Pode ter origem em células foliculares ou parafoliculares da glândula tiroide, sendo mais comum os tumores com origem nas células foliculares. É altamente infiltrativo e tem elevada capacidade de metastização (Soares *et al.*, 2020). O tratamento de eleição é a tireoidectomia seguida de radioterapia, mas dependendo do estado geral de saúde do animal e do estadiamento clínico, estes tipos de abordagens terapêuticas podem não ser possíveis (Enache *et al.*, 2023). Nos casos em que a radioterapia não é uma opção, por norma, substitui-se por quimioterapia citotóxica (Sheppard-Olivares *et al.*, 2020).

Um estudo realizado em cães com carcinoma da tiroide metastizado, sujeitos previamente a tireoidectomia e quimioterapia ou radioterapia, demonstrou que quando submetidos a administração de fosfato de toceranib na dose de 2,75mg/kg, três vezes por semana, durante 25 semanas, 26% dos pacientes teve remissão parcial do tumor e 53% teve a sua doença estabilizada (London *et al.*, 2012).

Um ensaio clínico comparou a eficácia do fosfato de toceranib num grupo de cães sujeitos a terapia prévia com quimioterapia na DMT ou radioterapia e um grupo tratado apenas com este fármaco. Verificaram uma taxa de eficácia superior no grupo que não tinha sofrido nenhum tratamento anterior (88,4%), mas o ILPD e o tempo de sobrevida foram menores (206 e 563 dias, respetivamente) quando comparados aos resultados obtidos no grupo com tratamento prévio (1015 e 1082 dias). Os efeitos

adversos observados foram maioritariamente a nível do trato gastrointestinal, mas também fraqueza muscular e proteinúria (Sheppard-Olivares *et al.*, 2020).

Tendo em conta que o carcinoma da tiroide tem baixa taxa de resposta a tratamentos com quimioterapia convencional, principalmente quando metastizado, o fosfato de toceranib pode ser uma opção viável quando a radioterapia não é possível e em casos em estadios avançados da doença (Frezoulis and Harper, 2022).

7.3. CARCINOMA NASAL

O carcinoma nasal é uma neoplasia que envolve a cavidade nasal e os seios paranasais. É localmente invasiva, mas por norma, tem baixa capacidade de metastização (Tilley *et al.*, 2021).

Considerando que a localização do carcinoma nasal, na maioria das vezes, não permite a remoção cirúrgica do tumor e que a quimioterapia citotóxica convencional é considerada ineficaz no controlo prolongado da neoplasia, o tratamento de eleição é a radioterapia (Tilley *et al.*, 2021).

Atualmente, sabe-se que este tipo de neoplasia expressa RTKs, nomeadamente KIT e PDGF-R, pelo que o fosfato de toceranib surgiu como uma potencial abordagem terapêutica do carcinoma nasal, tanto como terapia única quanto como terapia adjuvante a radioterapia (Tilley *et al.*, 2021; Frezoulis and Harper, 2022).

Em dois estudos, que avaliaram a eficácia do fosfato de toceranib, na dose média de 2,67mg/Kg (London *et al.*, 2012), em cães com carcinoma nasal metastizado, previamente sujeitos a radioterapia (42 Gy dividida por dez frações), verificou-se que o tempo de sobrevida foi significativamente superior em cães sujeitos a esta combinação de terapias (615 dias) quando comparado ao tempo de sobrevida atingido por cães tratados apenas com radioterapia (368 dias). Observou-se ainda uma eficácia desta combinação de tratamentos de 71% (London *et al.*, 2012) e 97% (Ehling *et al.*, 2022). Em ambos os estudos houve uma diminuição dos sinais clínicos, nomeadamente gastrointestinais, e o fosfato de toceranib não potenciou os efeitos colaterais da radioterapia (London *et al.*, 2012; Ehling *et al.*, 2022).

Num outro estudo em que o fosfato de toceranib foi utilizado como terapia única no tratamento de carcinomas nasais de grau III e IV, verificou-se um aumento da esperança média de vida de 139 dias (Merino-Gutierrez *et al.*, 2021).

O fosfato de toceranib parece exercer atividade primária contra o adenocarcinoma nasal, uma vez que quando associado a radioterapia melhora significativamente os resultados. Assim, poderá ser uma forma de aumentar o benefício clínico da terapia sem aumentar a toxicidade, sendo também uma alternativa viável à quimioterapia convencional, nos casos em que a radioterapia não é opção (Tilley *et al.*, 2021; Ehling *et al.*, 2022).

7.4. NEOPLASIA DO ESTROMA GASTROINTESTINAL

A neoplasia do estroma gastrointestinal tem origem nas células intersticiais de Cajal, na musculatura lisa do estômago e intestino (Frezoulis and Harper, 2022). É um tumor localmente invasivo e com altas taxas de metastização, geralmente para os gânglios linfáticos e fígado. O tratamento de eleição, sempre que possível, passa pela excisão cirúrgica do tumor (Tilley *et al.*, 2021).

Atualmente, não existem tratamentos comprovados para cães com neoplasias do estroma gastrointestinal não removíveis cirurgicamente ou metastizados (Elliott *et al.*, 2017). O fosfato de toceranib tem sido utilizado nestes animais de companhia de forma paliativa uma vez que se sabe que este tipo de neoplasias expressa o KIT (Frezoulis and Harper, 2022).

Um estudo realizado em cães com neoplasias do estroma gastrointestinal sujeitos a tratamento com fosfato de toceranib, na dose média de 2,6mg/Kg, comparou a eficácia deste fármaco em animais com tumor primário não metastizado e em cães com metástases não passíveis de remoção cirúrgica. A eficácia do fosfato de toceranib nos cães sem metástases foi de 71% e o ILPD de 110 semanas, significativamente superior quando comparado ao obtido nos cães com metástases (67 semanas). Em 64% dos cães foram observados efeitos adversos, sendo a maioria do trato gastrointestinal leves a moderados e controlados apenas com ajuste de dose e com tratamento de suporte (Berger *et al.*, 2018).

7.5. OSTEOSARCOMA

O osteossarcoma apendicular é uma neoplasia agressiva, localmente invasiva, com elevado potencial metastático, de mau prognóstico e representa cerca de 85% dos tumores ósseos em cães (Poon, Matsuyama and Mutsaers, 2020).

A remoção cirúrgica do tumor, que muitas vezes implica amputação do membro afetado, tem maioritariamente carácter paliativo. A quimioterapia na DMT tem capacidade de prolongar o tempo de sobrevivência, quando utilizada como terapia adjuvante pós cirúrgica, no entanto tem efeito limitado nos casos de doença em estadio avançado (Frezoulis and Harper, 2022).

Cães com osteossarcoma apendicular e metastização pulmonar foram submetidos a tratamento com fosfato de toceranib (dose média de 2,7mg/kg) após cirurgia e quimioterapia convencional, verificando-se que 4,3% obteve remissão parcial do tumor e 43% dos cães tiveram a sua doença estabilizada (London *et al.*, 2012).

Noutros estudos os resultados não foram tão animadores, tendo-se verificado que apenas 5% (Kim *et al.*, 2017) e 17% (Laver *et al.*, 2018) dos pacientes viu a sua doença estabilizada e com um ILPD de 36 (Kim *et al.*, 2017) e 57 dias (Laver *et al.*, 2018). O tempo mediano de sobrevida foi de 89 dias (Laver *et al.*, 2018). Os efeitos adversos mais frequentes foram a nível do trato gastrointestinal (Kim *et al.*, 2017). O tamanho das metástases pulmonares mostrou ser um fator de prognóstico importante, uma vez que se verificou que quanto maiores eram os nódulos, menor era o ILPD e o tempo de sobrevida dos cães (Kim *et al.*, 2017; Laver *et al.*, 2018).

Apesar de ensaios clínicos iniciais terem demonstrado resultados positivos, estudos mais recentes sugerem que o fosfato de toceranib não tem uma eficácia significativa como terapia única ou adjuvante em casos de doença metastática pulmonar por osteossarcoma. A ineficácia do fosfato de toceranib neste tipo de neoplasia, pode em parte ser justificada pelo facto do osteossarcoma expressar RTK tais como MET, IGF-R1 e HE-R2, que não são alvos terapêuticos dos inibidores disponíveis em medicina veterinária (Tilley *et al.*, 2021; Frezoulis and Harper, 2022).

7.6. HEMANGIOSSARCOMA

O hemangiossarcoma é uma neoplasia localmente invasiva, com elevada capacidade de metastização e com mau prognóstico (Mullin and Clifford, 2019). Este tipo de tumor surge mais frequentemente na pele, tecido subcutâneo e no baço. A agressividade da neoplasia depende em parte da sua localização, sendo que o hemangiossarcoma cutâneo tem um comportamento menos agressivo quando comparado ao hemangiossarcoma visceral, por exemplo esplénico (Griffin, Culp and Rebhun, 2021).

A remoção cirúrgica do tumor, quando realizada como única terapia, está associada a períodos de sobrevida curtos, principalmente no hemangiossarcoma visceral. O uso de quimioterapia convencional,

posteriormente à cirurgia, está associado a aumento do período de sobrevida, mas de forma geral, esta neoplasia é pouco responsiva aos quimioterápicos, o que torna imprescindível a investigação de terapias mais direcionadas (Gardner *et al.*, 2015; Batschinski *et al.*, 2018).

Sabe-se que o hemangiossarcoma tem uma natureza angiogénica e expressa RTK como o KIT, PDGF-R, VEGF-R que constituem alvos terapêuticos dos ITK utilizados em medicina veterinária, o que torna estes fármacos uma potencial estratégia terapêutica útil (Frezoulis and Harper, 2022).

A eficácia do fosfato de toceranib em cães com hemangiossarcoma esplênico de grau I ou II, não metastizado, previamente submetidos a esplenectomia e a quimioterapia com doxorubicina, foi avaliada na dose de 3,25 mg/Kg, a cada 48 horas. Observou-se um ILPD de 161 dias e um tempo de sobrevida de 172 dias. O tempo de sobrevida dos cães que não foram submetidos a tratamento com fosfato de toceranib (169 dias) indica que o uso deste fármaco como adjuvante à quimioterapia convencional em cães com este tipo de neoplasias, não exhibe benefício clínico significativo (Gardner *et al.*, 2015).

Na tabela 1 encontram-se resumidos os principais resultados dos estudos sobre o uso “*off label*” do fosfato de toceranib.

Tabela 1- Resumo dos principais resultados de estudos sobre o uso “off label” do fosfato de toceranib em diversos tipos de neoplasias

	Referência bibliográfica	Tipo estudo	Particularidades do Estudo						Principais Conclusões				Efeitos Adversos	Outras conclusões
			Nº cães	Terapias prévias	Metástases	Posologia			Taxa de eficácia (%)	Doença Estável (%)	ILPD (Dias)	Tempo de sobrevida (Dias)		
						Dose (mg/Kg)	Frequência	Duração (semana)						
Adenocarcinoma das glândulas anais	London <i>et al.</i> , 2012	Retrospectivo	32	Sim	Sim	2,81	Três vezes/semana	25	87.5%	62,5%	210	-	-	Hipercalemia foi indicador de pior prognóstico
	Elliott, 2019	Retrospectivo	15	Não	Sim	2,4	Três vezes/semana	-	-	87%	354	356 dias	Gastrointestinais	-
	Heaton <i>et al.</i> , 2020	Retrospectivo	36	Sim	-	2,75	A cada 48 horas	27	69%	-	313	434 dias	Anorexia, diarreia, neutropenia	-
Carcinoma da tireoide	London <i>et al.</i> , 2012	Retrospectivo	15	Sim	Sim	2,75	Três vezes/semana	25	80%	53%	-	-	-	26% teve remissão parcial do tumor; 53% doença estável
	Sheppard-Olivares <i>et al.</i> , 2020	Ensaio Clínico	42	26 Não; 16 Sim	-	2,8	A cada 48 horas	-	Sem tratamento prévio: 88,4%	-	Sem Tratamento prévio: 206; Com Tratamento prévio: 1015	Sem Tratamento prévio: 563 dias; Com Tratamento prévio: 1082 dias	Gastrointestinais; Fraqueza muscular; Proteinúria	-

Adenocarcinoma nasal	London <i>et al.</i> , 2012	Retrospectivo	7	Sim	Sim	2,67	Três vezes/semana	18	71%	-	-	-	-	-
	Merino-Gutierrez <i>et al.</i> , 2021	Retrospectivo	23	Não	Sim	-	-	-	-	-	-	139 dias	-	-
	Ehling <i>et al.</i> , 2022	Prospetivo	-	Grupo 1: Só radioterapia; Grupo 2: Só fosfato de Toceranib; Grupo 3: Radioterapia + fosfato de Toceranib	-	-	-	-	Grupo 1: 79,2%; Grupo 3: 97,3%	-	-	Grupo 1: 368 dias; Grupo 2: 298 dias Grupo 3: 615 dias	Gastrointestinais	Não potenciou os efeitos adversos da radioterapia
Neoplasias do estroma gastrointestinal	Berger <i>et al.</i> , 2018	Retrospectivo	27	Sim	Grupo 1: Sim Grupo 2: Não	2,6	Três vezes/semana	39	Grupo 1: 71%	-	Grupo 1: 770; Grupo 2: 469	-	64% manifestou efeitos gastrointestinais	-
Osteossarcoma	London <i>et al.</i> , 2012	Retrospectivo	23	Sim	-	2,5	Três vezes/semana	8 semanas	48%	43%	-	-	-	-
	Kim <i>et al.</i> , 2017	Retrospectivo	20	Sim	Sim (pulmonar)	-	-	-	10%	5%	36	90 dias	gastrointestinais	Tamanho das metástases pulmonares é fator de pior prognóstico (> nódulos, <ILPD)
	Laver <i>et al.</i> , 2018	-	22	Sim	Sim (pulmonar)	-	-	-	-	17%	57	89 dias	gastrointestinais	não demonstrou aumentar o ILPD
Hemangiossarcoma	Gardner <i>et al.</i> , 2015	Prospetivo	43	Sim	Não	3,2	A cada 48 horas	-	-	-	161	172 dias; Cães sem toceranib: 169 dias	-	não exibe eficácia significativa no tempo de sobrevida

8. CONCLUSÃO

O fosfato de toceranib tem revelado uma importância crescente em oncologia veterinária de animais de companhia estabeleceu-se em que para além da sua eficácia comprovada em mastocitomas caninos de grau II e III, existem também evidências da sua eficácia em adenocarcinoma das glândulas anais, carcinoma da tiroide, adenocarcinoma nasal, neoplasias do estroma gastrointestinal, osteossarcoma e hemangiossarcoma.

A posologia de administração deste fármaco e a duração do tratamento variam de acordo com o tipo de neoplasia e com a resposta individual do paciente, sendo de extrema importância monitorizar de perto os animais de companhia durante todo o tratamento, a fim de detetar e tratar atempadamente qualquer efeito adverso que surja.

Apesar de todos os benefícios clínicos que o fosfato de toceranib tem vindo a apresentar, a variabilidade na resposta ao tratamento exige uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos de ação e da farmacocinética do medicamento. Assim, considera-se fundamental o desenvolvimento futuro de mais estudos no sentido de melhor compreender o seu mecanismo de ação em diversos tipos de neoplasia, bem como os efeitos adversos a longo prazo e metodologias de utilização mais adequadas.

Os inibidores de tirosina quinase como o fosfato de toceranib, representam um avanço significativo no tratamento de tumores em cães, oferecendo uma alternativa terapêutica eficaz principalmente em casos onde as opções tradicionais sejam limitadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allen, C., Her, S. and Jaffray, D.A. (2017) 'Radiotherapy for Cancer: Present and Future', *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier B.V., pp. 1–2. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.01.004>.

Batschinski, K. *et al.* (2018) Article Canine visceral hemangiosarcoma treated with surgery alone or surgery and doxorubicin: 37 cases (2005-2014), *CVJ*.

Berger, E.P., Johannes, C.M., Jergens, A.E., *et al.* (2018) 'Retrospective evaluation of toceranib phosphate (Palladia®) use in the treatment of gastrointestinal stromal tumors of dogs', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(6), pp. 2045–2053. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.15335>.

Berger, E.P., Johannes, C.M., Post, G.S., *et al.* (2018) 'Retrospective evaluation of toceranib phosphate (Palladia) use in cats with mast cell neoplasia', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20(2), pp. 95–102. Available at: <https://doi.org/10.1177/1098612X17695898>.

Bergman, P.J. (2019) 'Cancer Immunotherapies', *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*. W.B. Saunders, pp. 881–902. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.04.010>.

Bernabe, L.F. *et al.* (2013) 'Evaluation of the adverse event profile and pharmacodynamics of toceranib phosphate administered to dogs with solid tumors at doses below the maximum tolerated dose', *BMC Veterinary Research*, 9. Available at: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-190>.

Biller, B. (2014) 'Metronomic chemotherapy in veterinary patients with cancer: Rethinking the targets and strategies of chemotherapy', *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 44(5), pp. 817–829. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.05.003>.

Biller, B. *et al.* (2016) '2016 AAHA oncology guidelines for dogs and cats', *Journal of the American Animal Hospital Association*, 52(4), pp. 181–204. Available at: <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6570>.

Bojan, A., Torok-Vistai, T. and Parvu, A. (2021) 'Assessment and Management of Cardiotoxicity in Hematologic Malignancies', *Disease Markers*. Hindawi Limited. Available at: <https://doi.org/10.1155/2021/6616265>.

Buonaguro, L. *et al.* (2011) 'Translating tumor antigens into cancer vaccines', *Clinical and Vaccine Immunology*, pp. 23–34. Available at: <https://doi.org/10.1128/CVI.00286-10>.

Carlsten, K.S. *et al.* (2012) 'Multicenter prospective trial of hypofractionated radiation treatment, toceranib, and prednisone for measurable canine mast cell tumors', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(1), pp. 135–141. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00851.x>.

Chon, E. *et al.* (2012) 'Safety evaluation of combination toceranib phosphate (Palladia®) and piroxicam in tumour-bearing dogs (excluding mast cell tumours): A phase I dose-finding study', *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3), pp. 184–193. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00265.x>.

Couto, G. (2020) 'Oncology', in R. Nelson and G. Couto (eds) *Small Animal Internal Medicine*. 6th edn. Elsevier, pp. 1257–1322

Dias-Pereira, P. (2022) 'Morbidity and mortality in elderly dogs – a model for human aging', *BMC Veterinary Research*, 18(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03518-8>.

Du, Z. and Lovly, C.M. (2018) 'Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer', *Molecular Cancer*, 17(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0782-4>.

Ebrahimi, N. *et al.* (2023) 'Receptor tyrosine kinase inhibitors in cancer', *Cellular and Molecular Life Sciences*, 80(104).

Ehling, T. *et al.* (2021) 'A prospective, multi-centre, Veterinary Radiation Therapy Oncology Group study reveals potential efficacy of toceranib phosphate (Palladia) as a primary or adjuvant agent in the treatment of canine nasal carcinoma', *Veterinary and Comparative Oncology*, 20(1), pp. 293–303.

Ehling, T. *et al.* (2022) 'A prospective, multi-centre, Veterinary Radiation Therapy Oncology Group study reveals potential efficacy of toceranib phosphate (Palladia) as a primary or adjuvant agent in the treatment of canine nasal carcinoma', *veterinary and comparative oncology*, 20(1), pp. 293–303.

Elliott, J.W. *et al.* (2017) 'Successful treatment of a metastatic, gastrointestinal stromal tumour in a dog with toceranib phosphate (Palladia)', *Journal of Small Animal Practice*, 58(7), pp. 416–418. Available at: <https://doi.org/10.1111/jsap.12657>.

Elliott, J.W. (2019) *Small Animals & Exotic Response and outcome following toceranib phosphate treatment for stage four anal sac apocrine gland adenocarcinoma in dogs: 15 cases (2013-2017)*.

Enache, D. *et al.* (2023) 'Thyroidectomy in dogs with thyroid tumors: Survival analysis in 144 cases (1994-2018)', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 37(2), pp. 635–647. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.16644>.

Ettinger, S., Feldman, E. and Côté, E. (2017) *Veterinary Internal Medicine*. 8th edn.

Farese, J., Liptak, J. and Withrow, S. (2020) 'Surgical Oncology', in D. Vail, D. Thamm, and J. Liptak (eds) *Small animal clinical oncology*. 6th edn, pp. 164–173.

Fleming, J.M., Creevy, K.E. and Promislow, D.E.L. (2011) 'Mortality in North American Dogs from 1984 to 2004: An Investigation into Age-, Size-, and Breed-Related Causes of Death', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(2), pp. 187–198. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0695.x>.

Frezoulis, P. and Harper, A. (2022) 'The role of toceranib phosphate in dogs with non-mast cell neoplasia: A systematic review', *Veterinary and Comparative Oncology*. John Wiley and Sons Inc, pp. 362–371. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12799>.

Frimbergger, A. and Moore, A. (2017) 'Principles and Practice of Chemotherapy', in S. Ettinger, E. Feldman, and E. Côté (eds) *Veterinary Internal Medicine*. 8th edn. Elsevier, pp. 2039–2045.

Galinsky, I. and Buchanan, S. (2009) 'Practical Management of Dasatinib for Maximum Patient Benefit', *Clinical Journal of Oncology Nursing*, pp. 329–335. Available at: <https://doi.org/10.1188/09.CJON.329-335>.



Gardner, H.L. *et al.* (2015) 'Maintenance therapy with toceranib following doxorubicin-based chemotherapy for canine splenic hemangiosarcoma', *BMC Veterinary Research*, 11(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0446-1>.

Gaspar, T.B. *et al.* (2018) 'The use of low-dose metronomic chemotherapy in dogs—insight into a modern cancer field', *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(1), pp. 2–11. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12309>.

Gentilini, F. *et al.* (2020) 'The secondary KIT mutation p.Ala510Val in a cutaneous mast cell tumour carrying the activating mutation p.Asn508Ile confers resistance to masitinib in dogs', *BMC Veterinary Research*, 16(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02284-9>.

Griffin, M., Culp, W. and Rebhun, R. (2021) 'Canine and feline haemangiosarcoma', *Veterinary Record*, 189(9), p. 585.

Gustafson, D. and Bailey, D. (2020) 'Cancer Chemotherapy', in D. Vail, D. Thamm, and J. Liptak (eds) *Small Animal Clinical Oncology*. 6th edn, pp. 182–208.

Halsey, C.H.C. *et al.* (2017) 'Expression of Phosphorylated KIT in Canine Mast Cell Tumor', *Veterinary Pathology*, 54(3), pp. 387–394. Available at: <https://doi.org/10.1177/0300985816688943>.

Harper, A. and Blackwood, L. (2016) 'Toxicity and response in cats with neoplasia treated with toceranib phosphate', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(6), pp. 619–623. Available at: <https://doi.org/10.1177/1098612X16643124>.

Heaton, C.M. *et al.* (2020) 'Evaluation of toceranib for treatment of apocrine gland anal sac adenocarcinoma in dogs', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(2), pp. 873–881. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.15706>.

Hernández, I.B. *et al.* (2021) 'Molecular targets for anticancer therapies in companion animals and humans: what can we learn from each other?', *Theranostics*. Ivyspring International Publisher, pp. 3882–3897. Available at: <https://doi.org/10.7150/THNO.55760>.

Hume, K.R. *et al.* (2018) 'Effects of Toceranib Phosphate on the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis in Tumor-Bearing Dogs', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), pp. 377–383. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.14882>.

Khanna, C. and Foskett, A. (2017) 'The Hallmarks/Origin of Cancer', in S. Ettinger, E. Feldman, and E. Côte (eds) *Veterinary Internal Medicine*. 8th edn. Elsevier, pp. 2037–2126.

Kim, C. *et al.* (2017) Retrospective evaluation of toceranib (Palladia) treatment for canine metastatic appendicular osteosarcoma, CVJ.

Klingemann, H. (2021) 'Immunotherapy for Dogs: Still Running Behind Humans', *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.665784>.

Kovac, R.L. *et al.* (2018) 'Plasma cytokeratin-18 concentrations as noninvasive biomarker of early gastrointestinal toxicosis in dogs receiving toceranib', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(6), pp. 2061–2068. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.15326>.

Kumar, V. and Sharma, A. (2010) 'Mast cells: Emerging sentinel innate immune cells with diverse role in immunity', *Molecular Immunology*, pp. 14–25. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2010.07.009>.

Laver, T. *et al.* (2018) 'Prospective evaluation of toceranib phosphate in metastatic canine osteosarcoma', *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(1), pp. E23–E29. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12328>.

Lemmon, M.A. and Schlessinger, J. (2010) 'Cell signaling by receptor tyrosine kinases', *Cell*. Elsevier B.V., pp. 1117–1134. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.011>.

Lew, F.H. *et al.* (2019) 'Retrospective evaluation of canine heart base tumours treated with toceranib phosphate (Palladia): 2011–2018', *Veterinary and Comparative Oncology*, 17(4), pp. 465–471. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12491>.

London, C. *et al.* (2012) 'Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia®) in solid tumours', *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3), pp. 194–205. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00275.x>.

London, C. (2017) 'Molecular Target Therapy', in S. Ettinger, E. Feldman, and E. Côte (eds) *Veterinary Internal Medicine*. 8th edn, pp. 2056–2057.

London, C. (2020) 'Molecular/Targeted Therapy of Cancer', in *Small Animal Clinical Oncology*. 6th edn. elsevier, pp. 257–262.

London, C. and Thamm, D. (2020) 'Mast Cell Tumors', in D. Vail, D. Thamm, and J. Liptak (eds) *Small Animal Clinical Oncology*. 6th edn, pp. 382–403.

London, C.A. *et al.* (2009a) 'Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision', *Clinical Cancer Research*, 15(11), pp. 3856–3865. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1860>.

London, C.A. *et al.* (2009b) 'Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision', *Clinical Cancer Research*, 15(11), pp. 3856–3865. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1860>.

London, C.A. (2014) 'Small molecule inhibitors in veterinary oncology practice', *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 44(5), pp. 893–908. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.06.001>.

Lynn Gustafson, T. and Biller, B. (2019) 'Use of Toceranib Phosphate in the Treatment of Canine Bladder Tumors: 37 Cases', *Journal of the American Animal Hospital Association*, 55(5), pp. 243–248. Available at: <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6905>.

Maeda, S. (2023) 'Second era of molecular-targeted cancer therapies in dogs', *Journal of Veterinary Medical Science*, 85(8), pp. 790–798. Available at: <https://doi.org/10.1292/jvms.23-0204>.

Merino-Gutierrez, V. *et al.* (2021) 'Treatment of advanced-stage canine nasal carcinomas with toceranib phosphate: 23 cases (2015-2020)', *Journal of small animal practice*, 62(10), pp. 881–885.

Mullin, C. and Clifford, C.A. (2019) 'Histiocytic Sarcoma and Hemangiosarcoma Update', *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*. W.B. Saunders, pp. 855–879. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.04.009>.

Petros, F. and Aaron, H. (2022) 'The role of toceranib phosphate in dogs with non-mast cell neoplasia: A systematic review'.

Pizzoni, S. *et al.* (2018) 'Features and prognostic impact of distant metastases in 45 dogs with de novo stage IV cutaneous mast cell tumours: A prospective study', *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(1), pp. 28–36. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12306>.

Poon, A.C., Matsuyama, A. and Mutsaers, A.J. (2020) 'Recent and current clinical trials in canine appendicular osteosarcoma', *The Canadian Veterinary Journal*, 61(3), pp. 301–308. Available at: <https://ebusiness.avma.org/aahsd>.

Posner, J. *et al.* (2019) 'Monoclonal antibodies: Past, present and future', in *Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer, pp. 81–141. Available at: https://doi.org/10.1007/164_2019_323.

Qian, J. *et al.* (2020) 'Tyrosine kinase inhibitor-related hepatotoxicity in patients with advanced lung adenocarcinoma: A real-world retrospective study', *Cancer Management and Research*, 12, pp. 3293–3299. Available at: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S237968>.

Repasy, A., Selmic, L. and Kisseberth, W. (2022) 'Canine Apocrine Gland Anal Sac Adenocarcinoma: A Review', *Topics in Companion Animal Medicine*, 50.

Saraon, P. *et al.* (2021) 'Receptor tyrosine kinases and cancer: oncogenic mechanisms and therapeutic approaches', *Oncogene*. Springer Nature, pp. 4079–4093. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41388-021-01841-2>.

Schito, L. *et al.* (2020) 'Metronomic chemotherapy offsets HIF α induction upon maximum-tolerated dose in metastatic cancers', *EMBO Molecular Medicine*, 12(9). Available at: <https://doi.org/10.15252/emmm.201911416>.

Sheppard-Olivares, S. *et al.* (2020) 'Toceranib phosphate in the treatment of canine thyroid carcinoma: 42 cases (2009-2018)', *Veterinary and Comparative Oncology*, 18(4), pp. 519–527. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12571>.

Shyam Sunder, S., Sharma, U.C. and Pokharel, S. (2023) 'Adverse effects of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy: pathophysiology, mechanisms and clinical management', *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01469-6>.

Soares, L. *et al.* (2020) 'Histopathological and Immunohistochemical Characteristics of Thyroid Carcinoma in the Dog', *Journal of comparative pathology*, 177, pp. 34–41.

Terada, T., Noda, S. and Inui, K.I. (2015) 'Management of dose variability and side effects for individualized cancer pharmacotherapy with tyrosine kinase inhibitors', *Pharmacology and*

Therapeutics. Elsevier Inc., pp. 125–134. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.05.009>.

Tilley, L. *et al.* (eds) (2021) Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Canine and Feline. Seventh Edition.

Tjostheim, S.S. *et al.* (2016) 'Effects of Toceranib Phosphate on Systolic Blood Pressure and Proteinuria in Dogs', *Journal of veterinary internal medicine*, 30(4), pp. 951–957. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.13951>.

Todd, J.E. *et al.* (2021) 'Article Combination vinblastine and palladia for high-grade and metastatic mast cell tumors in dogs', *Can Vet J*, 62, pp. 1335–1340.

Trenker, R. and Jura, N. (2020) 'Receptor tyrosine kinase activation: From the ligand perspective', *Current Opinion in Cell Biology*. Elsevier Ltd, pp. 174–185. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.01.016>.

De Vos, J. *et al.* (2012) 'Primary frontal sinus squamous cell carcinoma in three dogs treated with piroxicam combined with carboplatin or toceranib', *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3), pp. 206–213. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00292.x>.

Weishaar, K.M. *et al.* (2018) 'c-Kit Mutation and Localization Status as Response Predictors in Mast Cell Tumors in Dogs Treated with Prednisone and Toceranib or Vinblastine', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), pp. 394–405. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.14889>.

Yamaoka, T. *et al.* (2018) 'Receptor tyrosine kinase-targeted cancer therapy', *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11). Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms19113491>.

Yamazaki, H. *et al.* (2017) 'Effects of toceranib phosphate (Palladia) monotherapy on multidrug resistant lymphoma in dogs', *Journal of Veterinary Medical Science. Japanese Society of Veterinary Science*, pp. 1225–1229. Available at: <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0457>.

Yancey, M.F., Merritt, D.A., White, J.A., *et al.* (2010) 'Distribution, metabolism, and excretion of toceranib phosphate (PalladiaTM, SU11654), a novel tyrosine kinase inhibitor, in dogs', *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 33(2), pp. 154–161. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2009.01120.x>.

Yancey, M.F., Merritt, D.A., Lesman, S.P., *et al.* (2010) 'Pharmacokinetic properties of toceranib phosphate (PalladiaTM, SU11654), a novel tyrosine kinase inhibitor, in laboratory dogs and dogs with mast cell tumors', *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 33(2), pp. 162–171. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2009.01133.x>.

Žagar, Ž. and Schmidt, J.M. (2023) 'A Scoping Review on Tyrosine Kinase Inhibitors in Cats: Current Evidence and Future Directions', *Animals*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). Available at: <https://doi.org/10.3390/ani13193059>.