

AValiação Hematológica em Cães submetidos ao Tratamento Quimioterápico com Sulfato de Vincristina, Prednisona e Ciclofosfamida. Estudo Experimental

HAEMATOLOGICAL ASSESSMENT IN DOGS UNDERGOING ANTINEOPLASTIC TREATMENT WITH VINCRISTINE SULPHATE, PREDNISONE AND CYCLOPHOSPHAMIDE - EXPERIMENTAL STUDY

**A. M. FARO¹, C. R. DALECK², Á. E. SANTANA³, A. B. NARDI⁴,
F. R. MOTTA⁵, D. EURIDES⁶**

RESUMO

No presente estudo foram utilizados dois protocolos quimioterápicos à base de ciclofosfamida, sulfato de vincristina e prednisona (COP), amplamente utilizados na medicina veterinária para o tratamento de neoplasias, principalmente as linfoproliferativas, cuja ação citostática pode induzir alterações eritrocitárias, leucocitárias e plaquetárias. O referido estudo teve como objetivo a avaliação dos efeitos hematotóxicos provocados pela administração dos protocolos COP1 e COP2. Para tanto, 8 cães clinicamente hígidos, divididos em dois grupos de tratamento (COP1 e COP2), receberam oito semanas de quimioterapia antineoplásica. O estudo foi composto por uma fase pré e uma pós quimioterapia, denominadas Fase 1 e Fase 2. Semanalmente os animais foram submetidos às avaliações hematológicas. Os resultados obtidos, sob as condições experimentais testadas, revelam que ocorreram alterações hematológicas, especialmente nos animais tratados com o protocolo COP1, no qual se evidenciou, principalmente, a presença de leucopenia quando comparado ao protocolo COP2.

PALAVRAS-CHAVE: Quimioterapia. Ciclofosfamida. Vincristina. Prednisona. Neoplasia. Hematologia. Cão.

SUMMARY

This investigation assessed two antineoplastic protocols with cyclophosphamide, vincristine and prednisone (COP), both highly used in Veterinary Medicine for the treatment of neoplasias, particularly those lymphoproliferatives, whose cytostatic action can induce alterations in erythrocytes, leukocytes and platelets. This study had as a main goal the evaluation of the hematotoxic effects induced by the administration of COP1 and COP2 protocols. Therefore, eight healthy dogs were divided in two groups (COP1 and COP2), and underwent chemotherapy for eight weeks. The study was composed by pre- and post-chemotherapy phases, which were named "Fase 1" and "Fase 2". Haematological evaluations were carried out at weekly intervals. Under the experimental conditions hematological changes were documented especially in animals treated with COP1 protocol, with leukopenia being the main hallmark as compared to COP2 protocol.

KEY-WORDS: Chemotherapy. Cyclophosphamide. Vincristine. Prednisone. Neoplasm. Hematology. Dog.

¹Doutorando em Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

²Professor do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, São Paulo – Brasil. Endereço para correspondência: Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/n, Rural, 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. E-mail: daleck@fcav.unesp.br

³Professor do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

⁴Professor do Curso de Mestrado em Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca, São Paulo, Brasil.

⁵Mestrando em Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

⁶Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

INTRODUÇÃO

Os quimioterápicos antineoplásicos interferem na síntese de ácido desoxirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) ou na replicação celular, levando à interrupção da divisão ou à morte celular. Infelizmente, estes efeitos não se restringem às células neoplásicas, e a maior parte dos agentes antineoplásicos também atuam sobre células normais, principalmente àquelas onde a frequência mitótica é intensa, como as da medula óssea, epitélios, gônadas, tecido linfóide e folículos pilosos, resultando na presença dos efeitos colaterais (O'KEEFE & HARRIS, 1990, DAGLI, 1999).

A vincristina é um quimioterápico derivado da planta pervinca (*Vinca rosea Linn*) (CALABRESI & CHABNER, 1990). Este fármaco tem grande afinidade pela proteína tubulina, componente principal dos microtúbulos, formadores das fibras do fuso mitótico (JORDAN et al., 1991). Ao se ligar à tubulina, este medicamento bloqueia sua polimerização e leva, conseqüentemente, à destruição dos microtúbulos. Além disto a vincristina pode também interagir com microtúbulos pré-formados e proteínas dos fusos, impedindo a formação do fuso mitótico. Assim, a divisão celular é interrompida na metáfase (fase M) (ALLEMAN & HARVEY, 1993).

A respeito do seu uso terapêutico, a vincristina é amplamente empregada na medicina veterinária, particularmente nas neoplasias hemolinfáticas tais como linfossarcoma, leucemia linfoblástica aguda e sarcoma de células reticulares, bem como no tratamento do Tumor Venéreo Transmissível (TVT) de cães (ROSENTHAL, 1981). Entretanto, apesar da eficácia, a utilização crescente da vincristina no tratamento dos referidos estados patológicos tem revelado efeitos citostáticos indesejáveis não seletivos, especialmente em células sanguíneas circulantes e seus precursores nos órgãos hematopoéticos centrais (ALLEMAN & HARVEY, 1993).

A ciclofosfamida, fármaco ciclo celular não específico, é um agente alquilante derivado da mostarda nitrogenada que atua incorporando um grupamento alquila ao DNA, impedindo sua síntese e divisão (CHUN et al., 2001). Os efeitos tóxicos incluem leucopenia, êmese, diarreia e anorexia, que podem ser encontradas freqüentemente devido à ação citostática inespecífica da ciclofosfamida, com efeitos também sobre outras células em constante divisão, como as células das mucosas esofágica, gástrica e intestinal (CHUN et al., 2001, RODASKI & DE NARDI, 2007). Cistite hemorrágica pode ocorrer devido à irritação da mucosa vesical provocada pela acroleína, um metabólito da ciclofosfamida (RODASKI & DE NARDI, 2007).

A prednisona é um dos hormônios esteroidais mais utilizados em protocolos antineoplásicos. Apesar desta freqüência, seu mecanismo de ação como agente antineoplásico é pouco conhecido, porém relatos afirmam que esse fármaco se combina a receptores citoplasmáticos, inibindo a síntese de DNA (CHUN et al., 2001, RODASKI & DE NARDI, 2007). A toxicidade do fármaco consiste no hipercortisolismo,

onde observam-se freqüentemente sinais como poliúria, polidipsia, polifagia, hepatomegalia, queda de pêlos, perda de massa muscular e ulceração gástrica (THAMM et al., 1999, CHUN et al., 2001).

Muitas das informações relativas à eficácia do tratamento quimioterápico das neoplasias hematopoéticas são frutos de estudos utilizando as combinações de ciclofosfamida, vincristina e prednisona. Essa combinação ficou conhecida coloquialmente como COP, devido aos seus fármacos originários, com nomes fantasias Cytoxan® e Oncovin®, associados à prednisona, e forma a base para os protocolos quimioterápicos mais utilizados em medicina veterinária, os protocolos COP1 e COP2, sendo que o diferencial entre os mesmos é a dose e a freqüência de administração (OGILVIE & MOORE, 1995).

Devidos aos efeitos colaterais que podem ser provocados pela administração dos quimioterápicos o objetivo deste estudo foi realizar a avaliação hematológica em cães normais provocada pela administração de sulfato de vincristina, prednisona e ciclofosfamida em diferentes doses e freqüências de administrações.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Para a condução deste estudo foram utilizados oito cães sadios, adultos jovens, machos ou fêmeas, sem raças definidas, com peso médio de 8,5kg, provenientes do Centro de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Pontal – SP. O bom estado de saúde dos animais foi atestado com base nos resultados do exame clínico detalhado, testes hematológicos, bioquímico-séricos, sorológicos (toxoplasmose e leptospirose), coproparasitológicos e urinálise tipo I, realizados durante a fase de seleção dos referidos animais. Em seguida, os animais foram submetidos às vacinações¹ e vermifugações², conforme os esquemas convencionais, e alojados em canis individuais, junto ao Instituto Veterinário “Dr. Daleck”, em Ribeirão Preto - SP, onde receberam ração³ e água *ad libitum*. Os cães foram aclimatados por um período de 30 dias antes do início do experimento.

Grupos Experimentais

Após aclimação e padronização, os oito animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais (COP 1 e COP 2) de quatro animais cada. Os animais do grupo COP 1 e COP 2 receberam quimioterapia conforme o que está detalhando na tabela 1 e 2, respectivamente.

¹ Vanguard® HTLP 5/CV Le Defensor – Laboratórios Pfizer Ltda – Guarulhos – SP

² Bay-o-Pet® Drontal® Plus – Bayer S. A. – Saúde Animal – São Paulo - SP

³ Full Dog® - Nutriara - PR

Tabela 1- Representação esquemática da metodologia experimental para administração de vincristina, ciclofosfamida e prednisona nos animais de grupo COP 1, suas respectivas dosagens e tempos de administração. Ribeirão Preto, 2004.

Semana	Vincristina (0,75mg/m ²) IV	Ciclofosfamida (300mg/m ²) VO	Prednisona (1mg/kg) VO
1 ^a	X	X	X (A cada 24 horas)
2 ^a e 3 ^a	X		X (A cada 48 horas)
4 ^a	X	X	X (A cada 48 horas)
7 ^a	X	X	X (A cada 48 horas)
8 ^a			X (A cada 48 horas)

Tabela 2- Representação esquemática da metodologia experimental para administração de vincristina, ciclofosfamida e prednisona nos animais de grupo COP 2, suas respectivas dosagens e tempos de administração. Ribeirão Preto, 2004.

Semana	Vincristina (0,5mg/m ²) IV	Ciclofosfamida (50mg/m ²) VO	Prednisona (10mg/m ²) VO
1 ^a	X	X	X (A cada 12 horas)
2 ^a a 8 ^a	X	X	X (A cada 24 horas)

Critérios de avaliação

Antes do início do 1º ciclo de quimioterapia, houve uma fase de avaliações semanais (fase 1), durante 21 dias (Momento zero (M0) ou controle). Depois de obtidos os valores iniciais, os ciclos de quimioterapia foram iniciados e as colheitas para as avaliações hematológicas foram realizadas durante 8 semanas, a cada sete 7 dias (fase 2). Após as colheitas, foram calculadas as médias relativas aos grupos para as variáveis avaliadas sendo definidos os momentos, a cada semana de quimioterapia (exceto o M0), desde o primeiro até o oitavo (M1 a M8), objetivando a expressão dos resultados experimentais.

Para avaliação dos resultados foi utilizado o teste de análises de variâncias com medidas repetidas, com 1 fator entre animais (grupo - 2 níveis), 1 fator dentro de animais (sessões - 8 níveis), com 4 repetições em cada grupo, em delineamentos casualizados segundo Zar (1999).

Avaliação Hematológica

Por meio da venipunção da veia jugular externa, foram colhidos 2,0mL de sangue, com auxílio de agulhas de 25 X 7mm e envasados em tubos adequados contendo o anticoagulante ácido etilendiaminotetracético dipotássico (EDTA) a 10%, na proporção de 1mg/mL de sangue, conforme recomendações de Rosenfeld (1955).

Após a colheita e acondicionamento do sangue, as amostras obtidas foram imediatamente processadas junto ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária “Prof. Dr. Joaquim Martins Ferreira Neto”, do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP.

As contagens totais de hemácias, leucócitos totais em valores absolutos, plaquetas e a taxa de hemoglobina foram obtidas utilizando contador automático de células. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada em esfregaços sanguíneos corados com May Grünwald – Giemsa (MMG).

RESULTADOS

Eritrograma

Verificou-se que as administrações referentes aos grupos COP1 e COP2, respectivamente, resultaram em diferença significativa ($p < 0,001$) na avaliação dos grupos sobre seus designados momentos controle (M0), para os valores globais de hemácias (Figura 1), porém, nos momentos aferidos apresentaram diferença apenas em M7 ($p < 0,05$) e M8 ($p < 0,05$). Os valores médios obtidos para hemoglobina e hematócrito, ao longo do período experimental, não foram significativos entre os grupos estudados.

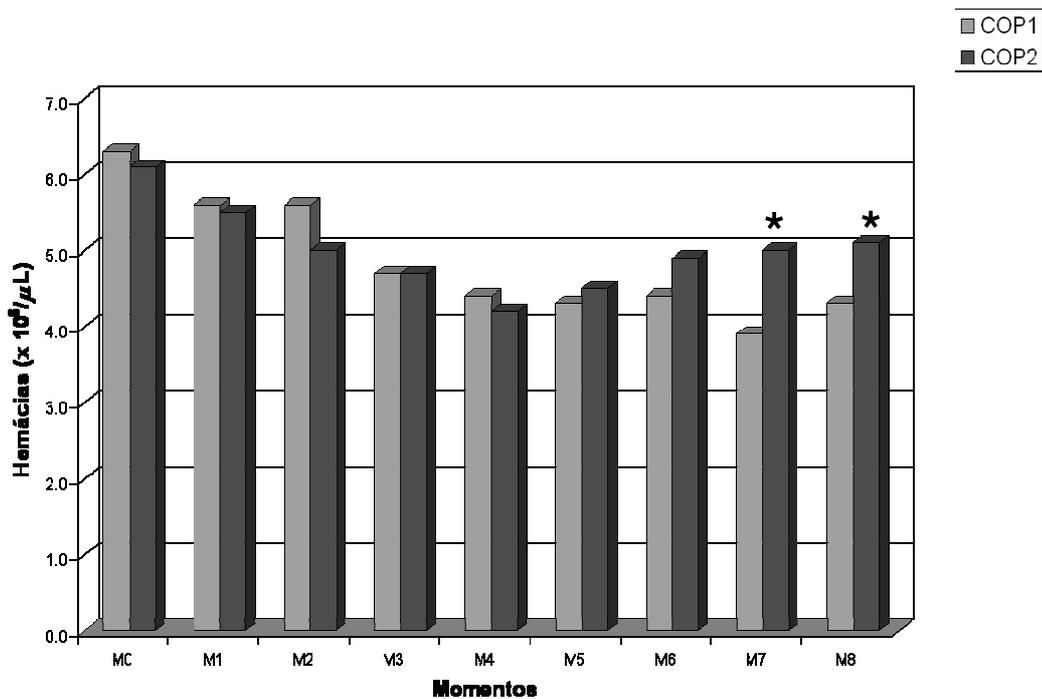


Figura 1- Valores médios da contagem global de hemácias, nos momentos (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 e M8), sendo M0 a média dos valores obtidos na fase 1; os demais momentos são as médias dos valores obtidos na fase 2. * - ($p < 0,05$); ** - ($p < 0,001$). Ribeirão Preto (SP), 2004.

Trombograma

A análise dos resultados a partir das médias dos valores encontrados durante a fase experimental para a variável plaqueta, demonstrou maior oscilação no grupo COP1 que no COP2 (Figura 2), porém permanecendo dentro dos valores de referência (Jain,

1993), exceto em M1 e M4 para o grupo COP1. Quando confrontados os resultados do COP1 e COP2 em relação ao momento M0, houve diferença significativa ($p < 0,001$), nos momentos M3 e M4 e M1 e M6 ($p < 0,05$).

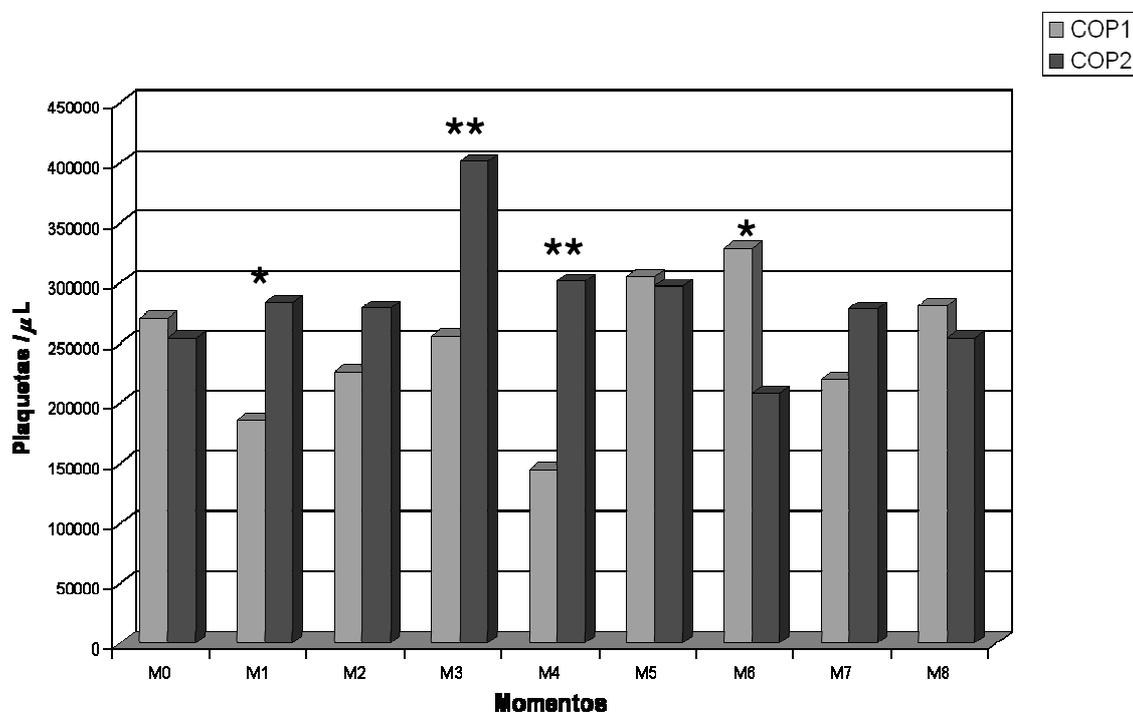


Figura 2- Valores médios obtidos para contagem global das plaquetas, nos momentos (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 e M8), sendo M0 a média dos valores obtidos na fase 1; os demais momentos são as médias dos valores obtidos na fase 2. * - ($p < 0,05$); ** - ($p < 0,001$). Ribeirão Preto (SP), 2004.

Leucograma

Os valores médios de leucócitos totais, eosinófilos, neutrófilos segmentados, bastonetes, linfócitos e monócitos foram significativamente diferentes na avaliação dos grupos ($p < 0,001$) pelos seus controles. Em relação aos momentos, a contagem global leucocitária apresentou diferença significativa em M1,

M2 e M5 ($p < 0,05$), conforme Figura 3. A contagem de neutrófilos segmentados (Figura 4) apresentou diferença em M1 ($p < 0,05$); enquanto as contagens de neutrófilos bastonetes (Figura 5) nos momentos M1 e M4 ($p < 0,05$) e M2 ($p < 0,001$) foram significativamente diferentes. A variável linfócitos (Figura 6) apresentou diferença significativa apenas em M1 ($p < 0,05$).

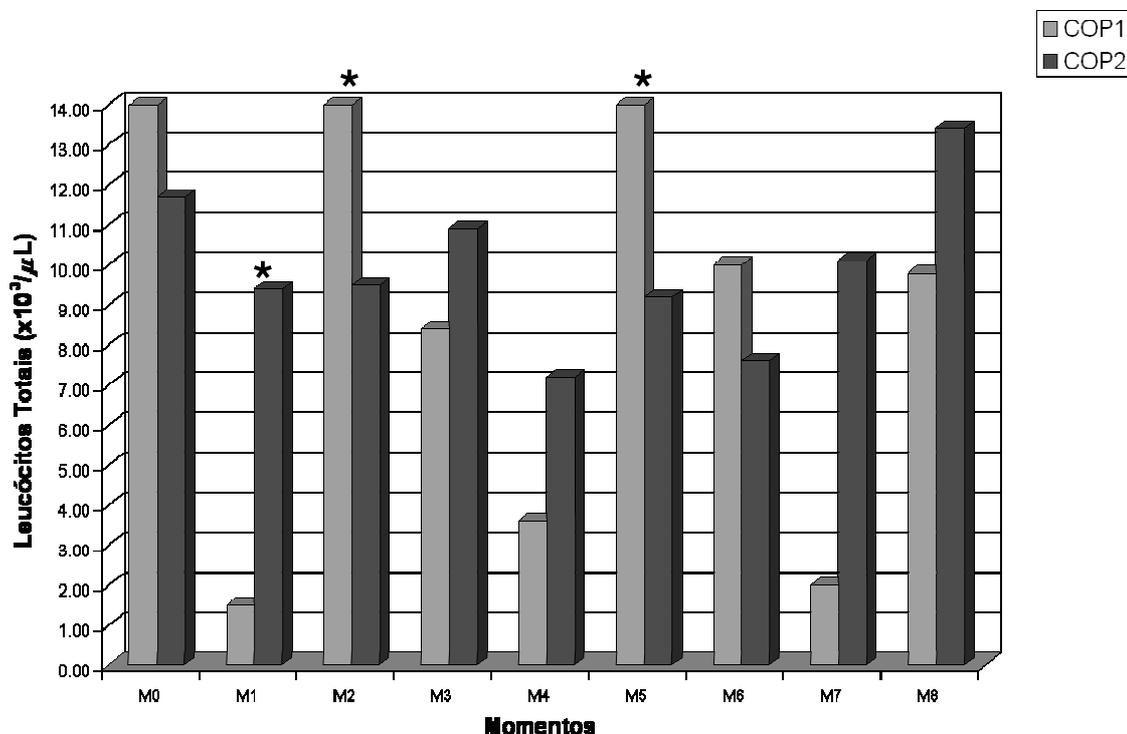


Figura 3- Valores médios da contagem global leucocitária, calculados para os momentos (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 e M8), sendo M0 a média dos valores obtidos durante a fase 1; os demais momentos são as médias dos valores obtidos na fase 2. * - ($p < 0,05$); ** - ($p < 0,001$). Ribeirão Preto (SP), 2004.

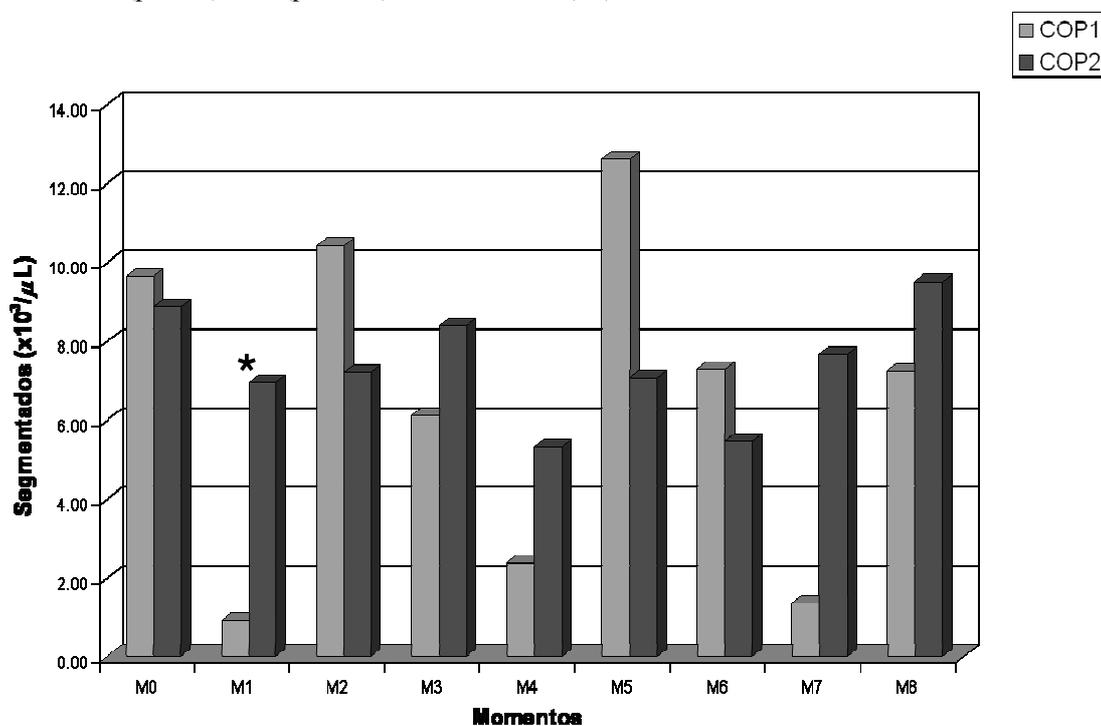


Figura 4- Valores médios da contagem diferencial de neutrófilos segmentados, calculados para os momentos (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 e M8), sendo M0 a média dos valores obtidos durante a fase 1; os demais momentos são as médias dos valores obtidos na fase 2. * - ($p < 0,05$); ** - ($p < 0,001$). Ribeirão Preto (SP), 2004.

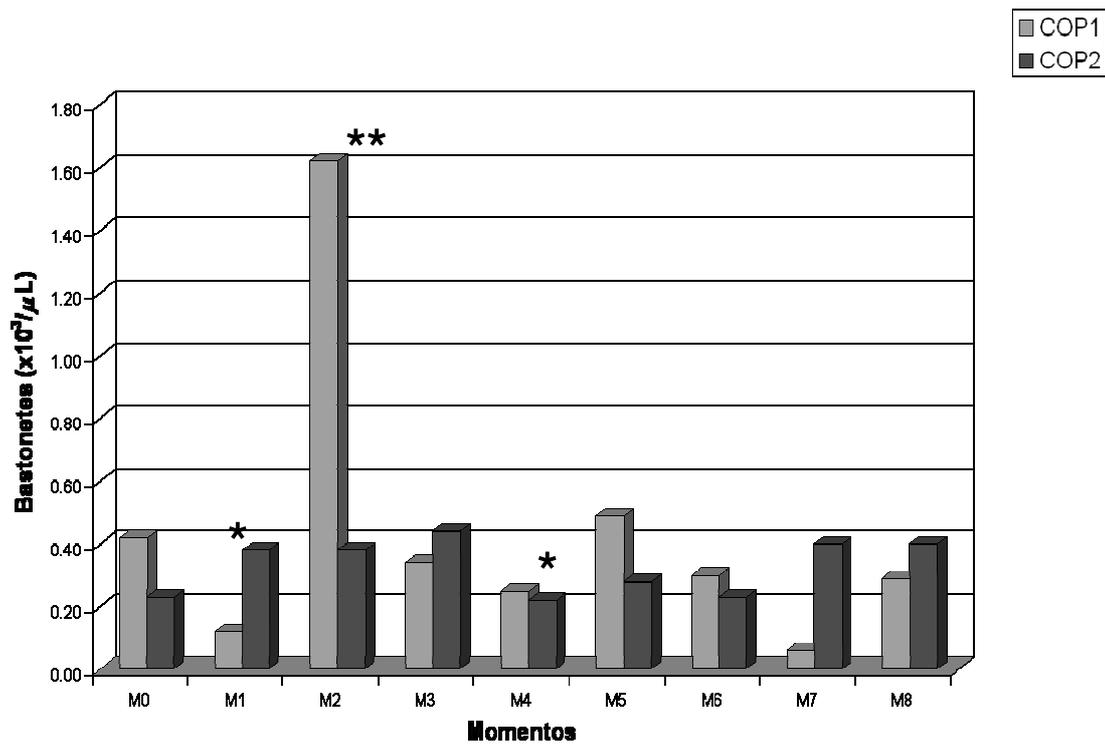


Figura 5- Valores médios da contagem diferencial de neutrófilos bastonetes, calculados para os momentos (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 e M8), sendo M0 a média dos valores obtidos durante a fase 1; os demais momentos são as médias dos valores obtidos na fase 2. * - (p<0,05); ** - (p<0,001). Ribeirão Preto (SP), 2004.

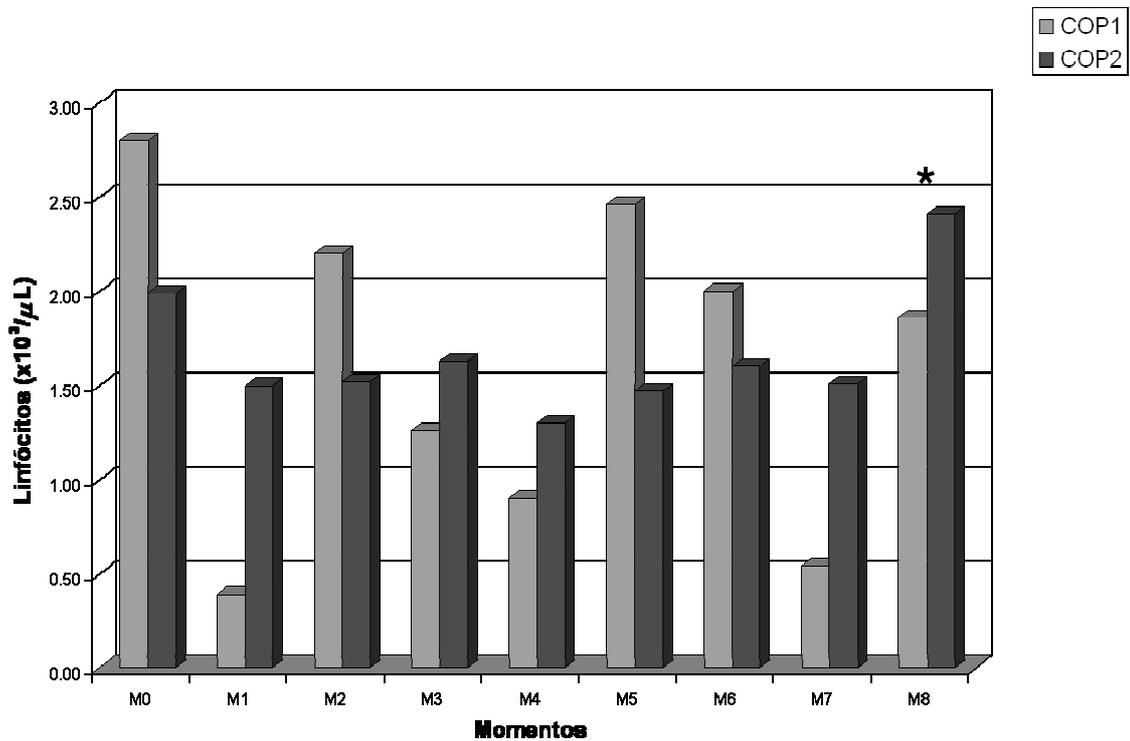


Figura 6- Valores médios da contagem diferencial de linfócitos, calculados para os momentos (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 e M8), sendo M0 a média dos valores obtidos durante a fase 1; os demais momentos são as médias dos valores obtidos na fase 2. * - (p<0,05); ** - (p<0,001). Ribeirão Preto (SP), 2004.

DISCUSSÃO

Muitos agentes quimioterápicos possuem como alvo as células que estão em intensa divisão celular, atuando em tecidos neoplásicos assim como em tecidos normais que se dividem rapidamente, com consequente desenvolvimento de efeitos colaterais indesejáveis.

A medula óssea contém uma população de células chamadas "stem cell", responsáveis pela formação de todos os elementos do sangue, entre eles os eritrócitos, plaquetas, monócitos, granulócitos e linfócitos. Os efeitos tóxicos sobre a medula óssea são mais intensos nos tratamentos realizados com poliquimioterapia (RODASKI & DE NARDI, 2007), conforme utilizado nesse experimento, necessitando dessa forma de uma monitoração cuidadosa. A avaliação hematológica dos animais foi realizada semanalmente, seguindo os princípios de O'Keefe & Harris (1990), para prevenir complicações que justifiquem a interrupção da quimioterapia.

Os achados obtidos no presente experimento para a contagem eritrocitária expressaram diminuição ($p < 0,01$) constante do número de hemácias, em ambos os grupos, para valores abaixo daqueles de referência (JAIN, 1993), no decorrer dos ciclos de quimioterapia, principalmente observado nos animais do grupo COP1 semelhante ao resultados encontrados por Riccardi et al. (1980), Riccardi et al. (1981), O'Keefe & Harris (1990), Alleman & HarveY (1993) e Dinesh (1993), Sobreira (1999).

A dosagem, o intervalo entre as aplicações e o tempo de exposição aos quimioterápicos são fatores importantes com relação à ocorrência de efeitos citopênicos indesejáveis, que podem repercutir desfavoravelmente em sistemas celulares de renovação rápida. Pesquisas realizadas por Riccardi et al. (1980) e Riccardi et al. (1981), Dinesh (1993), O'Keefe & Harris (1990) e Sobreira (1999) acrescentam que a vincristina pode provocar efeitos citostáticos na série eritróide.

No entanto resultados diferentes foram encontrados por Camacho & Laus (1987), Camacho & Santana (1992) e Santana (2000) cujos trabalhos não demonstraram a ocorrência de alterações significativas. Em ensaio experimental, Santana (2000) verificou não haver alteração significativa entre os valores médios eritrocitários tanto para seus precursores (nível medular) quanto para o eritrograma (nível periférico). Segundo o autor não houve diferença significativa entre os valores médios das características do eritrograma em cães portadores de TVT tratados com vincristina (0,025 mg/kg de peso corpóreo), semanalmente, durante quatro semanas.

Pelo fato dos protocolos do presente trabalho serem associações de fármacos (poliquimioterapia), é possível considerar que a ciclofosfamida, um citostático potente, possa ter acentuado o declínio da curva eritrocitária devido a mielossupressão relatada por Chabner & Longo (2001).

A trombocitopenia é comumente causada pelos efeitos da maioria dos agentes quimioterápicos, sendo as plaquetas a segunda linha de diminuição hematológica, pois possui vida média de 5 a 7 dias

(RODASKI & DE NARDI, 2007). Os valores do trombograma durante a fase experimental demonstraram maior oscilação no grupo COP1 que no COP2, porém permaneceram dentro dos valores de referência, exceto em M1 e M4 para o grupo COP1. Quando confrontados os resultados do COP1 e COP2 com os valores do controle, houve diferença significativa ($p < 0,001$). Nos momentos M3 e M4 e nos momentos M1 e M6 esta significância foi de $p < 0,05$, confirmando parcialmente os achados de Sobreira (1999), que refere indução de trombocitopenia pela vincristina. A aparente diminuição nas contagens de plaquetas pode ter sido causada por vincristina, porém no presente estudo, foram raros os momentos de trombocitopenia.

Em relação aos resultados da série leucocitária houve diminuição significativa ($p < 0,001$) nas contagens globais de leucócitos, como referido por Camacho & Laus (1987), Daleck (1986), Padilha Filho et al. (1988), O'Keefe & Harrys (1990), Camacho & Santana (1992) e Dinesh (1993), na utilização da vincristina. Os animais do grupo COP1 apresentaram oscilações mais intensas nas contagens alcançando valores abaixo daqueles de referência. Nos animais do grupo COP2 a diminuição foi mais discreta e manteve-se praticamente constante durante todo experimento.

As contagens absolutas de neutrófilos segmentados, bastonetes, linfócitos e monócitos demonstraram diferenças estatísticas nos momentos correspondentes a cada grupo de tratamento comparado aos seus valores controle ($p < 0,001$), com maior oscilação em momentos no grupo COP1. Quedas maiores foram observadas em M1 ($p < 0,05$) para os neutrófilos segmentados, M1 e M4 ($p < 0,05$) e M3 ($p < 0,001$) para os neutrófilos bastonetes, M8 ($p < 0,05$) para os linfócitos e M7 e M8 ($p < 0,05$) para os monócitos, semelhante ao encontrado por Daleck et al. (1986), Camacho & Laus (1987) e Padilha Filho et al. (1988).

A possibilidade de ocorrência de leucopenia secundária a administração de quimioterapia antineoplásica representa um fator limitante da terapia antilástica, em virtude disto, recomenda-se o monitoramento laboratorial semanal de todos os animais que estiverem em tratamento.

CONCLUSÕES

Os protocolos avaliados, apesar de considerados pouco tóxicos, devem ser administrados com cautela. Em relação a contagem eritrocitária houve diminuição constante do número de hemácias em ambos os grupos (COP 1 e COP 2).

Houve redução significativa no número de plaquetas nos dois grupos quando comparados com o grupo controle, no entanto, os resultados permaneceram dentro dos valores de referência.

Com relação a avaliação leucocitária observou-se maior leucocitose nos animais do grupo COP1 quando comparado com o grupo COP2, esta redução se deve principalmente a queda nos valores de neutrófilos e leucócitos. Nos animais do grupo COP2 a diminuição

foi mais discreta e mantevesse praticamente constante durante todo experimento.

REFERÊNCIAS

- ALLEMAN, A. R., HARVEY, J. W. The morphologic effects of vincristine sulfate on canine boné marrow cells. **Veterinary Clinical Pathology**, v.22, n.2, p. 36-41, 1993.
- CALABRESI, P., CHABNER, B. A. Antineoplastic agents. In: GILMAN, A. G., CHABNER, B. A. **Goodman & Gilman the pharmacological basis of therapeutics**. 8th ed. New York: Pergamon Press, 1990. p.1140-1141.
- CAMACHO, A. A., SANTANA, A. E. Alterações da medula óssea e do sangue periférico de cães induzidas pela vincristina. **Ciência Veterinária**, v.6, n.2, p.1-11, 1992.
- CAMACHO, A. A., LAUS, J. L. Estudo sobre a eficiência da vincristina no tratamento de cães com tumor venéreo transmissível. **Ars Veterinária**, v.3, n.1, p.37-42, 1987.
- CHABNER, B. A., LONGO, D. L. Principles of Chomotherapy. In: _____. **Cancer chemotherapy & biotherapy: principles & practices**. 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 58-82.
- CHUN, R., GARRET, L., MACEWEN, E. G. Cancer Chemotherapy. In: WITHROW, S. J., MACEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2001. p.92-113.
- DAGLI, M. L. Z. Agentes antineoplásicos. In: SPINOSA, H. S., GÓRNIAC, S. L., BERNARDI M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.495-509.
- DALECK, C. L. M. **Emprego do sulfato de vincristina no tratamento do tumor venéreo transmissível canino**. Belo Horizonte. 1986. 53p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- DINESH, N. M. Effect of vincristina sulphate on canine transmissible veneral tumors – haematological and biochemical studies. **Indian Veterinary Journal**, v.70, n.8, p.741-44, 1993.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- JORDAN, M. A., THROWER, D., WILSON, L. Mechanism of inhibition of cell proliferation by Vinca alkaloids. **Cancer Research**, v.51, n.15, p. 2212-22, 1991.
- O'KEEFE, D. A., HARRIS, C. L. Toxicology of oncologic drugs. **veterinary clinics of north america: small animal practice**. v. 20, n.2, p. 483-504, 1990.
- OGILVIE, G. K., MOORE, A. S. **Managing the veterinary cancer patient**. New Jersey: Veterinary Learning System Company, 1995. 541p.
- PADILHA FILHO, J. G. et al. Estudos das alterações reprodutivas e outros efeitos colaterais após o tratamento com sulfato de vincristina em cães. **Ars Veterinária**, v.4, n.1, p.25-31, 1988.
- RICCARDI, A. et al. Effect of vincristine on the bone marrow cells of patients with multiple myeloma: a cytomorphic study. **Tumor**, v.66, p.319-329, 1980
- RICCARDI, A. et al. Effect of vincristine on the bone marrow cells of patients with multiple myeloma: a cytokinetic study. **Virchows Archives / B. Cell Pathology**, v.35, p.239-48, 1981.
- RODASKI, S., DE NARDI, A. B. Modalidades de quimioterapia. IN: RODASKI, S.; NARDI, A. B. D. **Quimioterapia antineoplásica em cães e gatos**, São Paulo: Medvet Livros, 2007. 307p.
- ROSENFELD, G. Etilenodiaminatetracética dissódica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. **Vet. Clin.**, v.31, p.65-71, 1955.
- ROSENTHAL, R. C. Clinical applications of Vinka alkaloids. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.179, n.11, p.1084-86, 1981.
- SANTANA, A. E. **Efeitos hematotóxicos de dois diferentes níveis de dosagens de sulfato de vincristina (oncovin®) em cães (Canis familiaris, Linnaeus, 1758)**. 2000. f. 106. Tese (Livre-Docência em Patologia Clínica Veterinária25) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.
- SOBREIRA, M. F. R. **Estudo das alterações hematológicas e das provas funcionais hepática e renal em cães (Cannis familiaris) sadios expostos ao sulfato de vincristina (Oncovin®)**. 1999, f.113. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- THAMM D. H., MAULDIN E. A., VAIL D. M. Prednisone and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumor – 41 cases (1992-1997). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.13, n.5, p. 491-497, 1999.
- ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**, 4.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.