

THIERRY GRIMA DE CRISTO

**CARACTERIZAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE LINFOMA E LEUCEMIA
EM FELINOS DOMÉSTICOS E A CORRELAÇÃO COM O
VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Renata Assis Casagrande

LAGES, SC
2018

Grima de Cristo, Thierry
CARACTERIZAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE LINFOMA E
LEUCEMIA EM FELINOS DOMÉSTICOS E A CORRELAÇÃO COM O
VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV) / Thierry Grima de
Cristo. - Lages , 2018.
110 p.

Orientadora: Renata Assis Casagrande
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Lages, 2018.

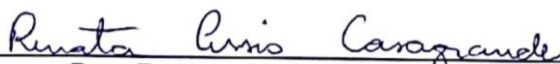
1. retrovírus. 2. mielopatia. 3. linfócito. 4.
oncologia. 5. medula óssea. I. Assis Casagrande,
Renata. II. Universidade do Estado de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação. III. Título.

THIERRY GRIMA DE CRISTO

**CARACTERIZAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE LINFOMA E LEUCEMIA
EM FELINOS DOMÉSTICOS E A CORRELAÇÃO COM O
VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora



Dra. Renata Assis Casagrande
Orientadora

Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Membros:



Teane Milagres Augusto da Silva, Dra.
Instituto Federal Catarinense (IFC)



Veronica Machado Rolim, Dra.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Lages – SC, 15 de fevereiro de 2018

Aos meus pais, meu irmão, meu amado
companheiro, minha orientadora e amiga
e meus familiares, dedico não só este
trabalho, mas todo o meu amor, carinho e
gratidão.

AGRADECIMENTOS

É impossível dizer que este trabalho foi elaborado sozinho e me sinto no dever de agradecer a todos que participaram desta dissertação. Primeiramente a minha orientadora, Profa. Dra. Renata Assis Casagrande, que me acolheu de braços abertos no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Sou imensamente grato pelo carinho e atenção, me ajudando a superar dificuldades profissionais e pessoais, fazendo com que me tornasse uma pessoa melhor a cada dia. Espero no futuro lhe oferecer tanto orgulho quanto hoje sinto pela senhora.

Agradeço também aos professores José Cristani, Sandra Davi Traverso, e Joandes Henrique Fontequê que contribuíram de forma imprescindível para a finalização deste trabalho. Agradeço aos professores que fizeram parte da minha formação e hoje são exemplos constantemente lembrados Renato Silva de Sousa e Maria Aparecida de Alcântara. Um agradecimento especial à Profa. Me. Giovana Biezus, por me aguentar sorrindo e resmungando enquanto colega de mestrado.

Um agradecimento sincero também aos meus amigos, estagiários, funcionários e pós-graduandos do Laboratório de Patologia Animal: Sandra Vogel Seixas, Cláudia Martins Galindo, Kamila Alcalá, Yara Brandão Leonardo Costa, Leonardo Hasckel, Jéssica Withoeft, Tainah Dal Pont, Laura Formighieri, Luiza Ramos, Letícia Furlan, Isadora Cristina Melo, Raíssa Moreira, Indianara Andrade e muitos outros que também contribuíram de alguma forma. Obrigado a todos vocês pela dedicação, pelas risadas e pela força que sempre me deram, vocês valem ouro.

Agradeço a minha família pai, mãe e irmão. Vocês são o motivo maior de todo o meu esforço, exemplos de caráter, respeito e admiração. Não tenho palavras para descrever a imensidão do amor e do orgulho que sinto por vocês. Obrigado por sempre me fazerem sentir-se amado. Aos meus demais familiares, avós, tios e primos, inclusive aqueles que não estão mais neste plano, obrigado por acreditarem em mim e desculpe-me pela ausência nos últimos dois anos.

Por último, mas não menos importante, ao meu namorado e companheiro de todas as horas, Willian Kaida de Almeida. Obrigado por aguentar minhas oscilações de humor, minhas reclamações e falações intermináveis, sempre demonstrando seu amor e carinho em todos os momentos, você é muito especial para mim e nenhum agradecimento pode expressar o quanto tudo faz mais sentido ao seu lado.

“Quando não souberes para onde ir, olha para trás e saiba pelo menos de onde vens.”

Provérbio africano

RESUMO

Linfoma e leucemia são neoplasias originadas do tecido hematopoiético que ocorrem comumente nos gatos e muitas vezes estão associadas a infecção pelo vírus da Leucemia Felina (FeLV), retrovírus com potencial oncogênico. Linfomas se originam no tecido linfoide formando massas únicas ou múltiplas, são classificados de acordo com o local de desenvolvimento primário e o tipo histológico. Leucemias se originam na medula óssea e disseminando-se para a circulação sanguínea, infiltrando em diversos órgãos. São classificadas em mieloide e linfoide, aguda ou crônica, de acordo com os precursores envolvidos e maturação. No Brasil ainda não existem estudos publicados que demonstrem a associação entre o FeLV com a formação destas neoplasias. Este trabalho objetiva a caracterização anatomopatológica de linfomas e leucemias em gatos domésticos, e a relação com a infecção pelo FeLV. Realizou-se estudo entre os anos de 1995 a 2017, avaliando 53 felinos com linfomas e 37 com leucemia dos quais realizou-se exame de necropsia, histopatológico e imuno-histoquímica (IHQ) anti-FeLV. Dos animais com linfoma, 50,94% (27/53) eram fêmeas e 49,06% (26/53) machos, os filhotes tinham um ano (13,21%, 7/53), os adultos (60,38%, 32/53) tinham média de 3,56 anos e os idosos (16,98%, 9/53) de 12,88 anos. Quanto a distribuição topográfica 43,4% (23/53) eram multicêntricos, 33,96% (18/53) mediastinais, 11,32% (6/53) renais, 5,66% (3/53) hepáticos, 3,77% (2/53) linfonodais e 1,89% (1/53) alimentar. Os tipos histológicos predominantes foram de células pequenas não clivadas (LCPnc) (33,96%, 18/53), células mistas difuso, (LMd) (22,64%, 12/53), imunoblásticos (15,11%, 8/53) e linfoblásticos (11,32%, 6/53). Dos gatos com leucemia, 54,05 % (20/37) eram machos e 43,24% (16/37) fêmeas, quanto a idade, somente um filhote com um ano, 72,97% (27/37) eram adultos e 10,81% (4/37) idosos. Desses gatos, 56,76% (21/37) possuíam leucemia mieloide e 43,24% (16/37) linfoides, 72,97% (27/37) eram agudas e 27,03% (10/37) crônicas. A IHQ anti-FeLV foi positiva em 56,6% (30/53) dos linfomas e 78,38% (29/37) das leucemias, indicando uma forte associação entre a infecção e as neoformações. Os gatos entre um e quatro anos foram os que mais desenvolveram linfomas mediastinais e multicêntricos e leucemias agudas ocorreram com maior frequência com relação às crônicas, predominando em animais abaixo dos cinco anos. A relação entre os linfomas e as leucemias com a infecção pelo FeLV foi superior à encontrada em outros países, indicando a necessidade de intervenções profiláticas e de controle na região estudada.

Palavras-chave: retrovírus, mielopatia, linfócito, oncologia, medula óssea

ABSTRACT

Lymphoma and leukemia are neoplasia originating from the hematopoietic tissue that occurs in cats, commonly associated with Feline Leukemia virus (FeLV) infection, a potentially oncogenic retrovirus. Lymphomas originate in lymphoid tissue forming single or multiple masses, are classified according to the primary site and the histological type. Leukemias arise in the bone marrow and spread through the bloodstream, infiltrates in other organs. They are classified into myeloid and lymphoid, acute or chronic, according to the precursors involved and maturation. In Brazil, there are no published studies showing the association between FeLV with the formation of these tumors. This study aims to characterize lymphomas and leukemias in domestic cats and the relationship with FeLV. A retrospective and prospective study were carried out between 1995 and 2016, evaluating 53 cats with lymphomas and 37 with leukemia, which included necropsy, histopathological examination and immunohistochemistry (IHC) anti-FeLV (gp70) were performed. Among the cats with lymphoma, 50,94% (27/53) were females and 49,06 (26/53) males, the kitten were one year old (13,21%, 7/53), adults (60,38%, 32/53) averaging 3,56 years and elderly (16,98%, 9/53), 12,88 years. The topographic distribution showed 43,4% (23/53) multicentric, 33,96% (18/53) mediastinal, 11,32% (6/53) renal, 5,66% (3/53) hepatic, 3,77% (2/53) lymphonodal and 1,89% (1/53) alimentary. The predominant histological types of lymphoma were small non-cleaved cells (33,96%, 18/53), diffuse mixed cells (22,64%, 12/53), immunoblastic (15,11%, 8/53) and lymphoblastic (11,32%, 6/53). Among the cases of leukemia, 54,05% (20/37) cats were male and 43,24% (16/37) females. An only one-year-old pup was observed, adults comprised 72,97% (27/37) and the elderly 10,81% (4/37). Myeloid leukemias were 56,76% (21/37) and lymphoid 43,24% (16/37) cases, acute occurred in 72,97% (27/37), and chronic in 27,03% (10/37). The anti-FeLV IHC was positive in 56.6% (30/53) lymphomas and 78.38% (29/37) leukemias, indicating a strong association between infection and neoplasia. Cats between one and four years of age were the ones that developed the most mediastinal and multicentric lymphomas and acute leukemias occurred more frequently in relation to the chronic, predominating in animals under five-years-old. The relationship between lymphomas and leukemias with FeLV infection was superior to that found in other countries, indicating the need for prophylactic and control interventions in the region studied.

Keywords: retrovirus, myelopathy, lymphocyte, oncology, bone marrow

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Percentual (%) de gatos acometidos por linfoma de acordo com a idade (em anos).....52
- Figura 2 - Distribuição topográfica dos linfomas em gatos domésticos: **(A)** Aumento acentuado dos linfonodos mandibulares com adesão e infiltração em glândulas salivares (*cabeças de seta brancas*) e mediastínicos craniais (*cabeça de seta*). Macho, 6 anos, Multicêntrico. **(B)** Linfadenomegalia mesentérica difusa, principalmente nos linfonodos jejunais (*asterisco*). Macho, 6 anos, Multicêntrico. **(C)** Infiltração difusa em medula óssea. Macho, 2 anos, Multicêntrico. **(D)** Esplenomegalia decorrente de infiltração neoplásica, notar bordos acentuadamente arredondados. Macho, 3 anos, Multicêntrico. **(E)** Infiltração neoplásica hepática discreta, com evidenciação do padrão lobular e aspecto trabeculado de feixes brancos na incidência de corte. Macho, 2 anos, Multicêntrico. **(F)** Linfoma hepático em lobo lateral esquerdo (*tracejado preto*) e lipidose difusa e acentuada. Macho, 6 anos.55
- Figura 3 - Distribuição topográfica dos linfomas em gatos domésticos: **(A)** Massa mediastinal rósea pálida delimitada pelo tracejado ocupando todo o tórax e comprimindo dorsalmente os pulmões (p). **(B)** Corte transversal da massa mediastinal com o coração (c) envolto pela massa e os lobos pulmonares atelectásicos (p). Fêmea, 1 ano, Mediastinal. **(C)** Massa em íleo, associada à espessamento de submucosa e evidenciação de folículos linfóides (*cabeça de seta*). Macho, 4 anos, Alimentar. **(D)** Nódulo renal delimitado pelo tracejado adjacente a uma área de fibrose (*cabeça de seta branca*), e nódulo menor no rim contralateral (*cabeça de seta preta*). Macho, 3 anos, Renal. **(E)** Rim Superior: Nódulo partindo da pelve (*cabeça de seta branca*) para o exterior do órgão, notar áreas de necrose (*cabeça de seta amarela*). Macho, 2 anos, Renal; Rim Inferior: Nódulo em cortical (*cabeça de seta preta*), notar aspecto multinodular bilateral. Macho, 4 anos, Renal. **(F)** Linfadenomegalia em cadeia inguinal externa. Fêmea, 2 anos, Linfonodal.....56
- Figura 4 - Principais alterações macroscópicas concomitantes ao linfoma mediastínico e multicêntrico em gatos domésticos (%).....57
- Figura 5 - Caracterização histopatológica dos linfomas em gatos domésticos: **(A)** Linfoma linfocítico de células pequenas, composto por linfócitos de tamanho similares e núcleos hipercromáticos. Macho, 4 anos, Renal. **(B)** Linfoma de células pequenas clivados, linfócitos com núcleos convolutos e projeções de cromatina formando cortes no núcleo (*cabeça de seta*). Macho, 8 anos, Multicêntrico. **(C)** Linfoma de células grandes infiltrado em coração. Fêmea, 4 anos, Multicêntrico. **(D)** Linfoma misto difuso, linfócitos pequenos e grandes em proporções semelhantes. Fêmea, Idade não informada, Multicêntrico. **(E)** Linfoma de células pequenas não-clivadas com intensa semelhança entre células. Fêmea, 4 anos, Mediastínico. **(F)**

Linfoma imunoblástico demonstrando células com núcleo amplo e nucléolo central (*cabeça de seta preta*) e cromatina com disposição “explosiva” (*cabeça de seta amarela*). Macho, 12 anos, Multicêntrico. (Hematoxilina e Eosina) 60

Figura 6 - Caracterização histopatológica dos linfomas em gatos domésticos: **(A)** Linfoma linfoblástico no fígado demonstrando a formação de grupos celulares (*tracejado vermelho*). Fêmea, 1 ano, Multicêntrico. **(B)** Linfoma linfoblástico mediastínico com formação de grupos celulares (*tracejado vermelho*) e padrão de céu estrelado com macrófagos repletos por corpúsculos tingidos (*cabeça de seta amarela*). Fêmea, 1 ano. **(C)** Linfoma imunoblástico com infiltração hepática nodular e múltiplas células em sinusoides. Macho, 2 anos, Hepático. **(D)** Linfoma de células pequenas clivadas em linfonodo mandibular. Macho, 8 anos, Multicêntrico. **(E)** Linfoma linfoblástico infiltrado difusamente em baço. Fêmea, 1 ano, Multicêntrico. **(F)** Linfoma misto de células grandes e pequenas infiltrado em meninges do córtex cerebral. Macho, 4 anos, Multicêntrico. (Hematoxilina e Eosina) 61

Figura 7 - Imuno-histoquímica para o vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos domésticos com linfoma: **(A)** Linfoma misto difuso com marcação acentuada em linfonodo. Macho, 2 anos. **(B)** Linfoma imunoblástico com marcação moderada em baço. Macho, 13 anos. **(C)** Marcação acentuada em linfoma misto difuso no interior de vaso sanguíneo da pelve renal. Macho, 8 anos. **(D)** Linfoma de células pequenas não clivadas com marcação moderada em massa mediastínica. Fêmea, 2 anos. **(E)** Linfoma linfoblástico com marcação moderada difusa em linfonodo mediastínico. Fêmea, 2 anos. **(F)** Linfoma misto difuso com marcação acentuada em rins. Macho, 8 anos. (Polímero ligado a fosfatase alcalina [MACH 4 AP], cromógeno Red Warp®) 66

Figura 8 - Porcentual (%) de gatos domésticos acometidos por leucemia de acordo com a idade (em anos) 80

Figura 9 - Alterações macroscópicas em gatos domésticos com leucemia: **(A)** Palidez acentuada de mucosas em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 8 anos. **(B)** Hipoviscosidade sanguínea em leucemia mieloide crônica. Macho, 4 anos. **(C)** Meninges com múltiplas petéquias em superfície subcapsular em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 4 anos. **(D)** Esplenomegalia acentuada em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 10 anos. **(E)** Infiltração leucêmica em fígado com hepatomegalia, acentuação de padrão lobular e lipídose difusa em um caso de leucemia linfóide crônica. Macho, 5 anos. **(F)** Medula óssea com intensa palidez em leucemia mieloide crônica. Macho, 6 anos 81

Figura 10 - Leucemias em gatos: Caracterização histológica das leucemias em gatos: **(A)** Leucemia linfóide aguda, grande quantidade de linfoblastos médios e grandes. Macho, 4 anos. **(B)** Leucemia linfóide aguda, grandes linfócitos neoplásicos substituindo todo o

parênquima medular. Macho, 6 anos. **(C)** Leucemia linfoide crônica, linfócitos maduros substituindo o parênquima medular, e megacariócito hipolobulado atípico (*cabeça de seta*). Macho, 5 anos. **(D)** Leucemia mieloide aguda, grande quantidade de precursores eritroides em vários estágios de maturação (*cabeça de seta branca*) e megacariócito multinucleado não lobular (*cabeça de seta preta*). Macho, 2 anos. **(E)** Leucemia mieloide aguda, intensa proliferação de megacariócitos atípicos e micromegacariócitos (*cabeça de seta*). Macho, 6 anos. **(F)** Leucemia mieloide crônica, aspecto monótono do parênquima e grande quantidade de megacariócitos realizando emperipoese (*cabeças de seta*). Fêmea, 1 ano. (Hematoxilina e Eosina).....84

Figura 11 - Caracterização histológica e infiltrativa da leucemia em gatos domésticos: **(A)** Infiltração acentuada e multifocal de leucemia linfoide aguda em espaço portal (*cabeça de seta*). Macho, 2 anos. **(B)** Leucemia linfoide aguda infiltrando e distendendo sinusoides hepáticos (*cabeça de seta*). Macho, 2 anos. **(C)** Leucemia mieloide aguda infiltrando em fígado com aspecto dissociado das células neoplásicas. Macho, 2 anos. **(D)** Leucemia linfoide aguda difusa no parênquima esplênico. Macho, 6 anos. **(E)** Leucemia linfoide aguda em córtex do cerebelo com hemorragia e malácia (*cabeça de seta branca*), além da infiltração neoplásica (*cabeça de seta preta*). Macho, 6 anos. **(F)** Leucemia mieloide aguda: baço com megacariócitos típicos realizando hematopoese extramedular (*cabeça de seta*). Fêmea, 7 anos. (Hematoxilina e Eosina).....86

Figura 12 - Imuno-histoquímica para o vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos domésticos com leucemia: **(A)** Marcação acentuada em leucemia mieloide crônica. Macho, 2 anos. **(B)** Marcação moderada em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 7 anos. **(C)** Marcação leve em leucemia mieloide crônica. Fêmea, 4 anos. **(D)** Marcação acentuada em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 2 anos. **(E)** Marcação moderada em leucemia mieloide crônica. Macho, 11 anos. **(F)** Marcação acentuada em leucemia linfoide aguda. Macho, 2 anos (Polímero ligado a fosfatase alcalina [MACH 4 AP], cromógeno *Red Warp®*).....88

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Correlação entre gênero e faixa etária dos gatos domésticos acometidos por linfoma | 52 |
| Tabela 2 - Frequência da localização anatômica dos linfomas e a idade dos gatos domésticos | 53 |
| Tabela 3 - Infiltrações de linfomas em gatos domésticos por órgão de acordo com a topografia tumoral | 62 |
| Tabela 4 - Distribuição das frequências entre o tipo histológico do linfoma, gênero e faixa etária dos gatos domésticos | 63 |
| Tabela 5 - Distribuição de frequência entre o grau de malignidade, tipo histológico e topografia dos linfomas em gatos domésticos | 64 |
| Tabela 6 - Distribuição de frequência e média de figuras mitoses de acordo com o grau de malignidade e o tipo histológico dos linfomas em gatos | 64 |
| Tabela 7 - Imuno-histoquímica e ELISA para o vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos com linfoma de acordo com gênero e idade | 67 |
| Tabela 8 - Distribuição dos gatos domésticos com leucemia de acordo com a idade e o gênero | 79 |
| Tabela 9 - Alterações macroscópicas observadas em gatos domésticos de acordo com o tipo de leucemia | 82 |
| Tabela 10 - Distribuição da média de mitoses de acordo com o tipo de leucemia | 83 |
| Tabela 11 - Relação dos órgãos com infiltração neoplásica sobre o total de gatos por faixa etária e tipo celular da leucemia | 85 |
| Tabela 12 - Imuno-histoquímica e ELISA para o vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos com leucemia de acordo com gênero e idade | 87 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-------|---|
| ALG | <i>Animal Leukemia Study Group</i> |
| AP | Polímero ligado a fosfatase alcalina |
| CAV | Centro de Ciências Agroveterinárias |
| DAB | 3,3'Diaminobenzidine |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| DP | Desvio padrão |
| DRC | Doença renal crônica |
| EDTA | Anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético |
| ELISA | Ensaio imunoenzimático |
| EUA | Estados Unidos da América |
| FAB | <i>French-American-British Cooperative Group</i> |
| FeLV | Vírus da Leucemia Felina |
| FIV | Vírus da Imunodeficiência Felina |
| HE | Hematoxilina e eosina |
| HPF | Campo de maior aumento |
| HRP | Polímero ligado a peroxidase |
| IBL | Linfoma Imunoblástico |
| IHQ | Imuno-histoquímica |
| IL | Interleucina |
| IRA | Insuficiência renal aguda |
| LAPA | Laboratório de Patologia Animal |
| LBL | Linfoma Linfoblástico |
| LCG | Linfoma de células grandes |
| LCP | Linfoma linfocítico de células pequenas |
| LCPc | Linfoma de células pequenas clivadas, difuso |
| LCPcf | Linfoma de células pequenas clivadas, folicular |
| LCPnc | Linfoma de células pequenas não-clivadas |
| LLA | Leucemia linfoide aguda |
| LLC | Leucemia linfoide crônica |
| LMA | Leucemia mieloide aguda |
| LMC | Leucemia mieloide crônica |
| LMd | Linfoma misto, difuso |
| LMf | Linfoma misto, folicular |
| NCIWF | <i>National Cancer Institute - Working Formulation</i> |
| NK | Linfócito Natural Killer |
| PBS | Solução salina saturada |
| PCA | Fatores pro-coagulatórios |
| PCR | Reação em cadeia da polimerase |
| REAL | <i>Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms</i> |
| RNA | Ácido ribonucleico |
| SNC | Sistema nervoso central |
| TNF | Fator de Necrose Tumoral |
| UDESC | Universidade do Estado de Santa Catarina |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 25 |
| 2 | OBJETIVOS | 27 |
| 2.1 | OBJETIVOS GERAIS | 27 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 27 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 29 |
| 3.1 | LINFOMAS | 29 |
| 3.1.1 | Classificação anatomopatológica dos linfomas | 31 |
| 3.1.1.1 | <i>Classificação de Rappaport, Classificação de Kiel e R.E.A.L.</i> | 31 |
| 3.1.1.2 | <i>National Cancer Institute Working Formulation para Linfomas</i> | 33 |
| 3.1.2 | Aspectos clínicos do linfoma | 33 |
| 3.2 | LEUCEMIAS | 35 |
| 3.2.1 | Leucemias linfoides e mieloides agudas | 36 |
| 3.2.3 | Leucemias linfoides e mieloides crônicas | 37 |
| 3.2.4 | Aspectos clínicos das leucemias agudas | 37 |
| 3.2.5 | Aspectos clínicos das leucemias crônicas | 38 |
| 3.3 | VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV)..... | 38 |
| 3.3.1 | Subgrupos virais do FeLV | 39 |
| 3.3.2 | Características biológicas e implicações clínicas do FeLV | 39 |
| 3.3.3 | Interação oncogênica | 41 |
| 3.4 | MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DO FeLV | 41 |
| 4 | CARACTERIZAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE LINFOMAS EM FELINOS DOMÉSTICOS E A CORRELAÇÃO COM O VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV) | 45 |
| 4.1 | INTRODUÇÃO..... | 46 |
| 4.2 | MATERIAL E MÉTODOS | 48 |
| 4.2.1 | Estudo retrospectivo | 48 |
| 4.2.2 | Estudo prospectivo | 48 |
| 4.2.3 | Processamento de Amostras | 49 |
| 4.2.4 | Classificação topográfica e caracterização histológica dos linfomas ...49 | |
| 4.2.5 | Avaliação imuno-histoquímica anti-FeLV | 50 |
| 4.2.6 | Catologação dos dados e análise estatística | 51 |
| 4.3 | RESULTADOS | 51 |
| 4.4 | DISCUSSÃO | 68 |
| 4.5 | CONCLUSÃO | 72 |
| 5 | CARACTERIZAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE LEUCEMIAS EM FELINOS DOMÉSTICOS E A CORRELAÇÃO COM O VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV) | 73 |

| | | |
|-------|---|----|
| 5.1 | INTRODUÇÃO | 74 |
| 5.2 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 76 |
| 5.2.1 | Estudo retrospectivo | 76 |
| 5.2.2 | Estudo prospectivo | 76 |
| 5.2.3 | Processamento de amostras | 77 |
| 5.2.4 | Distribuição das lesões e caracterização histológica das leucemias ... | 77 |
| 5.2.5 | Exame de imuno-histoquímica anti-FeLV | 78 |
| 5.2.6 | Catologação dos dados e análise estatística | 78 |
| 5.3 | RESULTADOS..... | 79 |
| 5.4 | DISCUSSÃO | 89 |
| 5.5 | CONCLUSÃO | 93 |
| 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 95 |
| 7 | REFERÊNCIAS | 97 |

1 INTRODUÇÃO

Como consequência do aumento no número de gatos nos lares brasileiros, mais de 21 milhões atualmente, a procura pelo auxílio médico veterinário expandiu-se largamente nos últimos anos (ABINPET, 2015), favorecendo o diagnóstico de inúmeras doenças e agentes que antes eram pouco explorados ou sub diagnosticadas, dentre elas o vírus da Leucemia Felina (FeLV), um retrovírus comprovadamente associado ao desenvolvimento de linfomas e leucemias (HARTMANN, 2012a; SELLON; HARTMANN, 2012). Os tumores hematopoiéticos são diagnósticos frequentes em animais domésticos, sendo os de origem linfóide os mais comuns, especialmente para a espécie felina (VAIL; KAREN, 2006; VALLI, 2007).

A infecção progressiva pelo FeLV em gatos jovens é associada ao surgimento de linfomas tímicos, multicêntricos e mediastinais, e leucemias linfóides e mielóides. Já o estágio regressivo da infecção, mais comum em gatos idosos, está ligada ao desenvolvimento de linfomas alimentares (HOOVER et al., 1976; CALLANAN et al., 1996; HARTMANN, 2012).

Classificar os tumores de origem hematopoiética em gatos domésticos permite determinar uma melhor correlação entre a apresentação clínica com a localização macroscópica e a classificação histológica, com alta relevância para o melhor entendimento da patogênese desta neoplasia (VEZZALI et al., 2010). Além disso, a diferenciação entre os tumores favorece avaliações mais acuradas do prognóstico e dos desafios quanto a eficiência e qualidade do tratamento quimioterápico (VAIL et al., 1998).

A imuno-histoquímica (IHQ) anti-FeLV é um método de diagnóstico eficiente para correlacionar o quadro tumoral ao agente etiológico, servindo para a detecção dos antígenos virais em células infectadas (REINACHER, 1989; JACKSON et al., 1993; MÜLLER et al., 2009; SUNTZ et al., 2010). Entre as décadas de 80 e 90, avaliações imuno-histoquímicas de tecidos neoplásicos linfóides determinaram a associação do FeLV com cerca de 70% dos casos (HARDY, 1981; JACKSON et al., 1993; STÜTZER et al., 2011). Já pesquisas mais atuais mostram intensa redução nesse número, sugerindo que outros oncogenes e a carcinogênese epigenética tomam a frente como importante causa da tumorigênese dos gatos, não sendo o FeLV o maior causador de tumores em gatos (STÜTZER et al., 2011).

Não obstante, todas essas informações remetem a países desenvolvidos, principalmente da Europa e América do Norte, onde essas infecções já possuem planos de controle consolidados e eficientes, que consistem principalmente em medidas profiláticas, castração e vacinação (ROJKO et al., 1989; VAIL et al., 1998; POHLMAN et al., 2009).

No Brasil, poucos trabalhos demonstram a relação da infecção por FeLV, com o surgimento das neoplasias de origem hematopoiética, bem como são escassos os estudos que utilizam a IHQ como métodos de detecção de antígenos virais nos tecidos neoplásicos, tampouco fazendo correlação com as inúmeras apresentações macro e microscópicas. Investigar a relação entre as neoplasias hematopoiéticas e a infecção por FeLV tende a instigar a implantação de medidas de controle e prevenção que favoreçam o aprimoramento da qualidade de vida dos gatos domésticos, assim como já ocorre em países desenvolvidos.

Este trabalho objetiva efetuar a caracterização anatomopatológica dos linfomas e leucemias em gatos domésticos enviados ao Laboratório de Patologia Animal (LAPA) do CAV/UEDESC - Lages, e avaliar a correlação destas neoplasias com a infecção por FeLV, através de estudo retrospectivo e prospectivo do período de 1995 a 2017.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Efetuar a caracterização anatomopatológica dos linfomas e das leucemias em gatos domésticos enviados ao Laboratório de Patologia Animal (LAPA) do CAV/UDESC, Lages e avaliar a correlação dos achados macro e microscópicos com a infecção por FeLV, através de estudo retrospectivo e prospectivo do período de 1995 a 2017.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a. Descrever a topografia dos linfomas em gatos domésticos de acordo com a localização;

b. Realizar a caracterização histológica dos linfomas de acordo com o grau (alto, intermediário e baixo) e morfologia celular (imunoblástico, linfoblástico, misto, clivado, não-clivado, células pequenas e células grandes);

c. Classificar as leucemias de acordo com o tipo de precursor celular envolvido (mieloide ou linfoide) e curso de evolução (agudo ou crônico);

d. Determinar as principais alterações macroscópicas associadas ao desenvolvimento dos linfomas e das leucemias em gatos domésticos;

e. Detecção do vírus da FeLV através da imuno-histoquímica nos gatos com linfoma e leucemia, correlacionando a infecção viral com o desenvolvimento tumoral, topografia dos tumores, gênero e idade dos animais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O grupo das neoplasias de origem hematopoiética é composto por diversificados tumores com origem em precursores mieloides (eritrocíticos, granulocíticos, megacariocíticos ou trombocíticos e monocíticos) e dos linfócitos T, B e *Natural Killer* (NK). Na maioria dos casos, a morfologia da célula neoplásica se assemelha fenotipicamente às células em estado de diferenciação e maturação típicas (MORRIS; DOBSON, 2008; KUMAR et al., 2010). Compõe esse grupo os linfomas e leucemias, que se diferem primordialmente pelo local de origem (LIEBER, 2016). Os linfomas e as leucemias são os tumores mais comuns em gatos domésticos, a incidência chega a ser 60 a 90% maior do que nas outras espécies animais (GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998). Décadas atrás o desenvolvimento dos tumores hematopoiéticos nos gatos possuía íntima associação com a infecção por FeLV, entretanto, com o passar dos anos e com a implementação de medidas de controle da infecção nos países desenvolvidos, essas neoplasias tenderam a ser uma enfermidade da senescência, sendo a associação com o FeLV atribuída comumente aos gatos mais jovens (GABOR; CANFIELD; MALIK, 1999; VAIL; KAREN, 2006; ARGYLE; PECCEU, 2016).

3.1 LINFOMAS

Quando as células neoplásicas se originam e proliferam em formações nodulares em linfonodos, baço, timo e demais órgãos linfoides periféricos, passam a constituir o linfoma. Porém, quando as células neoplásicas primordiais se proliferam na medula óssea e tornam-se circulantes na corrente sanguínea, sem necessariamente formar uma estrutura sólida ou nodular, denomina-se leucemia linfóide (HARVEY, 2012). Ou seja, a principal distinção entre o linfoma e a leucemia é a formação de massas ou nódulos de células neoplásicas e a presença de células neoplásicas em grande quantidade na circulação sanguínea (VALLI, 2007).

Essa alteração maligna no desenvolvimento celular, independente do foco primário, acarreta em inúmeras alterações das funções imunológicas do organismo, decorrendo em imunocomprometimento persistente e infecções bacterianas, fúngicas, virais ou protozoárias oportunistas (MORTON et al., 2007). Não são raros os linfomas que apresentam uma manifestação leucêmica, ou seja, células

neoplásicas circulantes na corrente sanguínea, e não obstante, é passível a evolução desse quadro para uma leucemia verdadeira no caso dos linfomas refratários a quimioterapia (KUMAR et al., 2010).

O linfoma é o tumor do sistema hematopoiético mais comum nos animais de companhia, abrangendo cerca de 50 a 90% das neoplasias desta origem em gatos domésticos (MORRIS; DOBSON, 2008). Há duas principais diferenciações de linfoma, principalmente relacionados à sua característica morfológica e comportamento biológico: o Hodgkin, onde o componente neoplásico primordial, a célula de *Reed-Sternberg*, é menos numeroso do que o componente inflamatório maduro típico (MENÉNDEZ, 2004), e o não-Hodgkin, com células neoplásicas de maior grau de malignidade e pior prognóstico (ROBB-SMITH, 1982).

A associação dos linfomas com o FeLV em gatos começou a ser efetivamente discutida entre os anos de 1960 a 1980, onde relacionaram-se 60 a 70% dos casos desta neoplasia à presença de antígenos virais no organismo dos pacientes (FRANCIS; COTTER; HARDY, 1979; HARDY, 1981).

Nos gatos domésticos, os linfomas tímicos, mediastinais e multicêntricos são originados comumente de linfócitos T, e em sua maioria estão geneticamente associados ao FeLV após a agregação do provírus oncogênico no genoma dos linfócitos (HARTMANN, 2012a). Em contrapartida, os linfomas de origem alimentar têm origem predominante em linfócitos B, não sendo totalmente excluída a associação com o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) (CALLANAN et al., 1996), concomitante ou não à alteração genética do precursor linfoide provocada pela interação genômica do FeLV (POHLMAN et al., 2009; NELSON; COUTO, 2010).

Estudos progressos descrevem que o desenvolvimento do linfoma alimentar com a infecção pelo FeLV alcança aproximadamente 30% a 60% (determinados pela presença do provírus no genoma do linfócito neoplásico) e de aproximadamente 50% para FIV (GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; VAIL et al., 1998; MORRIS; DOBSON, 2008). Em um estudo utilizando a imuno-histoquímica (IHQ) para diferenciar o genótipo dos linfomas em gatos constatou-se que 54% (38/70) eram positivos para FeLV, sendo que 67% (47/70) originavam de linfócitos T e 27% (19/70) de linfócitos B, além de 5,71% (4/70) que não demonstraram marcação (JACKSON et al., 1996).

Acredita-se que a partir da década de 70, houve uma redução da incidência de tumores linfoides relacionados ao FeLV, principalmente em países

desenvolvidos, fato diretamente atrelado à introdução de medidas profiláticas já na década seguinte (JACKSON et al., 1996).

3.1.1 Classificação anatomopatológica dos linfomas

Na rotina veterinária o linfoma é costumeiramente classificado de acordo com sua topografia em multicêntrico, mediastinal, alimentar, cutâneo e extranodal, pouco se atentando às características fenotípicas e genotípicas (GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; LOUWERENS et al., 2005; VEZZALI et al., 2010; VALLI, V. E.; BIENZLE, D.; MEUTEN, D. J., 2017). A literatura médica clássica apresenta uma diferenciação vasta e de alta especificidade quanto ao comportamento clínico, localização anatômica, fenótipo, genótipo e histopatologia, atuando como importante ferramenta na determinação do prognóstico (S.L.R. MARTINS, 2000; LINET et al., 2007; MORTON et al., 2007).

Em 1966, surgiu a primeira classificação histopatológica de linfomas, instituída por Rappaport, consistindo na avaliação do padrão de crescimento (nodular ou difuso) e no aspecto morfológico em comparação às células normais dos órgãos linfoides. Essa classificação foi amplamente utilizada ao longo dos anos em decorrência da sua simplicidade e a utilidade clínica, mas com os avanços nos ensaios clínicos e aprimoramento das técnicas diagnósticas, tornou-se cientificamente defasada.

Dentre os principais protocolos para diferenciação histológica estão as classificações para linfomas não-Hodgkin, de Rappaport (1966), de acordo com grau de malignidade de Kiel e as diretrizes do *Working Formulation* instituídas pelo *National Cancer Institute*, NCIWF (ROBB-SMITH, 1982; GABOR et al., 2001; MORRIS; DOBSON, 2008; CASALS et al., 2011).

3.1.1.1 Classificação de Rappaport, Classificação de Kiel, R.E.A.L. e W.H.O.

A classificação de *Rappaport* surgiu através de estudos realizados durante a segunda guerra mundial por Henry Rappaport, que posteriormente elaborou critérios para diferenciação dos linfomas de acordo com a sua distribuição no organismo (VALLI, 2007). Na oncologia humana, seu uso ainda é frequente e sua adaptação

para a medicina veterinária tem grande apreço. Apesar de antiga e contradita por inúmeros pesquisadores, a classificação de Rappaport ainda possui grande valor prognóstico e recebeu várias atualizações e aprimoramentos no decorrer dos anos para melhorar sua eficácia (HERNÁNDEZ; KRUEGER; GLATSTEIN, 1997; VEZZALI et al., 2010).

O principal critério de classificação segundo Rappaport, é a diferenciação de arquitetura tumoral em “difuso” e “nodular” e subsequente avaliação qualitativa da célula neoplásica, denominando os tumores como “linfocítico bem diferenciado”, quando repletos por células maduras altamente distintas; “linfocítico pouco diferenciado”, composto por células maduras pobremente diferenciadas; “linfocítico e histiocítico misto”, quando compreende os linfonodos e do sistema monocítico-fagocitário; “histiocítico”, envolvendo unicamente o sítio monocítico-fagocitário; “linfoblástico”, com células imaturas e de alto grau de malignidade; e “indiferenciado” (RAPPAPORT, 1988; VALLI et al., 2000; VALLI, 2007).

Diferente da classificação estipulada por Rappaport, Karl Lennert (1974) optou por diferenciar os linfomas de acordo com o grau de malignidade histológica, considerando-os de “alto” ou “baixo” grau, além disso, introduziu o termo “centroblástico” para os tumores foliculares de células grandes para substituir o termo “linfocítico e histiocítico misto” determinado pela pragmática de Rappaport, instituindo assim a Classificação de Kiel. Também adiciona o termo “plasmocitoide” para os linfomas com diferenciação intermediária (VALLI, 2007).

Uma das classificações mais complexas para diferenciação de linfomas foi a desenvolvida pelo *International Lymphoma Study Group* em 1994, e recebeu a denominação de R.E.A.L. (*Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms*) (HARRIS et al., 1994, 2000). Esse sistema adota uma nova abordagem para diferenciar as células, avaliando em conjunto morfologia, imunofenotipo, características genéticas, moleculares e clínicas para definir a enfermidade como um todo, excluindo os tipos histiocíticos e extinguindo a graduação proposta por outros autores, acreditando que a mesma possa se apresentar transitória em qualquer tipo de linfoma (HARRIS et al., 2000; VALLI, 2007; JAFFE et al., 2008).

A classificação mais atual e completa foi instituída pela *World Health Organization* em 1999 e é revisada periodicamente. Consiste numa avaliação criteriosa morfológica e imuno-histoquímica que leva em consideração critérios já estipulados pelo método R.E.A.L. em conjunto com novas investigações de genética

molecular e comportamento clínico, o que torna essa classificação é a mais segura para elaboração de prognósticos clínicos (HARRIS et al., 1999, 2000; SWERDLOW et al., 2016).

3.1.1.2 *National Cancer Institute Working Formulation para Linfomas*

Semelhante a classificação de Kiel, a *Working Formulation* instituída pelo *National Cancer Institute*, NCIWF, de 1982, diferencia as neoplasias de acordo com o grau de malignidade, em “baixo”, “intermediário” e “alto” grau, e não diferencia imunologicamente os linfócitos T e B primordialmente, sendo esta diferenciação realizada somente após a instituição da IHQ, onde diversas subdivisões de importância pouco aplicada à medicina veterinária até o momento, foram implementadas (ROBB-SMITH, 1982; HARRIS et al., 1999; VALLI et al., 2000; MORTON et al., 2007; VALLI, 2007; POHLMAN et al., 2009).

O *Working Formulation* foi elaborado em resposta a dificuldade de especialistas em adotar uma pragmática para diferenciação dos tumores linfoides, e não consistia em uma nova formulação para a classificação dos linfomas, mas num sistema de tabulação que permite garantir que os diagnósticos tenham um padrão uniforme de nomenclatura de acordo com as características morfológicas específicas de cada tipo tumoral (ROBB-SMITH, 1982; VALLI et al., 2000).

3.1.2 Aspectos clínicos do linfoma

Os sinais clínicos intrínsecos ao quadro de linfoma estão diretamente relacionados ao local de origem da neoplasia, a extensão do mesmo e o tipo celular. O curso das lesões tem grande importância para a suposição do tipo celular, podendo auxiliar na elaboração do prognóstico e tratamento (VAIL; KAREN, 2006; BARRS; BEATTY, 2012).

Animais com linfoma multicêntrico desenvolvem linfadenomegalia sistêmica, acompanhada normalmente por hepatoesplenomegalia. A apresentação clínica é muito variável, podendo ser representada por sinais de qualquer sistema do organismo. Este fato está atrelado a capacidade de as células neoplásicas infiltrar-se em múltiplos órgãos (GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; VAIL; KAREN, 2006).

Normalmente esse tipo de linfoma possui alto grau de malignidade o que lhe atribui piores prognósticos (CHINO et al., 2013; SATO et al., 2014).

Angústia respiratória e efusões pleurais são frequentes em linfomas mediastinais, não obstante quadros de tosse, edema facial e regurgitação também são observados. A palpação gentil do tórax normalmente permite a identificação da massa e o diagnóstico por imagem, nestes casos, é bastante eficiente (HAWKINS, 2010).

Linfomas alimentares normalmente cursam com linfadenomegalia mesentérica palpável durante exame externo (VAIL; KAREN, 2006). Também se relata perda de peso progressiva, vômito, diarreia e anorexia parcial ou completa. Alguns gatos podem manter o apetite normal e até mesmo desenvolver polifagia. Polidipsia e letargia podem ser relatadas, entretanto costumam ser sinais pouco comuns e de alta cronicidade (BARRS; BEATTY, 2012). O linfoma alimentar linfoblástico está associado com quadros agudos, incidindo em um prognóstico pior e numa sobrevida que varia de 6 a 7 meses. A perda de peso tende a ser mais acentuada e o desenvolvimento concomitante de doenças como lipidose hepática e pancreatite é mais comum em linfomas linfoblásticos do que em linfomas linfocíticos (GIEGER, 2011).

A infiltração neoplásica no parênquima renal tem por característica o desenvolvimento de sinais que sugerem ao clínico uma insuficiência renal aguda (IRA), quando não uma doença renal crônica (DRC) (MUNIZ; ANDRADE; VOIGT, 2017). Desta forma, a apresentação clínica mimetiza uma injúria renal que pode ter provido de qualquer origem, levando a quadros de anorexia, halitose, úlceras glossais e gengivais, hipotermia, desidratação, palidez de mucosas e distúrbios eletrolíticos. A avaliação por diagnósticos de imagem é primordial nestes casos, principalmente quando houver suspeita de alteração do tamanho dos rins mediante palpação abdominal (BOUND; PRIESTNALL; CARIU, 2011; VOCCIA, 2016; MUNIZ; ANDRADE; VOIGT, 2017).

O linfoma cutâneo ou epiteliotrópico é pouco comum em gatos se comparado às outras espécies (ROCCABIANCA et al., 2016). As lesões de pele podem aparecer de forma isolada, entretanto, é mais comum a distribuição difusa. Diferente do que se espera, os nódulos não são predominantes, mas sim a formação de placas eritematosas, seborreicas, alopecias e ocasionalmente ulceradas. A hipopigmentação nasal também é descrita frequentemente. O prognóstico é muito

variável e indivíduo-específico (FONTAINE; HEIMANN; DAY, 2011; ROCCABIANCA et al., 2016).

Quadros neurológicos estão associados normalmente a infiltrações neoplásicas em vasos sanguíneos das meninges ou nos vasos mais profundos do neurópilo e os sinais clínicos correlacionam-se com o local onde o tumor irá se infiltrar. Os principais sinais são as alterações de nervos cranianos, crises de epilepsia, alterações comportamentais, hipo e/ou hiperreflexia, inabilidades motriciais, entre outras (FONDEVILA; VILAFRANCA; PUMAROLA, 1998; VALLI, 2007; SANT'ANA et al., 2010).

3.2 LEUCEMIAS

As leucemias mieloides e linfoides são proliferações neoplásicas de células hematopoiéticas relativamente incomuns em animais domésticos, e podem envolver ou não a circulação sanguínea periférica (HENRY, 1999; ADAM et al., 2009). É comum a infiltração destas células neoplásicas, as quais denominam-se leucêmicas, em outros órgãos como fígado, baço e linfonodos (KUMAR et al., 2010).

As alterações oncogênicas que dão origem ao clone leucêmico independe do estágio de maturação do precursor mielóide ou linfóide, em qualquer fase hematopoiética (SILVA et al., 2006). A célula tronco da medula óssea possui extrema plasticidade, sendo capaz de diferenciar-se em inúmeras outras células. Em seu ciclo normal no interior da medula sofrem alterações fenotípicas para tornar-se células mieloides indiferenciadas, que, por sua vez, darão origem às unidades formadoras de colônias de monócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, megacariócitos e eritrócitos, e células linfoides indistintas, que irão se diferenciar em linfoblastos, T ou B, e células dendríticas (HARVEY, 2012). O conhecimento do ciclo hematopoiético permite classificar a leucemia

em 1976 pela *French-American-British Co-operative group* (FAB), que teve inúmeras complementações em anos subsequentes, adicionando critérios imunológicos no auxílio diagnóstico, conquanto a caracterização morfológica se manteve a mesma (BENNETT et al., 1976, 1991). De forma direta, essa classificação utiliza em linfóide e mielóide, e a maturação apresentada pelas componentes celulares neoplásicos é determinante na diferenciação do quadro agudo e crônico na maior parte dos casos (SILVA et al., 2006).

3.2.1 Leucemias linfoides e mieloides agudas

As leucemias agudas compreendem a proliferação de células blásticas intensamente imaturas e atípicas na medula óssea, e são caracterizadas por um comportamento biológico agressivo e de rápida evolução. Além de interferir de maneira abrupta na hematopoese, infiltra-se em órgãos periféricos como baço, fígado e linfonodos (MORRIS; DOBSON, 2008). A linhagem de células envolvidas pode ser mioelide (eritrocítica, granulocítica, megacariocítica e monocítica) ou linfóide (VAIL; KAREN, 2006).

As leucemias linfoides agudas (LLA) possuem comportamento semelhante aos linfomas, porém mesmo não se restringindo à medula e infiltrando em múltiplos órgãos, não formam massas neste processo. Morfologicamente a classificação das LLA costuma seguir o padrão estabelecido critérios de morfologia dos linfócitos para determinar a intensidade da malignidade das células e do processo neoplásico (BENNETT et al., 1976; FARIAS; CASTRO, 2004).

As leucemias mieloides agudas (LMA) são muito diversificadas, e compreendendo quatro grandes grupos de células progenitoras: granulocíticas, monocíticas, eritrocíticas e megacariocíticas (VALLI, 2007). O grupo de estudos de leucemia em animais (*Animal Leukemia Study Group - ALG*) formado em 1985, inspirado pelas ações da *American Society for Veterinary Clinical Pathology – ASVCP*, estabeleceu um padrão no diagnóstico de LMA, que serve como base até os dias atuais para o diagnóstico morfológico, originando o *Proposed Criteria for Classification of Acute Myeloid Leukemia in Dogs and Cats*, que classifica as leucemias de acordo com o tipo de precursor envolvido (VALLI, 2007; MORRIS; DOBSON, 2008; HARVEY, 2012). Nas LMA inúmeros quadros podem ocorrer, desde trombose até hemorragias por disfunção plaquetária. Há quadros onde as células neoplásicas são restritas à medula óssea, recebendo o nome de leucemias aleucêmicas (MORRIS; DOBSON, 2008). Normalmente há mielodisfunção grave, quadros de anemia, leucopenia e trombocitopenia, com alterações intensas de imunidade do animal aumentando a susceptibilidade a infecções secundárias (VAIL; KAREN, 2006; MORRIS; DOBSON, 2008; HIDDEMANN, 2016).

3.2.3 Leucemias linfoides e mieloides crônicas

Quando 30% ou mais das células nucleadas da medula óssea, com exceção das células reticulares de sustentação, forem megacarioblastos e/ou eritroblastos e/ou granuloblastos em estágio de maturação moderado a avançado, determina-se morfologicamente um quadro de leucemia mieloide crônica (LMC), diferente da leucemia linfóide crônica (LLC) que demonstra uma medula óssea sendo ocupada por cerca de 15 a 20% de linfócitos maduros ou atípicos, facilmente confundido com um linfoma linfocítico infiltrativo (BENNETT et al., 1976, 1991; KUMAR et al., 2010; CAMPBELL; HESS; WILLIAMS, 2013).

Na LLC, a infiltração medular é normalmente menos agressiva que na LLA, são observados folículos linfoides reativos cujos linfócitos mantêm seu aspecto normal na maioria dos casos (HARVEY, 2012; CAMPBELL; HESS; WILLIAMS, 2013). Na LMC, além de alguma linhagem precursora apresentar-se displásica, há hiperplasia de células da série granulocítica, havendo ou não hipoplasia eritroide ou megacariocítica. Apesar da hiperplasia granulocítica, os mieloblastos não ultrapassam 20% do total de células nucleadas na medula óssea. Mielofibrose normalmente está presente e pode ser acentuada. A LMC é considerada rara em animais, ocorrendo infrequentemente em cães (HARVEY, 2012; STACY; HARVEY, 2017).

3.2.4 Aspectos clínicos das leucemias agudas

O grande paradoxo do diagnóstico clínico das leucemias está atrelado principalmente a vaga especificidade dos sinais clínicos e físicos associados à enfermidade. Classicamente, a ocorrência de letargia, anorexia e febre persistentes com curso agudo são as queixas mais frequentes aos veterinários na leucemia aguda, indiferente da origem ser linfóide ou mieloide (COUTO, 2010). A palidez de mucosa, um indicativo importante de anemia grave, é muito frequente nas leucemias agudas e está constantemente associada à hepatoesplenomegalia reativa por hematopoese extramedular (VAIL; KAREN, 2006).

Quadros de febre, dores ósseas, hemorragias articulares e alterações hemorrágicas e hemodinâmicas no globo ocular tem maior associação com LMA, em contrapartida a infiltração em sistema nervoso central (SNC) é mais comum em

quadros de LLA (MORRIS; DOBSON, 2008). Em casos de leucemias eritroblástica e trombocitoblásticas, podem haver petéquias e sufusões na pele e nas mucosas (MORRIS; DOBSON, 2008; SHIRANI et al., 2013).

3.2.5 Aspectos clínicos das leucemias crônicas

Nas leucemias crônicas os sinais seguem os mesmos princípios dos quadros de leucemia aguda, ou seja, são vagos e pouco esclarecedores, entretanto diferente dos processos agudos, são mais frequentes em gatos (COUTO, 2010). A LLC cursa em conjunto com quadros de perda de peso progressivo, letargia, anorexia e sinais do trato gastrointestinal (vômitos e diarreia intermitentes), que perdura por longos períodos, dispensa a apresentação de anemia intensa, podendo normalmente ser somente discreta, e não há obrigatoriedade da hepatoesplenomegalia (VAIL; KAREN, 2006; MORRIS; DOBSON, 2008; COUTO, 2010).

3.3 VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV)

O vírus da FeLV possui distribuição global, é um RNA-vírus de fita simples, envelopado, da família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae* (HARTMANN, 2012a; SELLON; HARTMANN, 2012), que apresenta como principal característica a inserção do RNA viral no genoma do hospedeiro. Sua primeira descrição ocorreu em 1964, quando partículas virais foram encontradas ligadas à membrana de linfoblastos atípicos de um gato com linfoma (JARRET et al., 1964).

Esse vírus infecta principalmente gatos domésticos, porém apesar da necessidade de estudos mais apurados, existem evidências de que gatos selvagens também são susceptíveis à infecção (CALDAS et al., 2000; MAGDEN; QUACKENBUSH; MAJOR et al., 2010; VANDEWOUDE, 2011; HARTMANN, 2012;). A transmissão entre os gatos domésticos ocorre principalmente de forma horizontal através do acesso a ambientes externos, contato prolongado com portadores do vírus, uso compartilhado de bebedouros e comedouros, e agressões físicas entre os animais (NELSON; COUTO, 2010; WILLETT; HOSIE, 2013).

3.3.1 Subgrupos virais do FeLV

O FeLV é classificado atualmente em quatro subgrupos, A, B, C e T, todos imunologicamente relacionados (FIGUEIREDO; ARAÚJO JÚNIOR, 2011). O subgrupo A é o único transmitido de forma horizontal, infectando linfócitos T CD4+, T CD8+ e LB no sangue, nos linfonodos e na medula óssea, causando um quadro grave de imunocomprometimento. Os demais subgrupos, B e C, podem evoluir a partir do subgrupo A por meio de recombinação gênica com um outro gene retroviral obtido por transmissão vertical (HARDY et al., 1976; JARRETT; RUSSELL, 1978). O subgrupo T, apesar de considerado de menor importância, é altamente citolítico em linfócitos T, provocando quadros de intenso imunocomprometimento (HARTMANN, 2012a; SYKES; HARTMANN, 2014).

Há íntima relação do subgrupo B com a ocorrência de linfomas tímicos e desordens mieloproliferativas. Já o subgrupo C, menos comum, está associado ao uso de um transportador heme denominado *Feline leukemia virus subgroup C receptor-related protein 1* (FLVCR-1) expresso em grandes quantidades em órgãos hematopoiéticos, que atua como complicador na manutenção da defesa tóxica do grupo heme e consequente alteração na formação das unidades formadoras de colônias eritroides, levando a manifestação de hipoplasia eritroide severa e consequente anemia arregenerativa, que podem levar o animal à morte em até dois meses (SHALEV et al., 2009).

Ocorre uma dependência dos subgrupos B e C pelo A, já que este é responsável pela evasão imune, promoção da replicação viral e resgate dos virions defeituosos de B e C para replicação (VAIL; KAREN, 2006; MORRIS; DOBSON, 2008). O FeLV tipo C está relacionado a anemia arregenerativa por alteração mielodisplásica (HARTMANN, 2012a). O subgrupo T recebe essa denominação devido ao intenso tropismo por linfócitos T e forma-se a partir de uma mutação no gene *env* do FeLV tipo A (LUTZ et al., 2009).

3.3.2 Características biológicas e implicações clínicas do FeLV

A replicação do FeLV ocorre primeiramente no tecido linfoide e nos macrófagos da orofaringe, sem necessariamente a expressão de sinais clínicos (ROJKO et al., 1979). A Transcriptase reversa (RT) transcreve o RNA em DNA

proviral que se integra ao genoma das células. O provírus transcrito possui múltiplas e longas sequências repetidas (LTR) nas extremidades 3' e 5', controlando a expressividade dos genes virais. Como as infecções por retrovírus raramente provocam a morte celular, quando inserido no DNA, o vírus se perpetua nas próximas gerações das células infectadas (HARTMANN, 2012a).

O FeLV pode apresentar tipos de infecção diferentes: progressiva, regressiva, abortiva e focal (HOFMANN-LEHMANN et al., 2008). Quando a imunidade específica contra o vírus é insuficiente e sua replicação não é contida no início da infecção, irá se replicar no tecido linfóide e seguir para a medula óssea, epitélios de mucosas e glândulas, caracterizando uma infecção progressiva (ROJKO et al., 1979; LEVY et al., 2008). Em contrapartida, se houver uma resposta imune eficaz que consiga antagonizar a infecção antes ou logo no início da chegada à medula óssea, o animal desenvolve uma infecção regressiva (HOOVER et al., 1976). Apesar de adquirir imunidade contra o vírus, situações de estresse imunológico que levem a um novo quadro de imunocomprometimento, podem ocasionar reativação do provírus latente. A chance de reativação viral é inversamente proporcional ao tempo após o primeiro contato com o agente, quanto mais tardia a tentativa de reativação, mais chances de insucesso irão existir, devido a erros na decodificação genética viral (LEVY et al., 2008; MAJOR et al., 2010).

Gatos infectados de forma persistente permanecem em condição de viremia e sempre serão fontes de infecção, e é comum apresentarem testes positivos para detecção de antígenos específicos. O quadro de infecção persistente é mais comum em gatos jovens imunocomprometidos; nesses casos a sobrevivência média é de 3,5 anos (LEVY et al., 2008; SYKES; HARTMANN, 2014).

As formas abortiva e focal da infecção estão associadas a exposições sutis ao vírus e, nestes casos, o desenvolvimento de viremia é incomum. Essas duas formas de infecção raramente ocorrem de forma natural, sendo mais frequente em inoculação experimental. Na forma abortiva há produção de anticorpos contra FeLV e na forma focal evidenciam-se resquícios do DNA viral somente em alguns tecidos (MAJOR et al., 2010; SYKES; HARTMANN, 2014).

O quadro clínico clássico de um animal infectado por FeLV se manifesta por imunocomprometimento, anemia arregenerativa e o desenvolvimento de linfomas e leucemias (LUTZ et al., 2009). O FeLV possui grande capacidade de ativar e transcrever genes celulares adjacentes, fato que está relacionado a região U3 do

Long Terminal Repeat (LTR) no RNA viral. Atrofia de timo, linfopenia, neutropenia, alteração da função dos neutrófilos e perda dos linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ também estão associadas à infecção pelo FeLV e, devido a essas alterações, todos os gatos infectados e com viremia persistente apresentam um grau elevado de imunocomprometimento, que pode favorecer o aparecimento de enfermidades causadas por infecções oportunistas, tais como micoplasmose, toxoplasmose e criptococose (LUTZ et al., 2009).

3.3.3 Interação oncogênica

A inserção do material genético viral no genoma hospedeiro em regiões próximas a oncogenes celulares levam a mutações genéticas somáticas que propiciam a clonagem de células anômalas onde há integração do genoma viral, assim propiciando a formação das neoplasias (GHOSH; FALLER, 1999; FUJINO; OHNO; TSUJIMOTO, 2008). Os sítios de integração comumente envolvidos no processo de ativação oncogênica para formação tumoral são *c-myc*, *flvi-1*, *flv-2*, *fit-1*, *pim-1* e *flit-1* (FUJINO; OHNO; TSUJIMOTO, 2008). A infecção pelo vírus está associada principalmente ao desenvolvimento de linfomas e leucemias, apesar disso partículas virais já foram identificadas através de avaliação IHQ anti-FeLV em fibrossarcomas, meningiomas, osteossarcomas e carcinomas de células escamosas em animais infectados (REINACHER, 1989). Os quadros leucêmicos relacionados ao vírus podem envolver tanto a linhagem mieloide, quanto a linhagem linfoide, e o início é agudo na maioria dos casos, porém a literatura aponta que quadros de LLC são mais comuns em animais FeLV positivos (WORKMAN; VERNAU, 2003).

3.4 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DO FeLV

O exame de IHQ detecta antígenos virais intracelulares em células infectadas por FeLV, permitindo identificar se as alterações anatomopatológicas observadas estão relacionadas a infecção, sendo considerado um dos melhores métodos de diagnóstico *post mortem* em tecidos fixados em formol (REINACHER, 1989; JACKSON et al., 1993; SUNTZ et al., 2010). As principais células infectadas por FeLV são as mielomonocíticas da medula óssea, linfócitos T e macrófagos (ROJKO & OLSEN, 1984). A avaliação por IHQ da medula óssea e do baço é considerada

suficiente para detectar a infecção persistente pelo vírus em mais de 99,9% dos gatos infectados (REINACHER, 1989). Em um estudo experimental com inoculação de FeLV em 34 gatos hígidos, em 50% desses (17/34) o antígeno viral foi detectado uma semana antes na medula óssea, por meio de avaliação antígeno-específico no tecido, com relação a detecção no sangue (HOOVER et al., 1977).

A positividade para FeLV na IHQ pode não ser expressiva em casos que estejam relacionados à infecção regressiva, visto que em países desenvolvidos a infecção por FeLV é controlada. Nesses casos há um grande número de gatos que não expressam antígenos virais na medula óssea, mas demonstram-se positivos na reação em cadeia da polimerase (PCR) (SUNTZ et al., 2010).

Jackson et al. (1993) realizaram um estudo comparando técnicas de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), PCR e IHQ para o diagnóstico de FeLV. A avaliação compreendeu 70 gatos portadores de linfoma; destes, 80% (56) foram positivos no PCR, 57% (40) no PCR e IHQ; 27% (19) no ELISA, PCR e IHQ; 10% (7) foram negativos no ELISA e IHQ, porém positivos no PCR e 1,4% (1) positivo apenas na IHQ. Outro estudo com 77 gatos com linfoma ou leucemia, demonstrou 39 gatos positivos para FeLV simultaneamente por ELISA, PCR e IHQ, entretanto, dos 77 dois foram positivos unicamente por IHQ. Esse fato demonstra que a IHQ é um diferencial importante no diagnóstico do antígeno viral mesmo quando outras técnicas não são capazes de determinar um diagnóstico (STUTZER et al., 2011).

Um estudo realizado em 62 gatos com diagnóstico de linfoma demonstrou que somente nove eram positivos para FeLV por sorologia (CHINO et al., 2013). Outro estudo testou sete gatos com linfoma e somente um apresentou positividade para FeLV na IHQ. Nesse estudo a maioria dos animais era idoso, concluindo-se que medidas profiláticas contra o FeLV diminuiu a incidência da neoplasia em animais jovens, entretanto, não se descarta que a infecção latente ou defeitos de replicação viral estejam associados à linfomas em animais mais velhos (PATTERSON-KANE; KUGLER; FRANCIS, 2004). Em um estudo com 50 gatos portadores de linfoma alimentar, testaram-se 16 para FeLV através de ELISA e todos obtiveram resultado negativo (POHLMAN et al., 2009).

Todos esses trabalhos vão de acordo com a situação epidemiológica atual dos países desenvolvidos, onde a vacinação e os cuidados de criação, limitaram a exposição dos gatos ao vírus, reduzindo os casos de linfomas em animais jovens e tornando mais comum o diagnóstico de linfomas alimentares em gatos idosos.

No Brasil não se observa na literatura estudos que demonstrem a real importância da infecção por FeLV no desenvolvimento de linfomas e leucemias em gatos domésticos, tampouco correlacionando a detecção antigênica através da IHQ com as características histológicas e topográficas do neoplasma. Desta forma é de suma importância investigar a associação desse retrovírus com a ocorrência de tumores hematopoiéticos no Brasil para favorecer o conhecimento técnico-científico médico veterinário e instigar a promoção de medidas de controle e prevenção que favoreçam a qualidade de vida dos gatos domésticos.

4 CARACTERIZAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE LINFOMAS EM GATOS DOMÉSTICOS E A CORRELAÇÃO COM O VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV)

ANATOMOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF LYMPHOMAS IN DOMESTIC CATS AND CORRELATION WITH FELINE LEUKEMIA VIRUS (FeLV)

RESUMO

Linfomas são neoplasias originadas do tecido linfoide primário ou secundário comuns em gatos e pode ter associação com a infecção pelo vírus da Leucemia Felina (FeLV). Até o momento não existem estudos publicados no Brasil correlacionando os tipos de linfomas ao FeLV. Esta pesquisa objetiva a caracterização anatomopatológica dos linfomas e a associação com o FeLV. Realizou-se um estudo entre os anos de 1995 a 2017 avaliando 53 gatos com linfoma no qual foi efetuado exame de necropsia, histopatológico e imunohistoquímica (IHQ) anti-FeLV (gp70). Realizou-se análise descritiva e correlação entre topografia, tipo histológico de tumor e infecção pelo FeLV. Quanto ao gênero, 50,94% (27/53) eram fêmeas e 49,06% (26/53) machos, todos os filhotes possuíam um ano (13,21%, 7/53), adultos (60,38%, 32/53) com média de 3,56 anos e idosos (16,98%, 9/53) de 12,88 anos. Os linfomas multicêntricos eram 43,4% (23/53), mediastinais 33,96% (18/53), renais 11,32% (6/53), hepáticos 5,66% (3/53), linfonodais 3,77% (2/53) e alimentar 1,89% (1/53). Histologicamente predominaram os linfomas de células pequenas não clivadas (33,96%, 18/53), seguidos pelos mistos difusos (22,64%, 12/53), imunoblásticos (15,11%, 8/53) e linfoblásticos (11,32%, 6/53). Houve positividade para FeLV em 56,6% (30/53), distribuída igualmente entre gêneros e predominando em adultos. A associação dos linfomas com o FeLV foi superior à encontrada em outros países. Animais entre um e quatro anos foram os que mais desenvolvem tumores mediastinais e multicêntricos.

Palavras-chave: medicina felina, linfócito, tumor, retrovírus

ABSTRACT

Lymphomas are neoplasms originating from primary or secondary lymphoid tissue very important for cats due to their association with Feline Leukemia virus (FeLV) infection. So far there are no studies published in Brazil correlating the types of lymphomas to FeLV infection. This research aims the anatomopathological characterization of lymphomas and the association with FeLV. A study were carried out between 1995 and 2017, evaluating 53 cats with lymphoma, performing necropsy, histopathological examination and anti-FeLV immunohistochemistry (IHC) anti-FeLV (gp70). Descriptive analysis and correlation between topography, histological type of tumor and infection with FeLV were made. Females comprised 50,94% (27/53) cases and males 49,06% (26/53); all kitten had one-year-old (13,21%, 7/53), adults (60,38%, 32/53) had a mean of 3,56 years and elderly (16,98%, 9/53) 12,88 years. The topographic distribution showed 43,4% (23/53) multicentric, 33,96% (18/53) mediastinal, 11,32% (6/53) renal, 5,66% (3/53) hepatic, 3,77% (2/53) lymphonodal and 1,89% (1/53) alimentary. The predominant histological types of lymphoma were small non-cleaved cells (33,96%, 18/53), diffuse mixed cells (22,64%, 12/53), immunoblastic (15,11%, 8/53) and lymphoblastic (11,32%, 6/53). There was positivity for FeLV in 56,6% (30/53), equally distributed between genders and predominating in adults. The association of lymphomas with FeLV was superior to that found in other countries, animals between one and four-years-age are the ones that most developed mediastinal and multicentric tumors.

Palavras-chave: feline medicine, lymphocyte, tumors, retrovirus

4.1 INTRODUÇÃO

Os linfomas são neoplasias de grande importância para os gatos domésticos, chegando a alcançar 50 a 90% de todas as neoplasias de origem hematopoiética (COUTO, 2010; VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Essas neofomações são originárias do tecido linforeticular, normalmente associadas a tecidos linfoides primários ou secundários, e costumam ser grandes desafios diagnósticos para clínicos e patologistas (TWOMEY; ALLEMAN, 2005; VAIL; KAREN, 2006; VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Na maioria dos casos a morfologia das células

neoplásicas possui características fenotípicas muito semelhantes às células maduras diferenciadas, tornando o diagnóstico genotípico (em linfócitos T ou B) extremamente difícil por métodos convencionais (KUMAR et al., 2010).

Com tantas classificações distintas, o *National Cancer Institute* dos Estados Unidos da América (EUA), elaboraram o *Working Formulation* (NCI-WF) como uma nova pragmática para a diferenciação dos linfomas, que não consistia em uma nova formulação, mas um sistema de tabulação que permitiria a uniformização da nomenclatura de acordo com as características morfológicas das células tumorais (ROBB-SMITH, 1982; VALLI et al., 2000).

O linfoma é considerado um tumor espontâneo em muitas espécies, no entanto, nos gatos, há uma associação com a infecção pelo vírus da Leucemia Felina (FeLV), Retrovírus potencialmente oncogênicos (EDWARDS et al., 2003; VAIL; KAREN, 2006; SELLON; HARTMANN, 2012; SYKES; HARTMANN, 2014). Antes do controle de FeLV na década de 1980, a sua relação com o desenvolvimento de linfomas alcançava cerca de 70% nos EUA e até 60% em alguns países da Europa (HARDY, 1993). Com o advento das medidas profiláticas e de manejo populacional nos países desenvolvidos, esta relação se distanciou largamente (HOFMANN-LEHMANN et al., 2008; LUTZ et al., 2009; SCHERK et al., 2013; WILLETT; HOSIE, 2013; BEATTY, 2014). Em 2003 a infecção por FeLV estava relacionada somente a 15% dos casos de linfoma nos EUA e, em 2012, cerca de 13% na Alemanha (LOUWERENS et al., 2005; MEICHNER et al., 2012).

Até o momento, não existem estudos publicados no Brasil que correlacionem a infecção pelo FeLV à ocorrência de linfomas e investiguem as características anatomopatológicas destes tumores. Determinar a relação entre a infecção viral com a formação dos linfomas tem grande importância para o entendimento da epidemiologia dessa neoplasia em gatos no Brasil, considerando principalmente os fatores associados à infecção pelo FeLV, a baixa adesão de programas profiláticos e de manejo populacional da espécie pelas instituições governamentais e pelos responsáveis dos animais (BIEZUS, 2017).

Este trabalho objetiva a caracterização anatomopatológica dos linfomas de gatos domésticos, seu comportamento macroscópico, de acordo com a topografia, e microscópico, de acordo com as adaptações na pragmática estabelecida pelo NCI-WF, por meio de estudo retrospectivo e prospectivo do período de 1995 a 2017,

correlacionando a infecção pelo FeLV através de investigação imuno-histoquímica (IHQ).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Estudo retrospectivo

Foram revisados os arquivos de necropsia e exame histopatológico do Laboratório de Patologia Animal (LAPA) do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), localizado no município de Lages, do período entre janeiro de 1995 a fevereiro de 2016 para recuperação de dados de necropsias realizadas em gatos domésticos, totalizando 1728 animais. Destes, foram selecionados 125 gatos que possuíam diagnóstico definitivo de linfoma, dos quais se realizou busca de histórico, blocos de parafina e lâminas histológicas. Dos 125 casos originais, foram utilizados somente os que possuíam histórico clínico, descrição de necropsia e blocos de parafina com a neoplasia e demais órgãos, totalizando 42 casos para o presente estudo.

4.2.2 Estudo prospectivo

Durante o período de março de 2016 até setembro de 2017 foram realizados exames anatomopatológicos dos gatos domésticos enviados ao LAPA, CAV/UDESC, totalizando 119 animais. Todos foram submetidos a necropsia e colheita de fragmentos de medula óssea, linfonodos, baço, timo, encéfalo, coração, pulmão, traqueia, fígado, rins, bexiga, pele, mucosa oral, conduto auditivo, globos oculares, esôfago, estômago, intestinos, pâncreas, tireoides, paratireoides e adrenais, fixados em formalina tamponada a 10%. Dos 119 animais, 22 foram diagnosticados com neoplasias hematopoiéticas, das quais 11 eram linfomas e foram incluídos nesse estudo. Destes animais, sete possuíam teste prévio para FeLV por meio de ELISA (*Snap FIV/FeLV Combo Test®*, IDEXX Laboratories).

4.2.3 Processamento de Amostras

As amostras colhidas durante a necropsia foram submetidas à clivagem, acondicionadas em cassetes e posterior processamento histológico de rotina. A partir dos blocos de parafina provenientes das amostras do estudo retrospectivo e prospectivo, foram confeccionadas lâminas histológicas para coloração padrão de Hematoxilina e Eosina. Cortes histológicos foram acondicionados em duplicata em lâminas positivadas para posterior avaliação imuno-histoquímica.

4.2.4 Classificação topográfica e caracterização histológica dos linfomas

Os casos de linfoma foram classificados de acordo com a localização topográfica, adaptada de Valli et al. (2000), em: linfonodal, quando só linfonodos eram acometidos; multicêntrico, quando a distribuição do tumor compreender múltiplos órgãos; alimentar, quando o trato digestório e linfonodos acessórios e mesentéricos foram os únicos órgãos acometidos; cutâneo, quando nódulo(s) delimitado(s) ao tegumento; esplênico, quando houver neoplasma unicamente no baço; hepático quando a infiltração localiza-se somente no fígado (nodular ou difusa); renal, nódulos unicamente nos rins (uni ou bilaterais); e mediastinal, quando a massa presente no espaço mediastinal possuir duas ou mais vezes o tamanho dos nódulos secundários. Considerou-se o tumor primário aquele cujo tamanho era superior a duas vezes os demais nódulos, à exceção dos linfomas restritos aos linfonodos. Quando mais de dois órgãos, além de linfonodos, eram acometidos por nódulos de tamanhos similares, considerou-se multicêntrico.

A classificação histológica dos linfomas foi realizada de acordo com a padronização estipulada pelo *National Cancer Institute - Working Formulation* (ROBB-SMITH, 1982) adaptada, como demonstrado no Quadro 1.

Todas as lâminas foram avaliadas por dois patologistas, considerando os mesmos critérios de diferenciação celular. Para classificação dos linfomas em células pequenas e grandes utilizou-se como parâmetro o diâmetro da hemácia (6 a 9µm) onde as células pequenas ocupavam cerca de 1 a 1,5 o tamanho da hemácia e as células grandes de 2 a 3 vezes.

As figuras de mitose foram contadas em 10 campos de maior aumento com objetiva de 40x e posteriormente fracionadas para um valor individual por campo

(/10). Durante a contagem de mitoses, não foram avaliadas células em fase de prófase para evitar a confusão com células de núcleos apoptóticos.

Quadro 1 - Classificação histopatológica dos linfomas em gatos domésticos*

| Grau | Denominação | Acrônimo |
|----------------------|--|----------|
| Baixo | Linfocítico de Células Pequenas | LCP |
| | Células Pequenas Clivadas, folicular | LCPcf |
| | Misto de Células Pequenas e Grandes, folicular | LMf |
| Intermediário | Células Pequenas Clivadas, difuso | LCPc |
| | Misto de Células Pequenas e Grandes, difuso | LMd |
| | Células Grandes | LCG |
| Alto | Imunoblásticos | IBL |
| | Linfoblásticos | LBL |
| | Células Pequenas Não-clivadas | LCPnc |

*Adaptado de Robb-Smith, 1982

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Necrose, esclerose e mineralização também foram avaliados, para tal utilizou-se o sistema de cruzes: (+) para reação discreta (um foco isolado e pequeno, que não ocupe mais do que 1 campo de maior aumento (HPF) (400x), duas cruzes (++) moderada (um foco de tamanho moderado, ocupando de 2 a 3 HPF 400x, ou múltiplos focos pequenos ou moderados) e três cruzes (+++) acentuada (ocupando mais do que 4 HPF 400x, isolados ou múltiplos).

4.2.5 Avaliação imuno-histoquímica anti-FeLV

Os cortes histológicos previamente preparados em lâminas positivadas foram submetidos à recuperação antigênica por meio de incubação em banho maria a 100°C por 40 minutos em tampão Tris-EDTA pH 9. O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado com leite desnatado em pó (Molico®) diluído a 5% em água destilada, durante 20 minutos em temperatura ambiente. O anticorpo primário anti-FeLV gp70 (Serotec®) foi diluído na proporção de 1:500 em solução salina tamponada com fosfato (PBS), e submetido à incubação em câmara úmida por 1h30min a 37° C.

Posteriormente, os cortes foram incubados com polímero *MACH 4 AP universal* (Biocare Medical®) durante 15 minutos na primeira etapa (sonda) e 30 minutos na segunda etapa (polímero). Os cortes foram revelados com o cromógeno *Warp Red™* (Biocare Medical®), contra-corados com Hematoxilina de Harris.

Controles positivos foram inseridos simultaneamente às lâminas testadas. Para catalogação, utilizou-se o sistema de cruces para denotar a intensidade da marcação, uma cruz (+) para marcação discreta, duas cruces (++) moderada e três cruces (+++) acentuada.

4.2.6 Catalogação dos dados e análise estatística

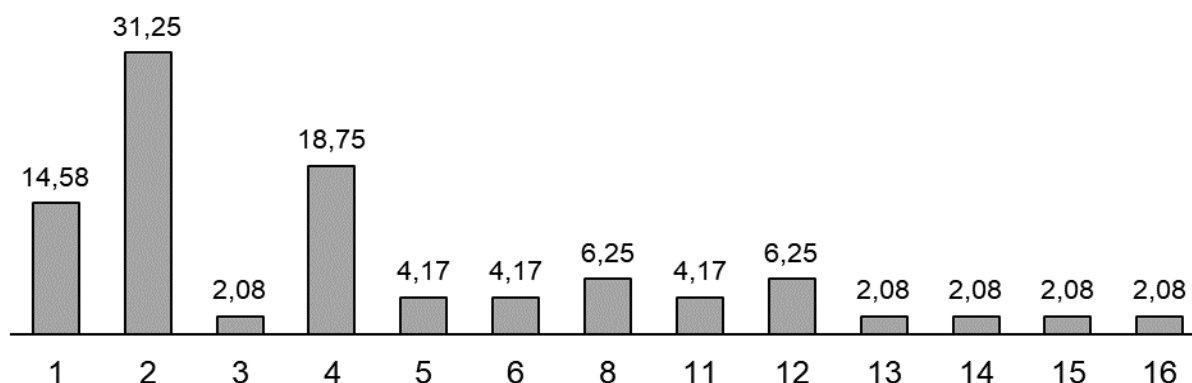
Todos os dados obtidos por meio do levantamento retrospectivo e prospectivo foram compilados em tabelas de contingência no software *Excel* para realização de análise descritiva e inferencial.

As tabelas incluíam os seguintes dados: número do registro, raça, gênero e idade, características histológicas e macroscópicas dos tumores e dos diversos órgãos. A classificação de idade foi realizada por faixas etárias em filhote, com o tempo de vida contido no período de até 1 ano de idade ou 12 meses, adulto, cuja idade seja maior ou igual a 1 ano, não excedendo 11 anos, e idoso, com idade igual ou superior a 11 anos (TRAPP et al., 2010). Para associação entre variáveis, foi realizada correlação de *Spearman* e os testes de média foram realizados através de análise de teste *T*, com intervalo de confiança de 95% ($p=0,05$) com auxílio do software estatístico *SigmaPlot*® 12.0.

4.3 RESULTADOS

No estudo retrospectivo, identificaram-se 42 gatos com linfoma e no estudo prospectivo 11, totalizando 53. Quanto ao gênero, fêmeas compreendiam 50,94% (27/53) e machos 49,06% (26/53). A maior parte dos gatos não possuía raça definida (45/53 - 84,91%), os demais 13,21% (07/53) eram siameses e 1,89% (01/53) persa. A distribuição da idade está representada na Figura 1, sendo que 13,21% (7/53) eram filhotes, 60,38% (32/53) adultos, 16,98% (9/53) idosos e 9,43% (05/53) não tiveram sua idade informada.

Figura 1 - Percentual (%) de gatos acometidos por linfoma de acordo com a idade (em anos)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Todos os filhotes tinham um ano de idade, para os adultos a média de idade foi de 3,56 anos e para os idosos 12,88 anos. Informações sobre gênero e idade estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Correlação entre gênero e faixa etária dos gatos domésticos acometidos por linfoma

| Gênero | Faixa Etária | Frequência | | Média | Idade (Anos) | | |
|--------|--------------|------------|-----|-------|-----------------|-------------------|-------------------|
| | | (%) | (N) | | DP ¹ | Min. ² | Máx. ³ |
| Machos | Filhotes | 13,64 | 3 | 1* | - | - | - |
| | Adultos | 68,18 | 15 | 3,726 | 1,795 | 1,7 | 8 |
| | Idosos | 18,18 | 4 | 13,5 | 1,118 | 12 | 15 |
| Fêmeas | Filhotes | 15,38 | 4 | 1* | - | - | - |
| | Adultos | 65,38 | 17 | 3,429 | 1,978 | 1,6 | 8 |
| | Idosos | 19,23 | 5 | 12,4 | 1,854 | 11 | 16 |

¹Desvio padrão; ²Idade mínima; ³Idade máxima; *Todos os filhotes com 1 ano de idade

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Quanto à distribuição topográfica dos linfomas, 43,40% (23/53) infiltravam-se como nódulos de tamanhos similares em mais de dois órgãos e foram considerados como multicêntricos; 33,96% (18/53) eram mediastinais; 11,32% (6/53) renais; 5,66% (3/53) hepáticos; 3,77% (2/53) linfonodais; e 1,89% (1/53) alimentares.

O linfoma multicêntrico foi a forma predominante, com maior ocorrência em fêmeas (24,53%, 13/53) com relação aos machos (18,87%, 10/53). A forma mediastínica também foi predominante em fêmeas (20,75%, 11/53) quando comparadas aos machos (13,21%, 7/53). A apresentação linfonodal só foi observada em fêmeas (3,77%, 2/53), assim como a forma alimentar em macho (1,89%, 1/53).

Os linfomas hepáticos tiveram similar ocorrência em machos (3,77%, 2/53) e fêmeas (1,89%, 1/53) e os linfomas renais ocorreram somente em machos (11,32%, 6/53).

Nos filhotes, 57,14% (4/7) apresentavam tumores mediastinais e 42,86% (3/7) multicêntricos. Nos adultos, os tumores multicêntricos ocorreram com maior frequência (40,63%, 13/32), seguidos pelos mediastinais (31,25%, 10/32), renais (15,63%, 5/32), hepáticos (6,25%, 2/32) e linfonodais e alimentares (ambos 3,13%, 1/32). Nos idosos, predominavam os tumores multicêntricos (67%, 6/9), seguidos por um linfoma renal (11%), um linfonodal (11%) e um mediastínico (11%). Nos gatos adultos, 50% (16/32) encontravam-se acima de 1,6 anos e abaixo de 3 anos de idade, e os demais abrangiam uma faixa dos 4 aos 8 anos. A frequência de distribuição de idades de acordo com a topografia dos linfomas está demonstrada na Tabela 2.

Tabela 2 - Frequência da localização anatômica dos linfomas e a idade dos gatos domésticos acometidos

| Localização Anatômica | Frequência | | Idade (anos) | | | |
|-----------------------|------------|-------|--------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| | (N) | (%) | Média | DP ¹ | Mín. ² | Máx. ³ |
| Multicêntrico | 23 | 43,4 | 5,68 | 4,51 | 1 | 15 |
| Mediastínico | 18 | 33,96 | 3,36 | 2,8 | 1 | 11 |
| Renal | 6 | 11,32 | 5,33 | 4,42 | 2 | 14 |
| Hepático | 3 | 5,66 | 4 | 2 | 2 | 6 |
| Linfonodal | 2 | 3,77 | 9 | 7 | 2 | 16 |
| Alimentar* | 1 | 1,89 | - | - | 4 | 4 |

¹Desvio padrão, ²Idade mínima e ³Máxima. *Somente um gato compõe a categoria indicada

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Dos gatos, 28,30% (15/53) apresentavam escore corporal magro, 24,53% (13/53) regular, 13,21% (07/53) caquético e 3,77% (02/53) obeso. Os 30,19% (16/53) restantes faziam parte do estudo retrospectivo e essas informações não foram obtidas no histórico.

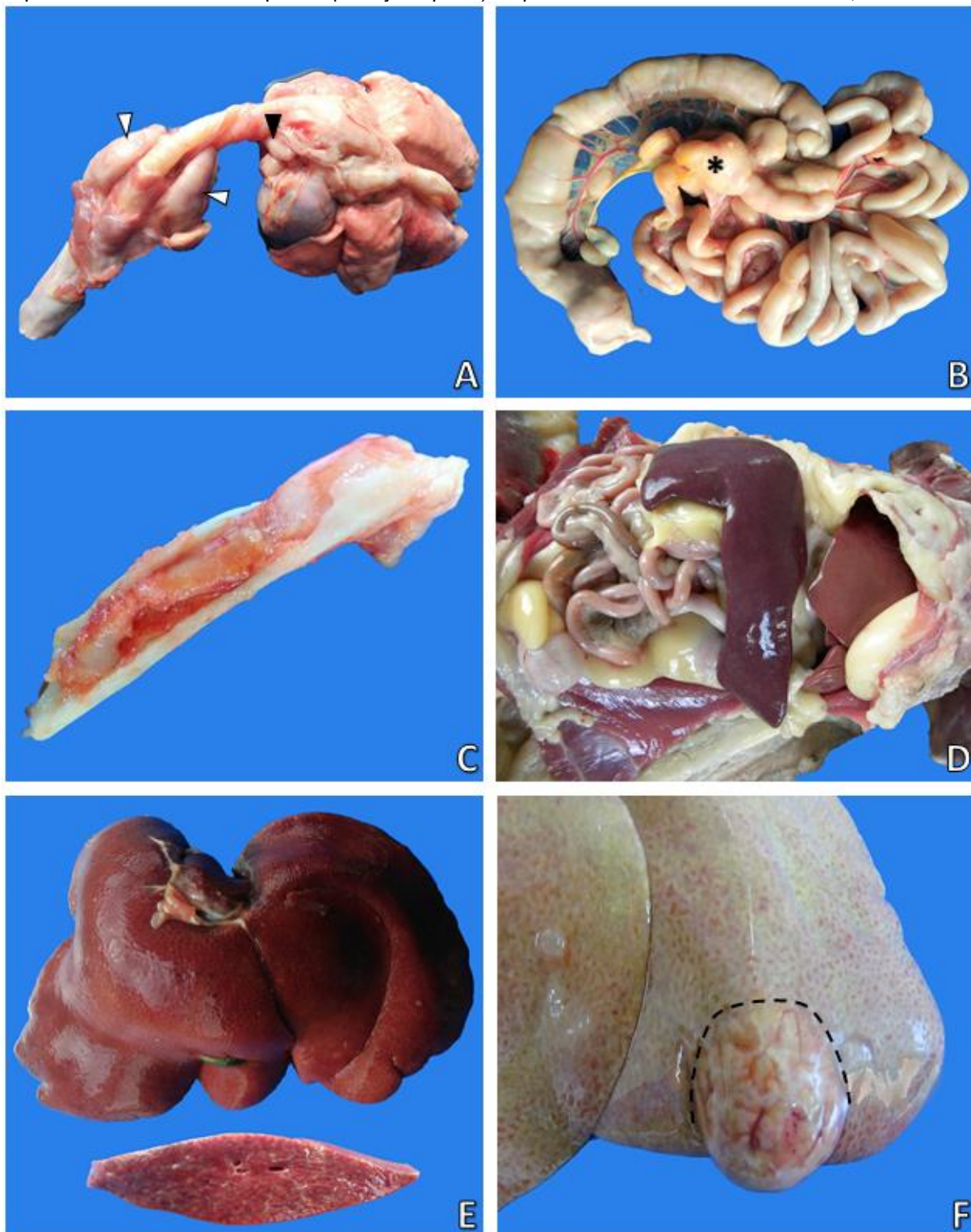
Na avaliação macroscópica dos linfomas multicêntricos, era comum observar linfadenomegalia acentuada. Os linfonodos atingiam grandes proporções, tornando-se ligeiramente firmes e algumas vezes infiltravam-se nos órgãos adjacentes, como a glândula salivar e omento (Figura 2 A, B). Quando infiltrado em medula óssea, tornava-a mais consistente e branca, de aspecto pouco gorduroso (Figura 2 C). Hepatoesplenomegalia era um achado comum (Figura 2 D) e a cor do baço era mais violácea e o aspecto trabeculado realçava-se ao corte. O fígado tendia à cor fracamente acastanhada, a superfície era difusamente rugosa e o padrão lobular era

evidente. Ao corte, a consistência variava de levemente firme a friável e se observava uma delgada formação reticular branco-amarelada entremeando o parênquima, sugerindo a infiltração neoplásica (Figura 2 E). A infiltração hepática dos linfomas multicêntricos se diferenciava das que ocorriam em linfomas hepáticos, primários, onde notava-se uma ou mais formações nodulares distendendo o órgão (Figura 2 F), além de friabilidade aumentada.

Os linfomas mediastinais normalmente constituíam massas muito expansivas que ocupavam mais de dois terços do tórax e comprimiam os pulmões dorsalmente, provocando expansão do tórax bilateralmente (Figura 3 A). Essas grandes formações envolviam com frequência o pericárdio (sem necessariamente aderir-se ao coração), traqueia, esôfago, nervos e vasos adjacentes, causando em alguns casos tamponamento cardíaco (Figura 3 B).

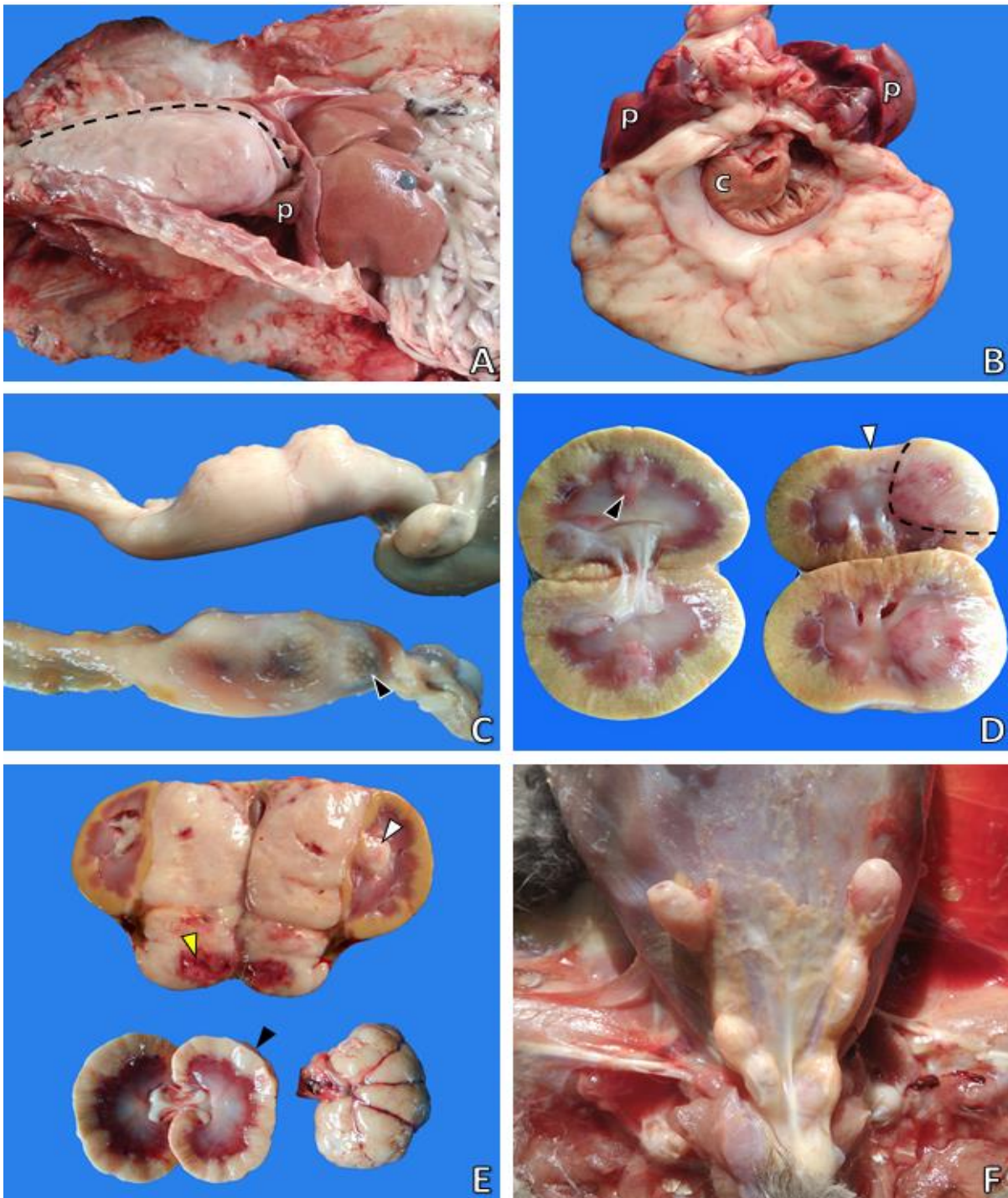
O único linfoma alimentar observado se originou em íleo, formando nódulos entre mucosa e serosa, mantendo a integridade do lúmen. Notava-se intensa proeminência dos folículos linfoides na mucosa do intestino (Figura 3 C). Quando o linfoma se originava em rins, localizava-se em córtex e medula ou em pelve renal. Havia comumente irregularidade subcapsular, com formação de nódulos únicos ou múltiplos, algumas vezes pouco diferenciáveis do parênquima, outras destoando por completo (Figura 3 D, E). Nos linfomas com apresentação linfonodal, principalmente os linfonodos satélites internos e periféricos palpáveis, demonstravam-se aumentados, difusamente brancos, entretanto, não infiltravam em outros órgãos (Figura 3 F).

Figura 2 - Distribuição topográfica dos linfomas em gatos domésticos: **(A)** Aumento acentuado dos linfonodos mandibulares com adesão e infiltração em glândulas salivares (*cabeças de seta brancas*) e mediastínicos craniais (*cabeça de seta*). Macho, 6 anos, Multicêntrico. **(B)** Linfadenomegalia mesentérica difusa, principalmente nos linfonodos jejunais (*asterisco*). Macho, 6 anos, Multicêntrico. **(C)** Infiltração difusa em medula óssea. Macho, 2 anos, Multicêntrico. **(D)** Esplenomegalia decorrente de infiltração neoplásica, notar bordos acentuadamente arredondados. Macho, 3 anos, Multicêntrico. **(E)** Infiltração neoplásica hepática discreta, com evidenciação do padrão lobular e aspecto trabeculado de feixes brancos na incidência de corte. Macho, 2 anos, Multicêntrico. **(F)** Linfoma hepático em lobo lateral esquerdo (*tracejado preto*) e lipidose difusa e acentuada. Macho, 6 anos.



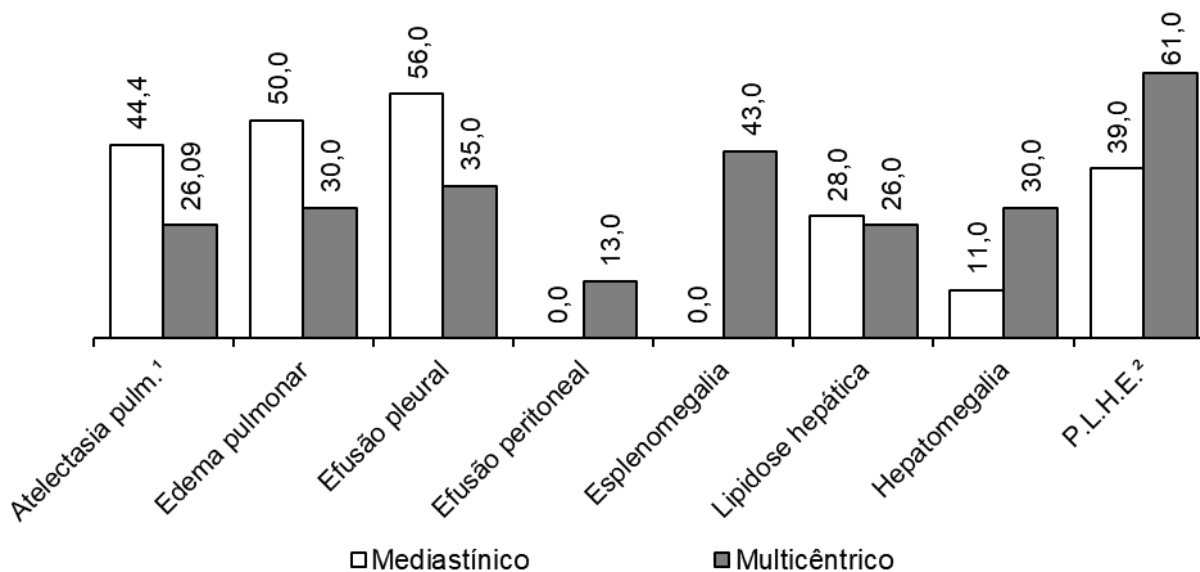
Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Figura 3 - Distribuição topográfica dos linfomas em gatos domésticos: **(A)** Massa mediastinal rósea pálida delimitada pelo tracejado ocupando todo o tórax e comprimindo dorsalmente os pulmões (*p*). **(B)** Corte transversal da massa mediastinal com o coração (*c*) envolto pela neoplasia e os lobos pulmonares atelectásicos (*p*). Fêmea, 1 ano, Mediastinal. **(C)** Linfoma em íleo, associado a espessamento de submucosa e evidência de folículos linfoides (*cabeça de seta*). Macho, 4 anos, Alimentar. **(D)** Nódulo renal delimitado pelo tracejado adjacente a uma área de fibrose (*cabeça de seta branca*), e nódulo menor no rim contralateral (*cabeça de seta preta*). Macho, 3 anos, Renal. **(E)** Rim Superior: Nódulo partindo da pelve (*cabeça de seta branca*) para o exterior do órgão, com áreas de necrose (*cabeça de seta amarela*). Macho, 2 anos, Renal; Rim Inferior: Nódulo em cortical (*cabeça de seta preta*), com aspecto multinodular bilateral. Macho, 4 anos, Renal. **(F)** Linfadenomegalia em cadeia inguinal externa. Fêmea, 2 anos, Linfonodal.



Os tumores multicêntricos e mediastinais foram os que mais demonstraram alterações macroscópicas concomitantes aos neoplasmas. Essas lesões, em sua maioria, estavam relacionadas a alterações hemodinâmicas e compressivas e estão expostas na Figura 4.

Figura 4 - Principais alterações macroscópicas concomitantes ao linfoma mediastínico e multicêntrico em gatos domésticos (%)



¹Atelectasia pulmonar; ²Padrão Lobular Hepático Evidenciado
Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Os linfomas linfocíticos de células pequenas (LCP) eram compostos por linfócitos maduros com diâmetro próximo ao de uma hemácia a uma e meia, apresentando leve a moderada atipia que se organizavam como um manto entremeado por raro estroma fibrovascular. O núcleo variava de arredondado a oval e era predominantemente hiper cromático, não permitindo a evidenciação de nucléolos (Figura 5 A). O citoplasma era pouco delimitado e, quando passível de observação, levemente eosinofílico. As infiltrações em outros órgãos normalmente não promoviam formações nodulares extensas, mas sim, discretas e sem deformar abruptamente o parênquima. Os linfomas de células pequenas clivadas (LCPc) se assemelhavam muito aos LCP, entretanto, notavam-se núcleo convolutos, com clivagem discreta e endentações na membrana nuclear, a cromatina mostrava-se densamente arranjada e os nucléolos eram inconspícuos (Figura 5 B).

Núcleos grandes, delimitados por membranas nucleares clivados, com dobras, projeções e invaginações profundas em direção ao centro, caracterizavam

os linfomas de células grandes (LCG). Na maior parte dos casos, a cromatina era densa e um nucléolo central estava presente, onde ocasionalmente unia-se através de projeções de cromatina à membrana nuclear. O citoplasma era pouco distinto, normalmente anfófilico, notava-se discreta granulação em alguns casos. O diâmetro médio destas células variava de 2,5 a 3 hemácias (Figura 5 C). Infiltrações nos tecidos cursavam com a formação de nódulos e distensão do parênquima.

Os linfomas mistos difusos (LMd) eram compostos por células com características semelhantes às citadas no LCPc e no LCG, entretanto, células grandes podem estar presentes em diversos tipos de linfoma, desta forma considerou-se o diagnóstico de LMD quando mais de 25 células grandes, com diâmetro aproximado de três hemácias (aproximadamente 25 μ m) eram observadas por um HPF 400x (Figura 5 D). Neste tipo de tumor, em especial, observava-se esclerose moderada e áreas focais de necrose, onde era observada maior proliferação de tecido conjuntivo fibroso, principalmente margeando vasos. Esse tipo de linfoma ocorreu com grande frequência, principalmente nos casos de distribuição multicêntrica, só sendo ultrapassado pelos LCPnc.

O linfoma de células pequenas não clivadas (LCPnc) eram compostas por linfócitos pequenos, porém maiores do que os linfócitos maduros, ocupando o diâmetro máximo de 1,5 hemácias (12 μ m), podendo ter também dimensões iguais ou menores do que elas. Diferente dos LCP, havia uma regularidade do tamanho de células, tanto com relação ao citoplasma quanto ao núcleo, e algumas poucas células grandes eram observadas (Figura 5 E). Os núcleos tinham cromatina moderadamente frouxa, com um a quatro nucléolos justapostos a membrana nuclear ou centrais. Existia pouco estroma delimitando as células, como característica importante deste tumor, forma-se o padrão de céu estrelado, com múltiplos e grandes macrófagos com corpúsculos tingíveis (resíduos de atividade fagocítica devido a intensa morte celular). Foi comum observar destruição do parênquima, áreas extensas de necrose central e a distensão de tecidos adjacentes nos LCPnc, além de intensa associação deste padrão histológico nos tumores mediastinais, principalmente em animais jovens.

Os linfomas imunoblásticos (IBL) tinham em sua composição células amplas e volumosas, com citoplasma anfófilico intensamente corado e pouco delimitado, algumas vezes demonstrando halo perinuclear ou aspecto vítreo. Não era incomum observar projeções discretas de citoplasma, formando urópodos ou projeções para

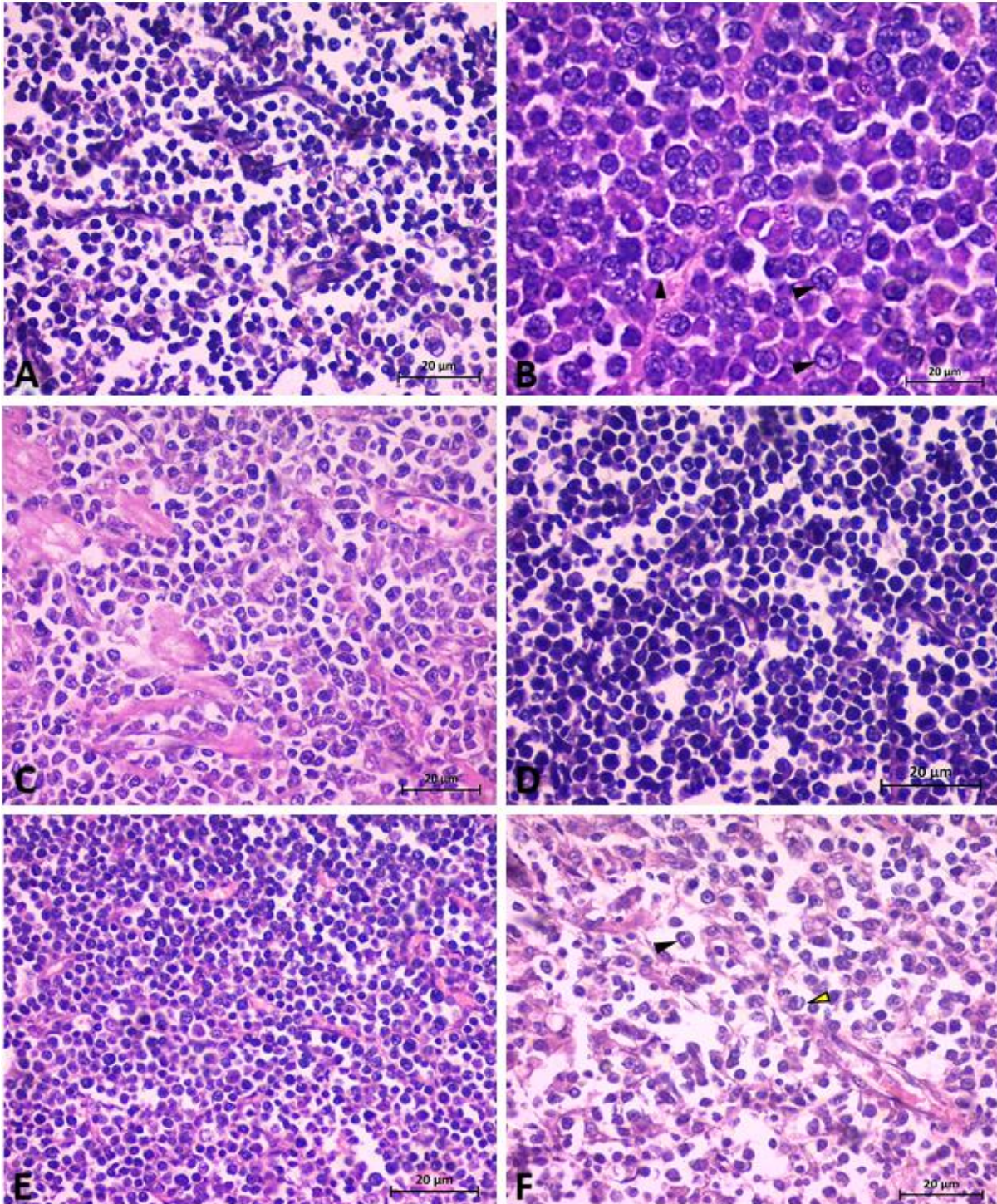
conexão intercelular. O núcleo era predominantemente central e vesiculoso com macronúcléolo central, entretanto, algumas células de aspecto vítreo possuíam núcleo periférico e hipercromático, intensamente ovalado (Figura 5 F). Eram observados linfócitos maduros típicos em meio as células neoplásicas. Apesar de semelhantes aos LCG, o núcleo possuía a cromatina arranjada em feixes direcionados para o nucléolo, formando um padrão “explosivo”.

Por fim, os linfomas linfoblásticos (LBL) eram constituídos por células grandes e possuíam núcleos predominantemente redondos a ovais, com cromatina finamente arranjada. Algumas vezes haviam núcleos convolutos ou endentados (Figura 6 A). Quando evidentes, os nucléolos eram centrais e variavam de um a dois. O citoplasma era escasso e discretamente anfófilico. Como características importantes, observou-se que existia uma intensa associação intercelular, formando algumas vezes um padrão quase geométrico entre as células, o que denominamos de organização em “mosaico”, e o padrão de céu estrelado constituído pelos múltiplos e grandes macrófagos com corpúsculos tingíveis (Figura 6 B). Também era possível observar que as células se agrupavam, formando estruturas semelhantes a ninhos (Figura 6 A, B).

Observou-se infiltração em 45,28% dos casos (24/53) no fígado, e 26,42% (14/53) nos rins, sem incluir os linfomas primários de fígado e rim, respectivamente. No fígado as infiltrações ocorreram predominantemente na forma de múltiplos micronódulos (66,67% - 16/24) e, algumas vezes, infiltravam-se às margens do espaço portal e no interior de sinusoides (33,33% - 8/24), distendendo ou não o parênquima hepático (Figura 6 C). Após o fígado, os linfonodos foram os órgãos mais expressivos às infiltrações macroscopicamente e microscopicamente (Figura 6 D), demonstrando-se aumentados, sem delimitação córtico-medular e coloração esbranquiçada homogênea em 32,08% (17/53) dos casos. O baço demonstrou infiltração em 30,2% (16/53) dos casos, e normalmente a neoplasia estava próxima aos vasos, comprimindo trabéculas e/ou justapostas à face interna cápsula esplênica (Figura 6 E).

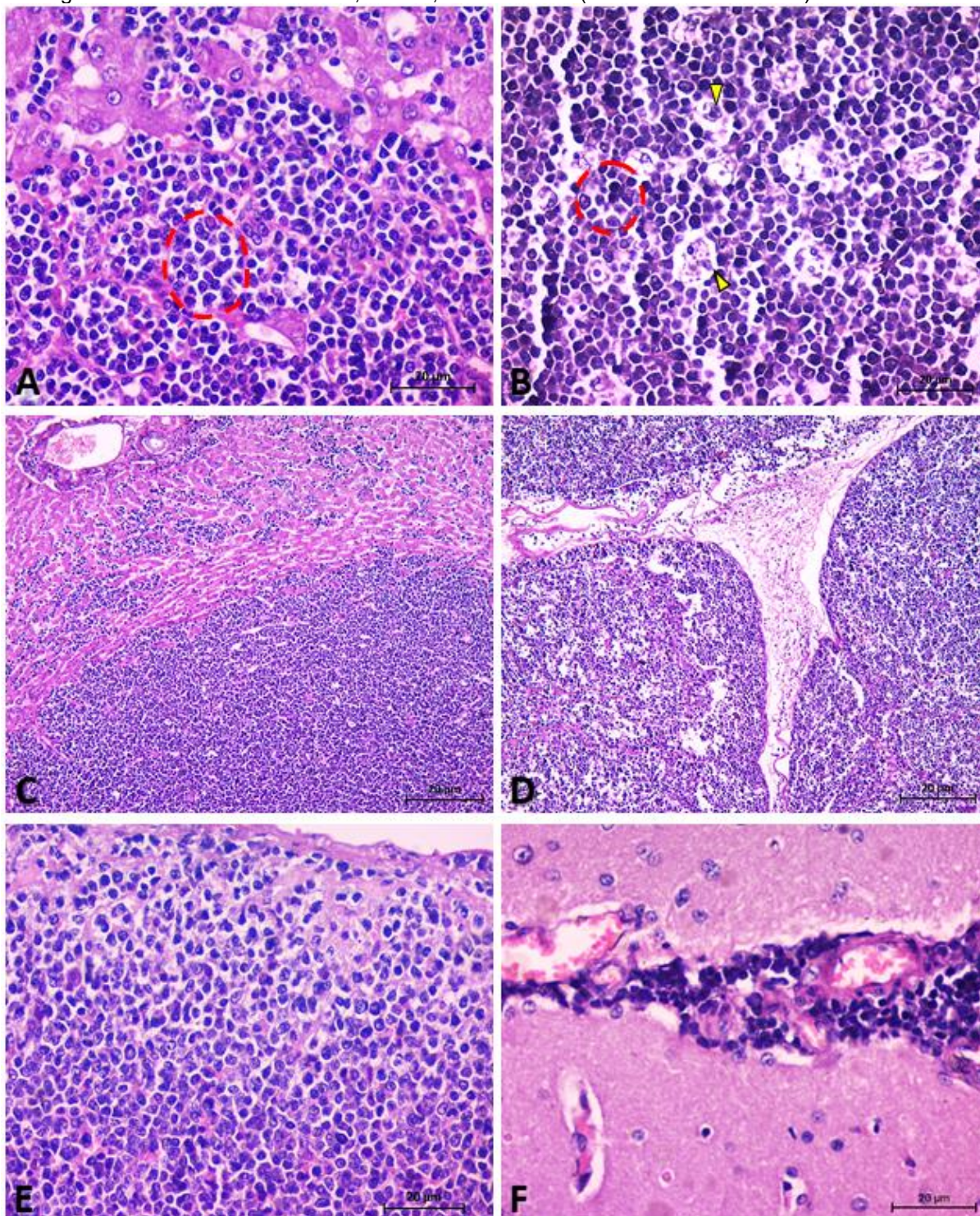
Os linfomas renais infiltravam-se nos outros órgãos principalmente no interior e ao redor de pequenos vasos, e em três dos seis casos havia infiltrações nos vasos da meninge (Figura 6 F), que algumas vezes se infiltravam de forma discreta no neurópilo. As infiltrações que ocorreram em cada órgão de acordo com a topografia dos linfomas estão apontadas na Tabela 3.

Figura 5 - Caracterização histopatológica dos linfomas em gatos domésticos: **(A)** Linfoma linfocítico de células pequenas, composto por linfócitos de tamanho similares e núcleos hipercromáticos. Macho, 4 anos, Renal. **(B)** Linfoma de células pequenas clivados, linfócitos com núcleos convolutos e projeções de cromatina formando cortes no núcleo (*cabeça de seta*). Macho, 8 anos, Multicêntrico. **(C)** Linfoma de células grandes infiltrando em coração. Fêmea, 4 anos, Multicêntrico. **(D)** Linfoma misto difuso, linfócitos pequenos e grandes em proporções semelhantes. Fêmea, Idade não informada, Multicêntrico. **(E)** Linfoma de células pequenas não-clivadas com intensa semelhança entre células. Fêmea, 4 anos, Mediastínico. **(F)** Linfoma imunoblástico demonstrando células com núcleo amplo e nucléolo central (*cabeça de seta preta*) e cromatina com disposição “explosiva” (*cabeça de seta amarela*). Macho, 12 anos, Multicêntrico. (Hematoxilina e Eosina)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Figura 6 - Caracterização histopatológica dos linfomas em gatos domésticos: **(A)** Linfoma linfoblástico no fígado demonstrando a formação de grupos celulares (*tracejado vermelho*). Fêmea, 1 ano, Multicêntrico. **(B)** Linfoma linfoblástico mediastínico com formação de grupos celulares (*tracejado vermelho*) e padrão de céu estrelado com macrófagos repletos por corpúsculos tingidos (*cabeça de seta amarela*). Fêmea, 1 ano. **(C)** Linfoma imunoblástico com infiltração hepática nodular e múltiplas células em sinusoides. Macho, 2 anos, Hepático. **(D)** Linfoma de células pequenas clivadas em linfonodo mandibular. Macho, 8 anos, Multicêntrico. **(E)** Linfoma linfoblástico infiltrado difusamente em baço. Fêmea, 1 ano, Multicêntrico. **(F)** Linfoma misto de células grandes e pequenas infiltrando em meninges do córtex cerebral. Macho, 4 anos, Multicêntrico. (Hematoxilina e Eosina)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Microscopicamente, os tumores mediastinos apresentaram lesões principalmente em pulmões e fígado. As lesões pulmonares foram as mesmas observadas na macroscopia (Figura 4). Quanto as alterações hepáticas, 66,67% (12/18) eram representadas por degeneração gordurosa. Atribui-se às degenerações e as infiltrações das células neoplásicas, o padrão lobular evidente e a hepatomegalia. Além da degeneração, 16,67% (3/18) compreendiam retenção biliar multifocal, leve.

Tabela 3 - Infiltrações de linfomas em gatos domésticos por órgão de acordo com a topografia tumoral

| Órgãos | N | % | Topografia | | | | | |
|-----------------|----|-------|------------|----------|------------|-------------|---------------|-------|
| | | | Alimentar | Hepático | Linfonodal | Mediastinal | Multicêntrico | Renal |
| Fígado | 24 | 45,28 | - | ... | 1 | 6 | 15 | 2 |
| Linfonodos | 17 | 32,08 | 1 | - | ... | 2 | 13 | 1 |
| Baço | 16 | 30,19 | - | - | 1 | 3 | 12 | - |
| Rins | 14 | 26,42 | - | 1 | - | 2 | 11 | ... |
| Medula Óssea | 12 | 22,64 | - | - | - | 3 | 7 | 2 |
| Pulmões | 10 | 18,87 | - | 1 | - | - | 7 | 2 |
| Coração | 9 | 16,98 | - | - | - | 1 | 6 | - |
| Encéfalo | 9 | 16,98 | - | 1 | - | 1 | 4 | 3 |
| Intestinos | 5 | 9,43 | ... | - | - | 1 | 4 | - |
| Bexiga | 4 | 7,55 | - | - | - | - | 2 | 2 |
| Medula Espinhal | 3 | 5,66 | - | 1 | - | - | 2 | - |
| Diafragma | 2 | 3,77 | - | - | - | - | 2 | - |
| Estômago | 1 | 1,89 | ... | - | - | - | 1 | - |
| Pâncreas | 1 | 1,89 | - | - | - | - | 1 | - |

- :Não foram observadas infiltrações; ...: Os tumores primários não foram considerados

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Nos linfomas multicêntricos as principais alterações microscópicas associadas foram degeneração gordurosa hepática (56,52%, 13/23) e retenção biliar multifocal leve (8,7%, 2/23). Ademais, nos pulmões, observou-se edema acentuado (8,7%, 2/23) e broncopneumonia supurativa (8,7%, 2/23), enquanto no baço havia hemossiderose multifocal (13,04%, 3/23) e esplenite necrotizante multifocal (8,7%, 2/23).

Os linfomas hepáticos corroboraram com o quadro de degeneração gordurosa e os renais com degeneração tubular acompanhada por fibrose intersticial em todos os casos. Somente um linfoma linfonodal demonstrou alterações microscópicas, sendo esta uma leve hipoplasia de medula óssea. O linfoma alimentar demonstrou hemossiderose esplênica e degeneração gordurosa hepática.

Quanto ao grau de malignidade tumoral, o linfoma linfocítico de células pequenas (LCP) foi o único tipo histológico de grau baixo observado, alcançando 9,43% (05/53) dos casos. Os linfomas de grau intermediário englobam 33,19% (16/53) dos casos, e são representados principalmente pelo linfoma misto (LMd) com distribuição difusa, em 22,64% (12/53) dos casos. Ainda no grau intermediário, também foram observados linfoma de células pequenas clivadas (LCPc) e linfoma de células grandes (LCG), ambos com 3,77% (2/53) casos cada. Os linfomas de alto grau ocuparam 60,38% (32/53) dos casos, desta forma sendo os de maior ocorrência nos gatos avaliados.

Dentre os linfomas de alto grau de malignidade, os de células pequenas não-clivadas (LCPnc) foram os mais diagnosticados, com 33,96% (18/53) dos casos, seguidos pelos linfomas imunoblásticos (IBL) com 15,09% (08/53) e os linfoblásticos (LBL) com 11,32% (6/53). A distribuição de frequência correlacionando o tipo histológico, o gênero e as faixas etárias está disposta na Tabela 4.

Tabela 4 - Distribuição das frequências entre o tipo histológico do linfoma, gênero e faixa etária dos gatos domésticos

| Tipo Histológico* | Gênero (%) ¹ | | Filhote | Faixa Etária (%) ¹ | |
|---------------------------|-------------------------|-------|---------|-------------------------------|-------|
| | M | F | | Adulto | Idoso |
| Grau baixo | | | | | |
| LCP | 7,69 | 11,11 | 14,29 | 6,25 | 11,1 |
| Grau Intermediário | | | | | |
| LCPc | 3,85 | 3,7 | 14,29 | 3,13 | - |
| LCG | 3,85 | 3,7 | - | 6,25 | - |
| LMd | 26,92 | 18,52 | - | 28,12 | 22,2 |
| Grau Alto | | | | | |
| IBL | 15,38 | 14,81 | 14,29 | 12,5 | 33,3 |
| LBL | 3,85 | 18,52 | 14,29 | 9,38 | 22,2 |
| LCPnc | 38,46 | 29,63 | 42,86 | 34,37 | 11,1 |

*Verificar o Quadro 1 para acrônimos. ¹Valores calculados com base no total de cada categoria

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

Na tabela 5 estão expressos de forma individual e total os graus e tipos tumorais para cada localização anatômica. Quanto às características histológicas, o padrão de crescimento difuso predominou em 96,23% (51/53), enquanto o folicular ocorreu em apenas 3,77% (2/51).

Tabela 5 - Distribuição de frequência entre o grau de malignidade, tipo histológico e topografia dos linfomas em gatos domésticos

| Tipo histológico* | Caracterização topográfica | | | | | | Total% (N) |
|---------------------------|----------------------------|-----------|------------|--------------|---------------|----------|--------------------|
| | Alimentar | Hepático | Linfonodal | Mediastínico | Multicêntrico | Renal | |
| Grau Baixo | | | | | | | 9,44% (5) |
| LCP | - | 3,77% | 1,89% | - | 1,89% | 1,89% | 9,44% (5) |
| Grau Intermediário | | | | | | | 30,18% (16) |
| LCPc | - | - | - | 1,89% | 1,89% | - | 3,77% (2) |
| LCG | - | - | - | - | 3,77% | - | 3,77% (2) |
| LMd | - | - | - | 1,89% | 16,98% | 3,77% | 22,64% (12) |
| Grau Alto | | | | | | | 60,39% (32) |
| LCPnc | - | - | - | 24,53% | 3,77% | 5,66% | 33,96% (18) |
| IBL | 1,89% | 1,89% | 1,89% | 1,89% | 7,55% | - | 15,11% (8) |
| LBL | - | - | - | 3,77% | 7,55% | - | 11,32% (6) |
| Total (N) | 1 | 13 | 2 | 18 | 23 | 6 | 100% (53) |

* Verificar Quadro 1 para acrônimos

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

A média de mitoses observadas de acordo com o grau de malignidade e o tipo histológico do linfoma estão representadas na Tabela 6. Houve correlação entre o grau de malignidade histológica e o número de mitoses ($p < 0,00$), indicando que o número de mitoses verdadeiramente aumenta juntamente com o grau. Houve correlação também entre topografia tumoral e o padrão histológico dos linfomas ($p = 0,001$). Os tumores com graus mais altos e maiores números de mitose demonstravam forte associação com maior número de macrófagos espumosos, também se observou associação entre os macrófagos espumosos com focos de mineralização intratumoral. A ocorrência de hemorragia estava associada com esclerose e mineralização intratumoral.

Tabela 6 - Distribuição de frequência e média de figuras mitoses de acordo com o grau de malignidade e o tipo histológico dos linfomas em gatos

| Grau e Tipo Histológico | Figuras de Mitose | | | |
|---|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| | Média | DP ¹ | Min. ² | Máx. ³ |
| Grau Baixo | 0,060 | 0,049 | 0 | 1 |
| Linfocítico de Células Pequenas | 0,06 | 0,049 | 0 | 0,1 |
| Grau Intermediário | 0,225 | 0,115 | 0,1 | 0,5 |
| Células Pequenas Clivadas, difuso | 0,05 | 0,050 | 0 | 0,1 |
| Células Grandes | 0,25 | 0,050 | 0,2 | 0,3 |
| Misto de Células Pequenas e Grandes, difuso | 0,25 | 0,104 | 0,1 | 0,5 |
| Grau Alto | 0,788 | 0,803 | 0,1 | 4,3 |
| Células Pequenas Não-Clivadas | 0,62 | 0,475 | 0,1 | 2 |
| Imunoblástico | 0,55 | 0,367 | 0,1 | 1,3 |
| Linfoblástico | 1,60 | 1,326 | 0,1 | 4,3 |

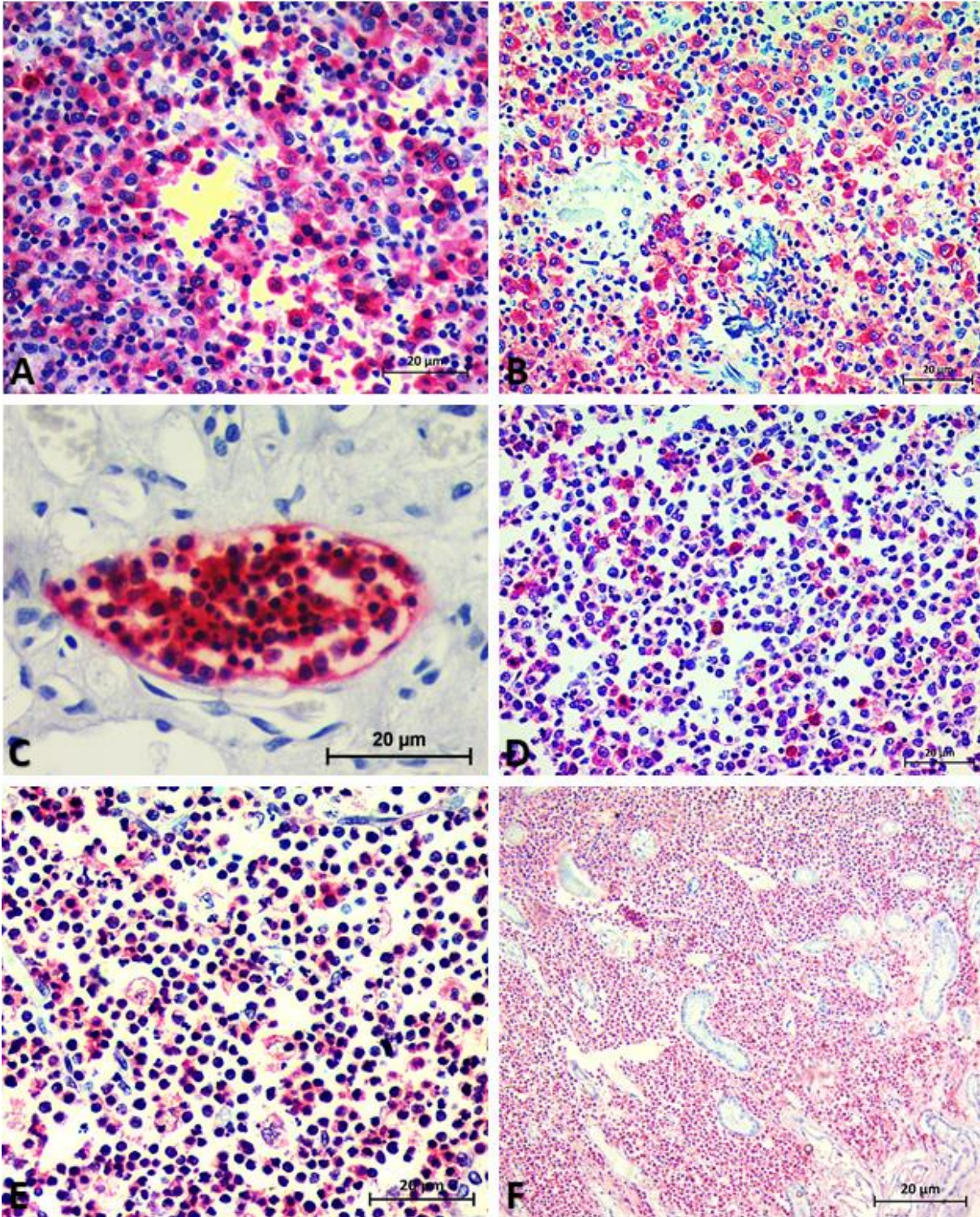
¹Desvio padrão; ²Número de mitoses mínimo e ³máximo por campo de maior aumento (400x)

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Na avaliação de IHQ anti-FeLV houve marcação positiva em 56,6% (30/53) dos linfomas. Quanto a intensidade, 73,3% (22/30) demonstraram marcação leve (+), 16,57% (5/30) moderada (++) e 10% (3/30) acentuada (+++). A distribuição por gênero foi idêntica entre machos e fêmeas (50%, 15/30). Com relação à idade, houve maior marcação nos animais adultos, 62,5% (20/32), predominantemente fêmeas (60% - 12/20), seguidos pelos idosos (44,44%, 4/9) e filhotes (42,86%, 3/7). Dos cinco animais com idade não informada, três (60%, 3/5) eram positivos. Os tumores multicêntricos apresentaram marcação por IHQ anti-FeLV em 56,52% (13/23) (Figura 7. A, B, C) e os mediastinais 66,67% (12/18) (Figura 7. D, E), seguido pelos renais 33,33% (2/6) (Figura 7. F), linfonodais 100% (2/2), e hepático com 33,33% (1/3). Não houve marcação IHQ no único linfoma alimentar. As informações quanto intensidade de marcação de acordo com o gênero, idade, tipo histológico e topografia estão descritas na Tabela 7.

No estudo prospectivo, sete animais (13,21% - 7/53) foram testados previamente para FeLV por meio de ELISA, todos positivos. Entre eles, 71,43% (5/7) foram positivos também na avaliação IHQ, mas 28,57% (2/7) demonstraram positividade somente no ELISA, sem marcação IHQ.

Figura 7 - Imuno-histoquímica para o vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos domésticos com linfoma: **(A)** Linfoma misto difuso com marcação acentuada em linfonodo. Macho, 2 anos. **(B)** Linfoma imunoblástico com marcação moderada em baço. Macho, 13 anos. **(C)** Marcação acentuada em linfoma misto difuso no interior de vaso sanguíneo da pelve renal. Macho, 8 anos. **(D)** Linfoma de células pequenas não clivadas com marcação moderada em massa mediastínica. Fêmea, 2 anos. **(E)** Linfoma linfoblástico com marcação moderada difusa em linfonodo mediastínico. Fêmea, 2 anos. **(F)** Linfoma misto difuso com marcação acentuada em rins. Macho, 8 anos. (Polímero ligado a fosfatase alcalina [MACH 4 AP], cromógeno Red Warp®)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Tabela 7 - Imuno-histoquímica e ELISA para o vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos com linfoma de acordo com gênero e idade

| Animal | Gênero | Idade (anos) ¹ | Topografia | Tipo Histológico* | ELISA | IHQ ² |
|--------|--------|---------------------------|---------------|-------------------|-------|------------------|
| F1 | M | 2 | Renal | LMd | ... | - |
| F2 | M | 14 | Renal | LCPnc | ... | - |
| F3 | M | 6 | Hepático | IBL | ... | - |
| F4 | M | 3 | Multicêntrico | LMd | ... | - |
| F5 | M | <i>NI</i> | Mediastínico | LCPnc | ... | + |
| F6 | M | <i>NI</i> | Mediastínico | LCPnc | ... | + |
| F7 | M | 15 | Multicêntrico | LBL | ... | - |
| F8 | F | <i>NI</i> | Multicêntrico | LMd | ... | - |
| F9 | M | <i>NI</i> | Hepático | LCP | ... | + |
| F10 | F | 8 | Multicêntrico | LCPc | ... | + |
| F11 | F | 11 | Multicêntrico | IBL | ... | - |
| F12 | M | <i>NI</i> | Mediastínico | LCPnc | ... | - |
| F13 | F | 1 | Multicêntrico | LCP | ... | - |
| F14 | M | 2 | Renal | LCPnc | ... | - |
| F15 | M | 4 | Multicêntrico | LCG | ... | ++ |
| F16 | M | 1 | Mediastínico | LCPc | ... | + |
| F17 | F | 12 | Multicêntrico | LMd | ... | - |
| F18 | M | 13 | Multicêntrico | IBL | ... | ++ |
| F19 | M | 4,8 | Mediastínico | LCPnc | ... | + |
| F20 | M | 1 | Mediastínico | LCPnc | ... | - |
| F21 | F | 2 | Hepático | LCP | ... | - |
| F22 | F | 2 | Mediastínico | LCPnc | ... | ++ |
| F23 | F | 2 | Mediastínico | LCPnc | ... | +++ |
| F24 | F | 4 | Multicêntrico | LMd | ... | - |
| F25 | F | 16 | Linfonodal | LCP | ... | ++ |
| F26 | F | 1,7 | Mediastínico | LCPnc | ... | + |
| F27 | F | 1 | Multicêntrico | LCPnc | ... | +++ |
| F28 | M | 1,7 | Multicêntrico | LMd | ... | + |
| F29 | M | 4 | Multicêntrico | LCPnc | ... | - |
| F30 | F | 5 | Mediastínico | LCPnc | ... | - |
| F31 | M | 12 | Multicêntrico | IBL | ... | + |
| F32 | F | 11 | Mediastínico | LMd | ... | + |
| F33 | M | 4 | Alimentar | IBL | + | - |
| F34 | F | 4 | Multicêntrico | LCG | + | + |
| F35 | M | 8 | Renal | LCPnc | ... | + |
| F36 | M | 1 | Mediastínico | LCPnc | ... | + |
| F37 | F | 4 | Mediastínico | LBL | ... | - |
| F38 | F | 2 | Mediastínico | LCPnc | ... | + |
| F39 | F | 1 | Multicêntrico | LBL | ... | - |
| F40 | F | 4 | Multicêntrico | IBL | ... | + |
| F41 | F | 12 | Multicêntrico | LBL | ... | - |
| F42 | F | 2 | Multicêntrico | LBL | ... | + |
| F43 | F | 1,6 | Multicêntrico | LMd | + | + |
| F44 | F | 2 | Linfonodal | IBL | ... | ++ |
| F45 | M | 2 | Multicêntrico | LMd | ... | +++ |
| F46 | F | 8 | Mediastínico | LBL | ... | - |
| F47 | M | 2 | Renal | LMd | ... | - |
| F48 | M | 4 | Renal | LCP | ... | + |
| F49 | F | 1 | Mediastínico | IBL | + | - |
| F50 | F | 4 | Mediastínico | LCPnc | + | + |
| F51 | M | 6 | Multicêntrico | LMd | + | + |
| F52 | F | 2 | Mediastínico | LCPnc | ... | + |
| F53 | M | 2,4 | Multicêntrico | LMd | + | + |

*Verificar Quadro 1 para acrônimos; ¹*NI*: não informado; ²-: marcação ausente, +: leve, ++: moderada, +++: acentuada; IHQ: Imuno-histoquímica; ...: ELISA para FeLV não realizado; M: macho, F: fêmea
 Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

4.4 DISCUSSÃO

A frequência de linfomas positivos para FeLV do presente estudo foi elevada e predominou em animais adultos, com distribuição semelhante entre gêneros e em tumores multicêntricos e mediastinais. Esses dados contrastam com estudos anteriores que mostram maior ocorrência de linfomas multicêntricos e alimentares em gatos machos (VAIL et al., 1998; GABOR; CANFIELD; MALIK, 1999; VALLI et al., 2000; SCHMIDT et al., 2010; VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Recentes estudos na região de desenvolvimento desta pesquisa, demonstraram que o linfoma é a principal causa de óbito de gatos dentre as neoplasias (Não publicado)¹, e que a prevalência para FeLV na região é superior a 22% (BIEZUS, 2017). Os resultados obtidos neste trabalho refletem diretamente a elevada prevalência de FeLV na região de estudo, superior à de outras regiões do país (HAGIWARA; JÚNIOR; LUCAS, 1997; TEIXEIRA et al., 2007; DE ALMEIDA et al., 2012; BIEZUS, 2017) e países desenvolvidos da Europa e América do Norte (LURIA et al., 2004; GLEICH; KRIEGER; HARTMANN, 2009; LITTLE et al., 2009).

Esperava-se que os machos positivos para FeLV na IHQ fossem mais numerosos em relação as fêmeas, entretanto, não houve diferença significativa. Essa expectativa ocorreu considerando que os machos estão muito mais propensos ao contato com patógenos, fatores indutores de estresse, conflitos por manutenção do território e durante o cortejo para o acasalamento, favorecendo a infecção por FeLV e FIV (BERZINS, 2000; YILMAZ; ILGAZ; HARBOUR, 2000; CHHETRI et al., 2015; BIEZUS, 2017). Acredita-se que a maior parte da população deste estudo foi composta por animais inteiros, justificando a proporção similar entre machos e fêmeas, principalmente devido à procura de parceiros para contato sexual durante o cio, submetendo os animais à inúmeros fatores estressores ambientais (LEVY et al., 2008; HARTMANN, 2012b; GATES; VIGEANT; DALE, 2017).

Os gatos avaliados neste estudo foram predominantemente adultos, entre dois a quatro anos de idade, o que se repete quando relacionado à alta positividade da IHQ anti-FeLV. Um estudo experimental sobre a infecção pelo FeLV demonstrou que conforme a idade dos animais o que, a susceptibilidade à infecção diminuía,

¹ WITHOEFT, J. A. et al. **Causas de morte e eutanásia em felinos domésticos no planalto de Santa Catarina: estudo retrospectivo (1995-2015)**. 8 p. Não publicado.

assim como o desenvolvimento de doenças concomitantes (HOOVER et al., 1976), o que explica a predominância de animais positivos mais jovens. Dos quatro animais idosos, três foram positivos para FeLV. A hipótese mais provável para a formação dos linfomas nestes animais está atrelada à ocorrência de quadros regressivos de infecção onde houve a interação do DNA pró-viral com oncogenes celulares (HARTMANN, 2012a).

Linfomas multicêntricos e mediastinais foram identificados com grande frequência, e, novamente, a associação com a idade e com a positividade para FeLV foram determinantes. Esses tipos de linfoma frequentemente ocorrem em filhotes e jovens positivos para FeLV (REZANKA; ROJKO; NEIL, 1992; LOUWERENS et al., 2005; SCHMIDT et al., 2010), sugerindo que a enfermidade se desenvolveu no quadro progressivo da infecção (HARDY et al., 1976; ROJKO et al., 1979; LEVY et al., 2008). Em países onde medidas de controle e prevenção do FeLV são adotadas, os linfomas mediastinais e multicêntricos são a minoria, ao contrário dos alimentares que são mais frequentes (MEICHNER et al., 2012; CHINO et al., 2013).

No presente trabalho somente um caso de linfoma alimentar foi identificado, em um gato macho adulto negativo para FeLV. Este tipo específico de linfoma está relacionado com o avanço da idade, com idade média de 10 a 13 anos, e a associação com o FeLV é baixa; sendo menos que 30% em linfomas de alto grau e 4% em linfomas de grau baixo e intermediário (VAIL et al., 1998; VALLI et al., 2000; GIEGER, 2011; BARRS; BEATTY, 2012). Não é possível descartar que a infecção por FIV esteja associada ao caso, já que o mesmo é associado comumente à formação de linfomas em animais idosos, concomitante ou não com o FeLV (HOOVER et al., 1976; CALLANAN et al., 1996; HARTMANN, 2012a).

A pragmática estabelecida pela *Working Formulation* não determina o grau de acordo com o número de figuras de mitose (ROBB-SMITH, 1982). Entretanto, é importante ressaltar que neste trabalho a contagem de mitoses acompanhou o grau de malignidade histológica dos tumores. Esses resultados demonstram que esta formulação pode ser extremamente útil para determinação do grau de malignidade histológica na ausência de insumos para a execução de técnicas avançadas de tipificação genotípica, que são dispendiosos e pouco aplicáveis na rotina prática.

Quanto às características histológicas dos linfomas em gatos, o primeiro grande estudo realizado utilizando o *Working formulation* demonstrou que a incidência de LCPnc foi elevada e predominante nos linfomas mediastinais de alto

grau (VALLI et al., 2000) e isso também foi observado no presente trabalho. Já nos linfomas multicêntricos de grau intermediário, predominaram os LMD, a maioria com marcação positiva para FeLV, assim como descrito por outros autores (VALLI et al., 2000; CHINO et al., 2013).

O IBL é relativamente comum em gatos, estando presente em cerca de um terço dos gatos com linfoma (VALLI et al., 2014). Neste trabalho foram observados oito casos, sendo metade deles multicêntricos. Outros autores identificaram maior ocorrência deste tipo histológico na forma alimentar (POHLMAN et al., 2009) e em cavidade nasal, seguidos então por multicêntrico e mediastinal (SATO et al., 2014). A média de idade dos animais acometidos foi de 10 anos, semelhante à observada por Pohlman et al. (2009) e Sato et al. (2014). Quase metade dos casos de IBL descritos eram FeLV positivos, diferente de outros relatos que indicaram baixa associação (LOUWERENS et al., 2005; POHLMAN et al., 2009). Já o LBL foi observado em seis animais, quatro com distribuição multicêntrica e dois mediastinais, semelhante ao observado por Sato et al. (2014) que observou LBL em 11,66% (19/163) dos casos, porém somente um era multicêntrico.

Os linfomas renais são muito incomuns nos cães e nos seres humanos, entretanto para a espécie felina é considerado o tumor renal mais comum (GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; VALLI et al., 2000; GUILLERMO COUTO, 2001; HAYES, 2006; VOCCIA, 2016). Estudos existentes demonstram associação com o FeLV em 25 e 79,8% (VAIL et al., 1998; VOCCIA, 2016). Nos seis casos observados, somente dois foram FeLV positivos.

Três dos gatos demonstravam infiltração de linfócitos neoplásicos nas meninges e no neurópilo. A associação entre o linfoma renal primário e o SNC já foi observada em animais e seres humanos, entretanto o processo biológico relacionado a esse padrão infiltrativo não é esclarecido (GUILLERMO COUTO, 2001; TWOMEY; ALLEMAN, 2005; HU et al., 2013; GUIMARÃES-OKAMOTO et al., 2016; MANDARA; MOTTA; CALÒ, 2016; MUNIZ; ANDRADE; VOIGT, 2017). Acredita-se que esse processo esteja ligado unicamente às características do linfócito neoplásico, como a expressão de determinados genes e moléculas de adesão de membrana ao SNC (PALS; GORTER; SPAARGAREN, 2008; GUIMARÃES-OKAMOTO et al., 2016).

Dois linfomas foliculares foram observados nesse estudo, reforçando as informações de literatura que indicam a infrequência deste padrão de crescimento

tumoral em animais (GREENLEE et al., 1990; GABOR; CANFIELD; MALIK, 1999; GUIJA DE ARESPOCHAGA; SCHWENDENWEIN; WEISSENBOCK, 2007; VEZZALI et al., 2010; PANZIERA et al., 2016). Isso ocorre principalmente devido ao diagnóstico tardio nos animais em relação aos humanos. Desta forma, acredita-se que com a rápida progressão da doença, os folículos perdem a sua conformação e o padrão tende a se tornar difuso antes do diagnóstico (VEZZALI et al., 2010).

A descrição das lesões concomitantes ao desenvolvimento dos linfomas é pouco relatada na literatura, talvez por serem consideradas irrelevantes e intimamente relacionadas à localização dos neoplasmas. Constatou-se que os linfomas mediastinais e multicêntricos demonstraram maior ocorrência de alterações macroscópicas em associação ao quadro neoplásico.

Efusões foram observadas com grande frequência neste estudo e a sua relação com as massas mediastinais, principalmente linfomas, é bem descrita na literatura (ALLEMAN, 2003; HAYES, 2006; HAWKINS, 2010). Além disso, observou-se atelectasia pulmonar e tamponamento cardíaco, ambos importantes para a ocorrência de efusões pleurais (ALLEMAN, 2003; HAWKINS, 2010).

Os linfomas multicêntricos cursavam com efusões pleurais e ascite, principalmente em decorrência de infiltração neoplásica no fígado, ocasionais massas comprimindo e provocando hipertensão de veia cava cranial (efusão pleural), veia cava caudal (efusão peritoneal) e veia hepática (efusão peritoneal), além de insuficiente drenagem linfática por infiltração dos linfonodos (ALLEMAN, 2003; CULLEN; STALKER, 2016). Não foram observadas efusões em nenhum dos gatos com linfoma renal, mesmo sendo perceptível a destruição de grandes extensões do parênquima.

Outra lesão constante, tanto no linfoma mediastínico quanto no multicêntrico, foi a lipidose hepática. Estudo recente demonstrou que os linfomas são uma das principais neoplasias causadoras de lipidose hepática (CENTER, 2017). Dois principais fatores estão relacionados a isso: a deficiência de vitamina B12 decorrente da intensa reação inflamatória mimetizada e provocada pela neoplasia; e a condição clínica do paciente que habitualmente cursa com anorexia e lipólise excessiva (CULLEN; STALKER, 2016; CENTER, 2017). Grande parte dos animais avaliados no presente estudo demonstravam magreza e caquexia, o que torna aceitável a alta ocorrência de lipidose hepática com conseqüente hepatomegalia.

Dois dos sete animais positivos para FeLV por ELISA não demonstraram positividade na avaliação IHQ, ambos com idade inferior a um ano. A hipótese mais aceitável para este fato sugere que o vírus tenha sido eliminado do organismo após ativação eficiente do sistema imune, porém as mutações no genoma celular ocasionadas pela inserção do DNA pró-viral perpetuaram, levando a inativação de genes de supressão tumoral ou a ativação de oncogenes, estes por sua vez não são detectados através de IHQ (FUJINO; OHNO; TSUJIMOTO, 2008; FIGUEIREDO; ARAÚJO JÚNIOR, 2011; HARTMANN, 2012b; SYKES; HARTMANN, 2014).

Um destes animais era parte do estudo retrospectivo, não permitindo descartar também a hipótese da manutenção prolongada em formol antes do processamento podem ser fatores complicadores na realização da IHQ (WEBSTER et al., 2009).

4.5 CONCLUSÃO

A ocorrência de linfomas associadas ao FeLV nesse estudo é superior às encontradas em outros países. Constatou-se que animais entre um e quatro anos são os que mais desenvolvem tumores mediastinais e multicêntricos, principalmente quando infectados pelo FeLV. Os linfomas eram predominantemente de alto grau e com crescimento difuso. Os LCPnc e LMd ocorreram em maior frequência, compondo a maior parte dos tumores mediastinais, multicêntricos e renais.

Tendo em vista os dados desta pesquisa, afirma-se que não é possível ater-se unicamente aos estudos em países desenvolvidos, que determinam a gradual desconexão dos linfomas à infecção pelo FeLV, sendo necessária a avaliação epidemiológica região-específica para determinação direta desta associação FeLV-Linfoma e conseqüente implementação de medidas de controle e prevenção.

5 CARACTERIZAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA DE LEUCEMIAS EM GATOS DOMÉSTICOS E A CORRELAÇÃO COM O VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV)

ANATOMOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF LEUKEMIA IN CATS AND CORRELATION WITH THE FELINE LEUKEMIA VIRUS (FeLV)

RESUMO

Leucemias são tumores hematopoiéticos originados dos precursores mieloides ou linfoides no interior da medula óssea, divididas em agudas e crônicas. Essas neoplasias são incomuns, mas ocorrem com mais frequência em gatos devido à associação com o vírus da Leucemia Felina (FeLV). Não há estudos publicados no Brasil até o momento correlacionando as leucemias ao FeLV. Este trabalho tem por objetivo a caracterização anatomopatológica das leucemias e a associação com a infecção pelo FeLV. Realizou-se estudo entre os anos de 1995 a 2017, avaliando 37 gatos com leucemia dos quais realizou-se exame de necropsia, histopatológico e imuno-histoquímica (IHQ) anti-FeLV gp70. Foi realizada análise descritiva e correlação entre tipo histológico de tumor e a infecção pelo FeLV. Dos gatos avaliados, 54,05% (20/37) eram machos e 43,24% (16/37) fêmeas. Quanto a idade, somente um filhote com um ano, 72,97% (27/37) eram adultos e 10,81% (4/37) idosos, além de cinco animais com idade desconhecida. A leucemia mieloide ocorreu em 56,76% (21/37) casos, e as linfoides em 43,24% (16/37). Observou-se que as leucemias agudas (72,97%, 27/37) ocorreram com maior frequência comparadas às crônicas (27,03%, 10/37); a positividade para FeLV (78,38%, 29/37) demonstrou alta associação entre a infecção e o desenvolvimento do processo neoplásico, indicando a necessidade de intervenções profiláticas e de controle na região de estudo.

Palavras-chave: medula óssea, neoplasia, mielopatia, hematopatologia

ABSTRACT

Leukemias are hematopoietic tumors originating from myeloid or lymphoid precursors in the bone marrow, classified as acute or chronic. These neoplasms are uncommon but occur more frequently in cats due to infection with Feline Leukemia virus (FeLV). So far, there are no studies published in Brazil correlating leukemias to FeLV. This work aims the anatomopathological characterization of leukemias, and its association with FeLV infection. A study was carried out between 1995 and 2017, evaluating 37 cats with leukemia, performing necropsy, histopathological examination and anti-FeLV (gp70) immunohistochemistry (IHC). Descriptive analysis and association between histological type and FeLV infection were performed. Among the cases, 54,05% (20/37) were male and 43,24% (16/37) females. An only one-year-old kitten was observed, where as adults comprised 72,97% (27/37) and the elderly 10,81% (4/37). Myeloid leukemias were 56,76% (21/37) and lymphoid 43,24% (16/37), acute occurred in, and chronic in 27,03% (10/37). It was observed that acute leukemia (72,97%, 27/37) occurred more frequently compared to chronic (27,03%, 10/37); FeLV positivity (78,38%, 29/37) showed a high association between infection and the development of neoplasia, indicating the need for prophylactic and control interventions in the region studied.

Keyword: bone marrow, neoplasia, myelopathy, hematopathology.

5.1 INTRODUÇÃO

As leucemias são neoplasias originárias de células hematopoiéticas da medula óssea que se dividem em dois grandes grupos (mieloide e linfoide), com curso agudo ou crônico, pouco frequentes em todas as espécies de animais, ocorrendo mais comumente em cães e gatos (JAIN et al., 1991; VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). A cronicidade desta enfermidade tem íntima relação com o estágio de maturação de componentes celulares, sendo a aguda composta predominantemente por blastos e as crônicas, por células em estado de maturação mais avançado (ADAM et al., 2009; HARVEY, 2012).

A leucemia mieloide aguda (LMA) é definida por uma pancitopenia persistente onde a presença de células neoplásicas intensamente blásticas é superior a 20%

das células nucleadas no sangue ou na medula óssea. Microscopicamente, há substituição de uma ou mais linhagens de células mieloides normais por células neoplásicas, que, durante o avanço da enfermidade, serão encontradas também no interior de múltiplos vasos (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017).

A leucemia linfóide aguda (LLA), ou leucemia linfoblástica cursa com intensa linfocitose. Com o avanço da enfermidade, ocorre proliferação de linfócitos neoplásicos imaturos na medula óssea, pequenos, médios e grandes, promovendo a rarefação de todos os precursores mieloides (VALLI, 2007; HARVEY, 2012). Para determinar as leucemias crônicas, considera-se o total de células nucleadas da medula óssea, quando 30% forem megacarioblastos, eritroblastos ou granuloblastos determina-se morfologicamente um quadro de leucemia mieloide crônica (LMC). Diferentemente da leucemia linfóide crônica (LLC) que demonstra uma medula óssea composta por cerca de 15 a 20% de linfócitos maduros atípicos (BENNETT et al., 1976, 1991; KUMAR et al., 2010; CAMPBELL; HESS; WILLIAMS, 2013).

Atualmente com a inclusão de novas técnicas de imunofenotipagem e diagnóstico molecular, ampliaram-se as diferenciações de LMA e LLA, entretanto, a classificação instituída pela *French-American-British Co-operative group* (FAB) ainda é muito utilizada devido à simplicidade técnica, bom valor diagnóstico e baixo custo de execução (SILVA et al., 2006; VALLI, 2007; LADINES-CASTRO et al., 2016; VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017).

As leucemias são mais frequentes em gatos jovens, com forte associação a infecção pelo vírus da Leucemia Felina (FeLV) (HARTMANN, 2012a). Esse vírus insere seu material genético primeiramente nas células linfóides do hospedeiro, este processo de mutagênese insercional é a principal responsável pela formação das neoplasias (FUJINO; OHNO; TSUJIMOTO, 2008). Nas leucemias mieloides, as mutações no genoma celular geralmente ocorrem na região U3 dos *Long Terminal Repeats* (LTR) (NISHIGAKI et al., 1997; ERKELAND et al., 2004; FUJINO; OHNO; TSUJIMOTO, 2008) e nas leucemias linfóides, tal como os linfomas, há mutações nos genes supressores de tumores ou ativação de proto-oncogenes (principalmente *c-myc*, *flit-1*, *flvi-2*, *bmi-1* e *pim-1*)(FUJINO; OHNO; TSUJIMOTO, 2008; HARTMANN, 2012a; SYKES; HARTMANN, 2014).

Até o momento, não existem estudos publicados no Brasil que correlacionem a infecção pelo FeLV à ocorrência de leucemias e investiguem as características anatomopatológicas destes tumores. Determinar a relação entre a infecção viral com

a formação das leucemias tem grande importância para o entendimento da epidemiologia dessa neoplasia em gatos.

Este trabalho tem como objetivo diferenciar as leucemias de gatos domésticos de acordo com a sua origem celular em mieloide ou linfoide, agudas ou crônicas, e determinar os principais achados macro e microscópicos, por meio de estudo do período de 1995 a 2017, correlacionando com a infecção por FeLV através de investigação imuno-histoquímica (IHQ).

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Estudo retrospectivo

Foram revisados os arquivos de necropsia e exame histopatológico do Laboratório de Patologia Animal (LAPA) do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), localizado no município de Lages, do período entre janeiro de 1995 a fevereiro de 2016, para recuperação de dados de necropsias realizadas em gatos domésticos com diagnóstico definitivo de leucemia, totalizando 35 animais, dois quais se realizou busca de histórico, blocos de parafina e lâminas histológicas. Nove (9) Casos foram excluídos deste estudo em decorrência de múltiplos fatores: a ausência de histórico clínico e descrição macroscópica (4) e ausência de blocos ou lâminas contendo medula óssea (5), restando 26 casos que foram utilizados para o presente estudo. Desses animais, cinco possuíam histórico de teste prévio para FeLV por ELISA (sem informações específicas sobre o teste utilizado).

5.2.2 Estudo prospectivo

Durante o período de março de 2016 até setembro de 2017 foram realizados exames anatomopatológicos de todos os gatos domésticos enviados ao LAPA, CAV/UDESC, totalizando 119 animais. Todos foram submetidos à necropsia e colheita de fragmentos de medula óssea, linfonodos, baço, timo, encéfalo, coração, pulmão, traqueia, fígado, rins, bexiga, pele, mucosa oral, conduto auditivo, globos oculares, esôfago, estômago, intestinos, pâncreas, tireoides, paratireoides e adrenais, posteriormente fixados em formol tamponado a 10%. Dos 119 animais, 22

foram diagnosticados com neoplasias hematopoiéticas, das quais 11 eram leucemias e foram incluídos nesse estudo.

Destes animais, cinco possuíam teste prévio para FeLV por meio de ELISA (*Snap FIV/FeLV Combo Test®*, IDEXX Laboratories).

5.2.3 Processamento de amostras

As amostras colhidas durante a necropsia foram submetidas a clivagem e posterior processamento histopatológico de rotina. A partir dos blocos de parafina provenientes das amostras do estudo retrospectivo e prospectivo foram confeccionadas lâminas histológicas para coloração de Hematoxilina e Eosina (HE). Cortes histológicos foram acondicionados em duplicata em lâminas positivadas para posterior exame de IHQ.

5.2.4 Distribuição das lesões e caracterização histológica das leucemias

Os históricos e os laudos de necropsia de todos os casos de leucemia de foram avaliados para catalogação de informações sobre as condições físicas dos animais e lesões macroscópicas.

A classificação histológica das leucemias foi realizada de acordo com a padronização estipulada pelo *French-American-British Co-operative Group (FAB)*, classificando em mieloide ou linfoide e aguda ou crônica. Todas as lâminas foram avaliadas por dois patologistas, considerando os mesmos critérios de diferenciação celular. Para determinar o tamanho dos linfócitos nas leucemias linfoides em pequenos e grandes utilizou-se como parâmetro o diâmetro da hemácia (6 a 9µm) onde pequenos ocupavam cerca de 1 a 1,5 o tamanho da hemácia e as células grandes de 2 a 3 vezes.

As figuras de mitose foram contadas em 10 campos de maior aumento com magnificação de 400x (HPF 40x) e posteriormente fracionadas para um valor individual por campo (/10). Durante a contagem de mitoses não foram avaliadas células em fase mitótica de prófase para evitar a confusão com células de núcleos apoptóticos. Necrose, esclerose e mineralização também foram avaliados, para permitir a identificação da intensidade da reação vascular associada à neoplasia, existência ou não de mineralização distrófica e lipodistrofia. Para tal utilizou-se o sistema de cruzes: (+) para reação discreta (um foco isolado e pequeno, que não

ocupe mais do que 1 HPF 400x); duas cruzes (++) moderada (um foco ocupando de 2 a 3 HPF 400x ou múltiplos focos pequenos); e três cruzes (+++) acentuada (mais do que 4 HPF 400x, isolados ou múltiplos).

5.2.5 Exame de imuno-histoquímica anti-FeLV

Os cortes histológicos de medula óssea previamente preparados em lâminas positivadas foram submetidos à recuperação antigênica por meio de incubação em banho maria a 100°C por 40 minutos em tampão Tris-EDTA pH 9. As lâminas preparadas pela técnica da peroxidase foram previamente submetidas ao bloqueio da peroxidase endógena numa solução a 10% de peróxido de hidrogênio (30 vol.) em metanol durante 10 minutos. O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado com leite desnatado em pó (Molico[®]) diluído a 5% em água destilada, durante 20 minutos em temperatura ambiente. O anticorpo primário anti-FeLV gp70 (Serotec[®]) foi diluído na proporção de 1:500 em solução salina tamponada com fosfato (PBS), e submetido a incubação em câmara úmida por 1h30min a 37° C.

Posteriormente os cortes foram incubados com polímero *MACH 4 AP universal* (Biocare Medical[®]), para a técnica de fosfatase, e *MACH 4 HRP* (Biocare Medical[®]), para a técnica da peroxidase, durante 15 minutos na primeira etapa (sonda) e 30 minutos na segunda etapa (polímero). Os cortes submetidos a técnica da fosfatase foram revelados com o cromógeno *Warp RedTM* (Biocare Medical[®]) e para a peroxidase, revelados com DAB (DakoCytomation[®]), ambos contra-corados com Hematoxilina de Harris. Controles positivos foram inseridos simultaneamente às lâminas testadas. Para catalogação utilizou-se o sistema de cruzes para denotar a intensidade da marcação, sendo uma cruz (+) para marcação discreta, duas cruzes (++) moderada e três cruzes (+++) acentuada.

5.2.6 Catalogação dos dados e análise estatística

Todos os dados obtidos por meio do levantamento retrospectivo e prospectivo foram compilados em tabelas de contingência no software *Excel* para realização de análise descritiva e inferencial. A classificação de idade foi realizada por faixas etárias em filhote, com o tempo de vida contido no período de até 1 ano de idade ou 12 meses, adulto, cuja idade seja maior ou igual a 1 ano ou 12 meses, não excedendo 11 anos ou 132 meses, e idoso, com idade igual ou superior a 11 anos

ou 132 meses (TRAPP et al., 2010). Testes de média foram realizados através de análise de teste *T*, com intervalo de confiança de 95% ($p=0,05$) com auxílio do software estatístico *SigmaPlot*® 12.0.

5.3 RESULTADOS

Durante o estudo retrospectivo foram recuperados dados de 26 gatos com leucemia e no estudo prospectivo 11, totalizando 37 animais. Quanto ao gênero, 54,05% (20/37) eram machos, 43,24% (16/37) fêmeas e um animal (2,7%, 01/37) não possuía informação sobre o gênero. A média e a mediana de idade foram de 5,5 e 4 anos, respectivamente, onde 2,7% (1/37) eram filhotes, 72,97% (27/37) adultos, 10,81% (4/37) idosos e em 13,51% (5/37) não havia informações sobre a idade. As médias de idade de acordo com o gênero estão dispostas na Tabela 8. Somente dois animais possuíam raça definida, um persa e um siamês, representando 2,7% (1/31) cada, os demais (94,54%) eram gatos sem raça definida (SRD).

Tabela 8 - Distribuição dos gatos domésticos com leucemia de acordo com a idade e o gênero

| Gênero | Frequência | | Média | Idade (anos) | | |
|--------|------------|-------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| | (N) | (%) | | DP ¹ | Mín. ² | Máx. ³ |
| Macho | 20 | 54,05 | 4,93 ^a | 3,07 | 2 | 11 |
| Fêmea | 16 | 43,24 | 6,36 ^a | 3,47 | 1 | 12 |
| NI* | 1 | 2,7 | - | - | 3 | 3 |

¹Desvio padrão, ²idade mínima e ³máxima. *Não informado. ^aLetras minúsculas iguais entre as categorias indicam que não há diferença significativa entre as médias ($p \geq 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

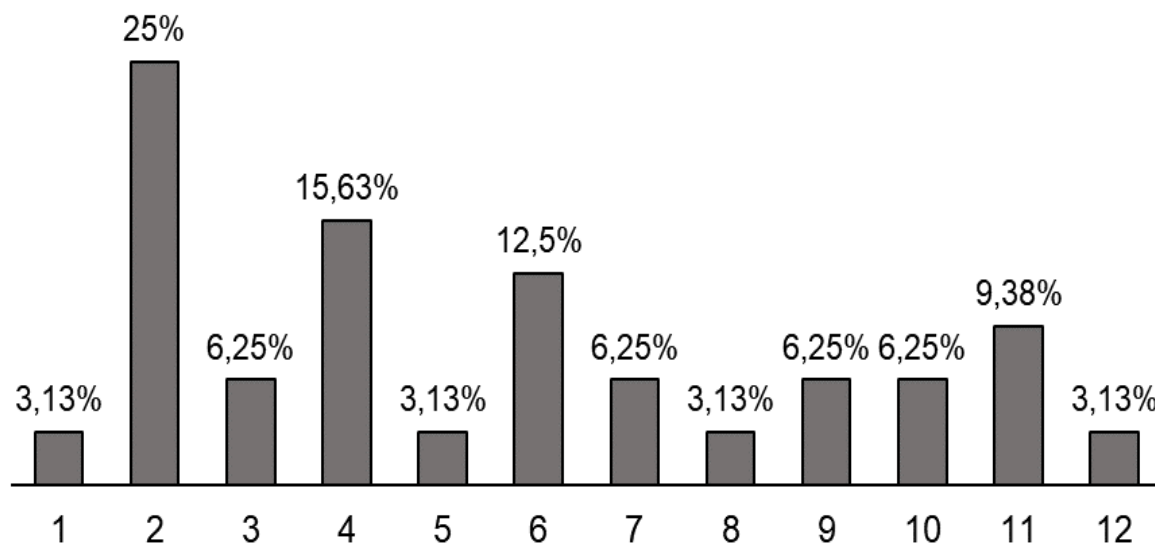
Perda de peso progressiva, inapetência, letargia, anorexia, vômito, linfadenomegalia, febre, hemorragias e palidez foram as principais alterações clínicas apontadas nos históricos, independentemente do tipo ou curso de leucemia.

A avaliação histopatológica dos gatos demonstrou que as leucemias mieloides com, ocorreram com maior frequência (56,76%, 21/37) em relação às linfoides (43,24%, 16/37), bem como as de curso agudo prevaleceram (72,97%, 27/37) às de curso crônico (27,03%, 10/37).

A LLA compreende 93,75% (15/16) dos casos de origem linfóide com idade média de 4,3 anos, contrastando com apenas um caso de LLC (6,25%) em um gato de cinco anos. As LMA totalizaram 57,14% (12/21) dos casos de origem mielóide,

sendo a idade média de ocorrência de 5,9 anos. As LMC compreendiam 42,86% (09/21), com média de idade de 7,2 anos, conforme observado na Figura 8.

Figura 8 - Porcentual (%) de gatos domésticos acometidos por leucemia de acordo com a idade (em anos)

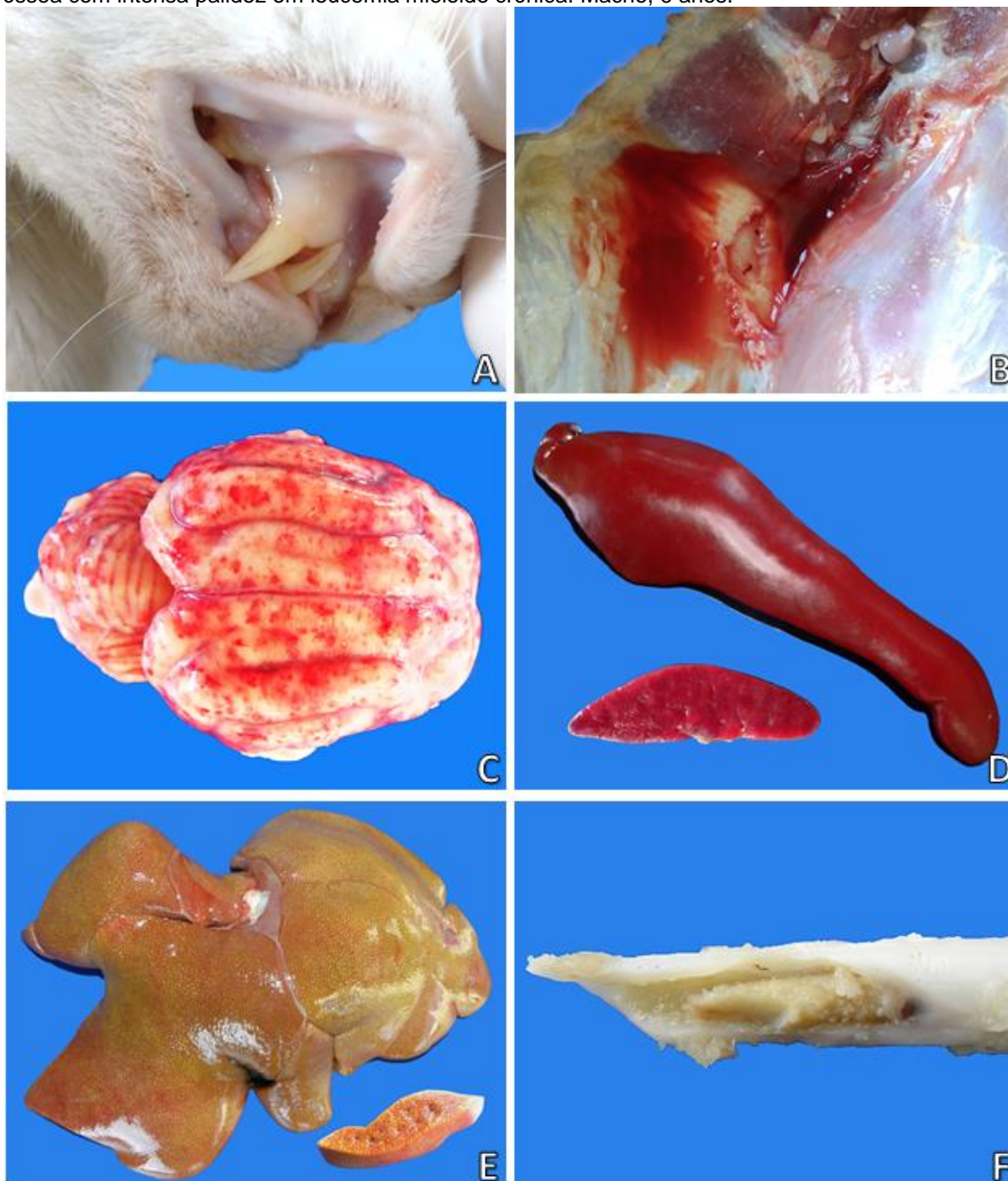


Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Na avaliação macroscópica, os escores corporais caquético e magro foram predominantes, com 24,32% (09/37) e 27,03% (10/37) dos casos. No estudo retrospectivo, a informação sobre o escore corporal não estava presente em 32,43% (12/37). Todos os animais submetidos a necropsia no estudo prospectivo e oito animais do estudo retrospectivo demonstravam palidez acentuada das mucosas (Figura 9 A). Também eram achados frequentes hipoviscosidade sanguínea (Figura 9 B), edema pulmonar, algumas vezes acompanhado por hemorragias, petéquias em mucosas e vísceras (Figura 9 C), esplenomegalia variando de moderada a acentuada (Figura 9 D), hepatomegalia e evidência do padrão lobular hepático (Figura 9 E), lipidose hepática, além da intensa palidez da medula óssea (Figura 9 F). Nos gatos do estudo retrospectivo, a viscosidade sanguínea não foi especificada nos relatórios de necropsia. Um compilado das alterações macroscópicas observadas está exposto na Tabela 9.

Secundariamente à leucemia, em dois casos observaram-se pneumonia, uma associada a *Pseudomonas* sp. e outra associada a *Toxoplasma gondii*. Também foram encontrados dois casos de dermatite e paniculite supurativas, um flegmão, duas úlceras orais e duas úlceras glossais.

Figura 9 - Alterações macroscópicas em gatos domésticos com leucemia: **(A)** Palidez acentuada de mucosas em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 8 anos. **(B)** Hipoviscosidade sanguínea em leucemia mieloide crônica. Macho, 4 anos. **(C)** Meninges com múltiplas petéquias em superfície subcapsular em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 4 anos. **(D)** Esplenomegalia acentuada em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 10 anos. **(E)** Infiltração leucêmica em fígado com hepatomegalia, acentuação de padrão lobular e lipidose difusa em um caso de leucemia linfóide crônica. Macho, 5 anos. **(F)** Medula óssea com intensa palidez em leucemia mieloide crônica. Macho, 6 anos.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Tabela 9 - Alterações macroscópicas observadas em gatos domésticos de acordo com o tipo de leucemia

| Alterações Macroscópicas | Tipo de Leucemia* | | | | Total de casos |
|---------------------------------------|-------------------|-----|-----|-----|----------------|
| | LLA | LLC | LMA | LMC | |
| Escore corporal | | | | | |
| Caquético | 2 | - | 2 | 5 | 9 |
| Magro | 4 | 1 | 3 | 2 | 10 |
| Regular | 4 | - | 1 | - | 5 |
| Obeso | - | - | 1 | - | 1 |
| Alterações sistêmicas | | | | | |
| Icterícia | 3 | - | 1 | 1 | 5 |
| Hemorragias | 2 | - | 7 | - | 9 |
| Hipoviscosidade sanguínea | 4 | 1 | 3 | 3 | 11 |
| Pele e Mucosas | | | | | |
| Úlceras orais | 2 | - | 1 | 1 | 4 |
| Palidez de mucosas | 8 | - | 6 | 5 | 19 |
| Tórax | | | | | |
| Hidrotórax | 2 | - | - | 1 | 3 |
| Edema pulmonar | 10 | 1 | 9 | 6 | 26 |
| Trombose pulmonar | 1 | - | - | - | 1 |
| Hidropericárdio | 2 | - | 3 | - | 5 |
| Abdome | | | | | |
| Ascite | 2 | - | 3 | 3 | 8 |
| Palidez de órgãos | 2 | - | - | 1 | 3 |
| Esplenomegalia | 7 | - | - | 3 | 10 |
| Hiperplasia de polpa branca esplênica | 1 | - | 3 | 1 | 5 |
| Lipidose hepática | 4 | 1 | 2 | 1 | 7 |
| Hepatomegalia | - | 1 | - | - | 1 |
| Padrão lobular hepático evidente | 10 | 1 | 7 | 4 | 21 |
| Úlceras gástricas | - | - | 1 | 1 | 2 |
| Infartos renais | 2 | - | - | - | 2 |
| Linfadenomegalia | 5 | 1 | 2 | 2 | 10 |
| Medula óssea | | | | | |
| Palidez | 3 | - | 1 | 1 | 5 |

*LLA: Leucemia linfóide aguda, LLC: Leucemia linfóide crônica, LMA: Leucemia mieloide aguda, LMC: Leucemia mieloide crônica. -: Valor igual a 0;
 Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Na avaliação histológica da medula óssea, frequentemente observou-se em todos os casos a substituição do parênquima medular normal por células neoplásicas atípicas. Nas LLA praticamente todo o parênquima da medula óssea era substituído por linfócitos neoplásicos predominantemente grandes, com núcleos amplos, com cromatina em arranjo frouxo e difuso, evidenciando no máximo dois nucléolos de grande tamanho e centrais. Dificilmente eram observados precursores monoblásticos, granuloblásticos, eritroblásticos ou tromboblásticos (Figura 10 A, B). Na LLC, os linfócitos neoplásicos observados se assemelhavam aos normais, eram pequenos com atipia leve a moderada (Figura 10 C). Observaram-se também megacariócitos ocasionais, em pequenos grupos com atipia leve.

As LMA demonstravam um parênquima repleto por células blásticas atípicas cuja linhagem variavam entre os casos. Decorrente da hiper celularidade, a medula óssea apresentava um padrão compacto e monótono em menor aumento. Predominavam promielócitos, monoblastos e granuloblastos amplos e primitivos, os núcleos eram centrais a periféricos, algumas vezes reniforme e com cromatina variável, com um a dois nucléolos distribuídos de forma aleatória no núcleo. Em alguns casos, observou-se proliferação de precursores eritroides constituídos por eritroblastos amplos, hipereosinofílicos e multinucleados (Figura 10. D), e megacariócitos, com grandes agrupados de tromboplastos imaturos, principalmente ao redor de vasos (Figura 10. E). Em algumas LMA era possível observar grande quantidade de eosinófilos maduros e imaturos, além de megacariócitos pequenos (micromegacariócitos) ou com núcleo hipolobulado, algumas vezes realizando emperipoese, principalmente de células granulocíticas próximas da maturação.

Na LMC também havia aumento exacerbado de células blásticas, porém sem o aspecto monótono das LMA. As células granulocíticas e trombocíticas predominavam, e vários estágios de desenvolvimento celular eram visíveis. A série eritroide era a mais escassa e grupos de megacariócitos atípicos eram frequentes, algumas vezes realizando emperipoese (Figura 10. F).

Quanto ao número de mitoses as LLA e LMC demonstraram maior média em relação às demais, o que está representada na Tabela 10. Identificou-se fibrose medular em 37,84% (14/37) dos casos, 50% (07/14) estavam associados à LMC, 28,57% (04/14) à LMA, 14,29% (02/14) à LLA e 7,14% (01/14) à LLC. Em 94,59% (35/37) dos casos havia lipodistrofia acentuada, nos outros casos 5,41% (02/37) era moderada, ambos de LMA.

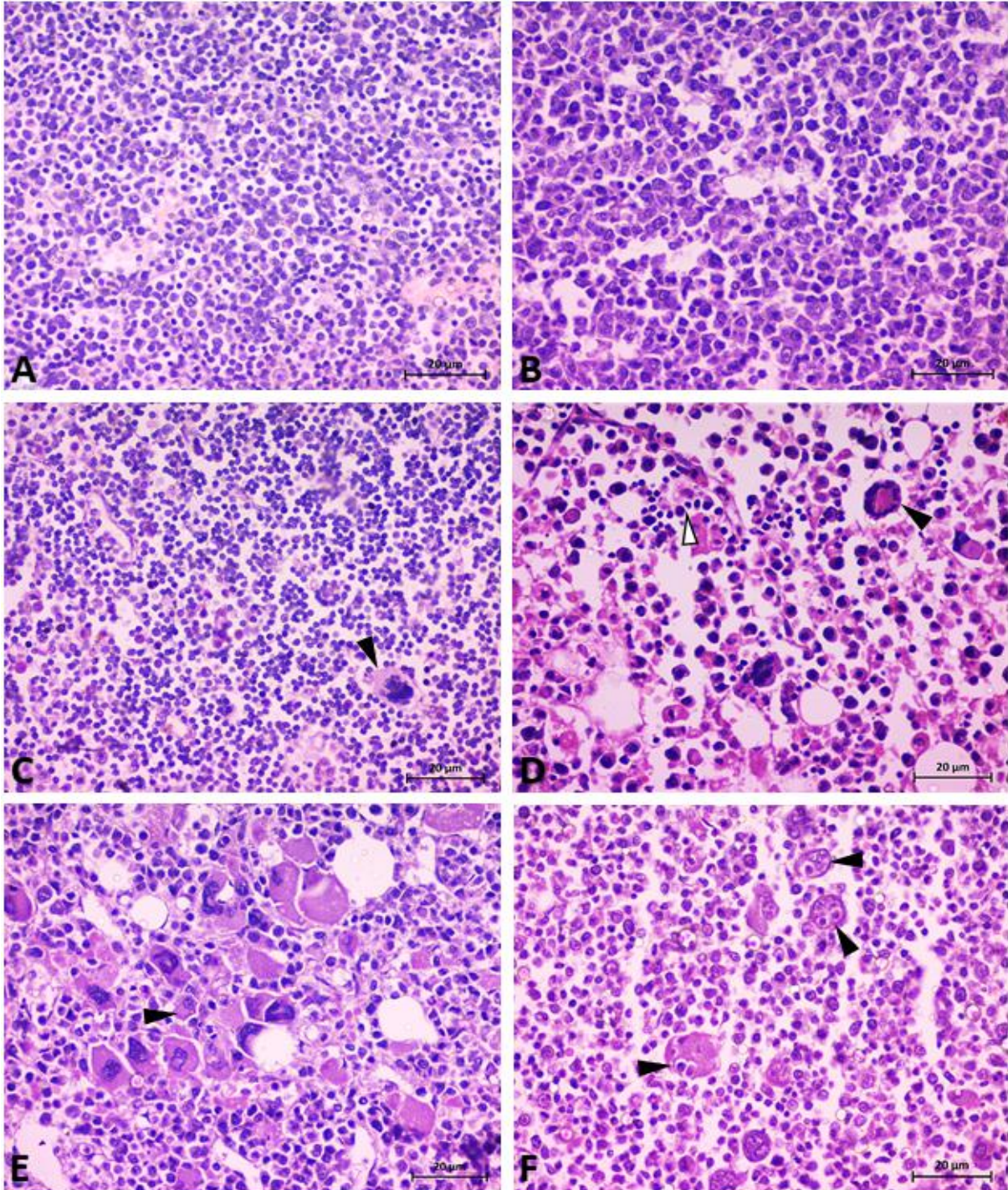
Tabela 10 - Distribuição da média de mitoses de acordo com o tipo de leucemia

| Leucemia (n) | Média | Figuras de Mitose | | |
|-------------------------------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | DP ¹ | Min. ² | Máx. ³ |
| Leucemia Linfóide Aguda (15) | 0,713 | 0,57 | 0,1 | 2,5 |
| Leucemia Linfóide Crônica (1) | 0,4 | - | 0,4 | 0,4 |
| Leucemia Mieloide Aguda (12) | 0,5 | 0,362 | 0,2 | 1,3 |
| Leucemia Mieloide Crônica (9) | 0,788 | 0,615 | 0,2 | 2,3 |

¹Desvio padrão; ²Número de mitoses mínimo e ³Máximo

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Figura 10 - Caracterização histopatológica das leucemias em gatos: **(A)** Leucemia linfóide aguda, grande quantidade de linfoblastos médios e grandes. Macho, 4 anos. **(B)** Leucemia linfóide aguda, grandes linfócitos neoplásicos substituindo todo o parênquima medular. Macho, 6 anos. **(C)** Leucemia linfóide crônica, linfócitos maduros substituindo o parênquima medular, e megacariócito hipolobulado atípico (*cabeça de seta*). Macho, 5 anos. **(D)** Leucemia mieloide aguda, grande quantidade de precursores eritroides em vários estágios de maturação (*cabeça de seta branca*) e megacariócito multinucleado não lobular (*cabeça de seta preta*). Macho, 2 anos. **(E)** Leucemia mieloide aguda, intensa proliferação de megacariócitos atípicos e micromegacariócitos (*cabeça de seta*). Macho, 6 anos. **(F)** Leucemia mieloide crônica, grande quantidade de megacariócitos realizando emperipoese (*cabeças de seta*). Fêmea, 1 ano. (Hematoxilina e Eosina)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Em todos os casos avaliados foram observadas células neoplásicas no lúmen de vasos sanguíneos em diversos órgãos, em quantidades que variavam de leve (40,54% - 15/37), moderada (43,24%, 16/37) e acentuada (16,25%, 6/37). O fígado foi o órgão com maior número de infiltrações (83,78%, 31/37) que predominavam na região portal em 54,84% (17/37) (Figura 11 A), em 19,35% (06/37) abrangia as regiões portal e mediozonal, e 25,81% (08/37) em região portal e sinusoides (Figura 11 B). Diferente das leucemias linfoides, onde as células possuem maior adesão, nas leucemias mieloides as células se afastavam mais entre si (Figura 11 C).

O segundo órgão com maior infiltração foi o baço (56,76%, 21/37) e essa ocorreu de forma difusa na polpa branca e vermelha (Figura 11 D), seguido pelos pulmões (45,95%, 17/37) predominantemente ao redor de brônquios, bronquíolos e capilares. Nos rins (40,54%, 15/37) ocorreu principalmente na região corticomedular e envolta de vasos sanguíneos, enquanto nos linfonodos (29,73%, 11/37) foi de forma difusa; no coração (21,62%, 8/37) envolta de vasos. No encéfalo (18,92%, 07/37), foi observado normalmente em meninges, entretanto, o neurópilo também era acometido, algumas vezes demonstrando malácia e hemorragia (Figura 11 E); e no intestino infiltrou-se envolta de vasos (8,11%, 03/37). Hematopoese extramedular em fígado, baço e linfonodos ocorreu em todas as leucemias, variando normalmente de leve a moderada (Figura 11. F). O percentual de infiltrações relacionando os órgãos com o total de indivíduos por gênero, faixa etária e tipo de leucemia estão descritos na Tabela 11.

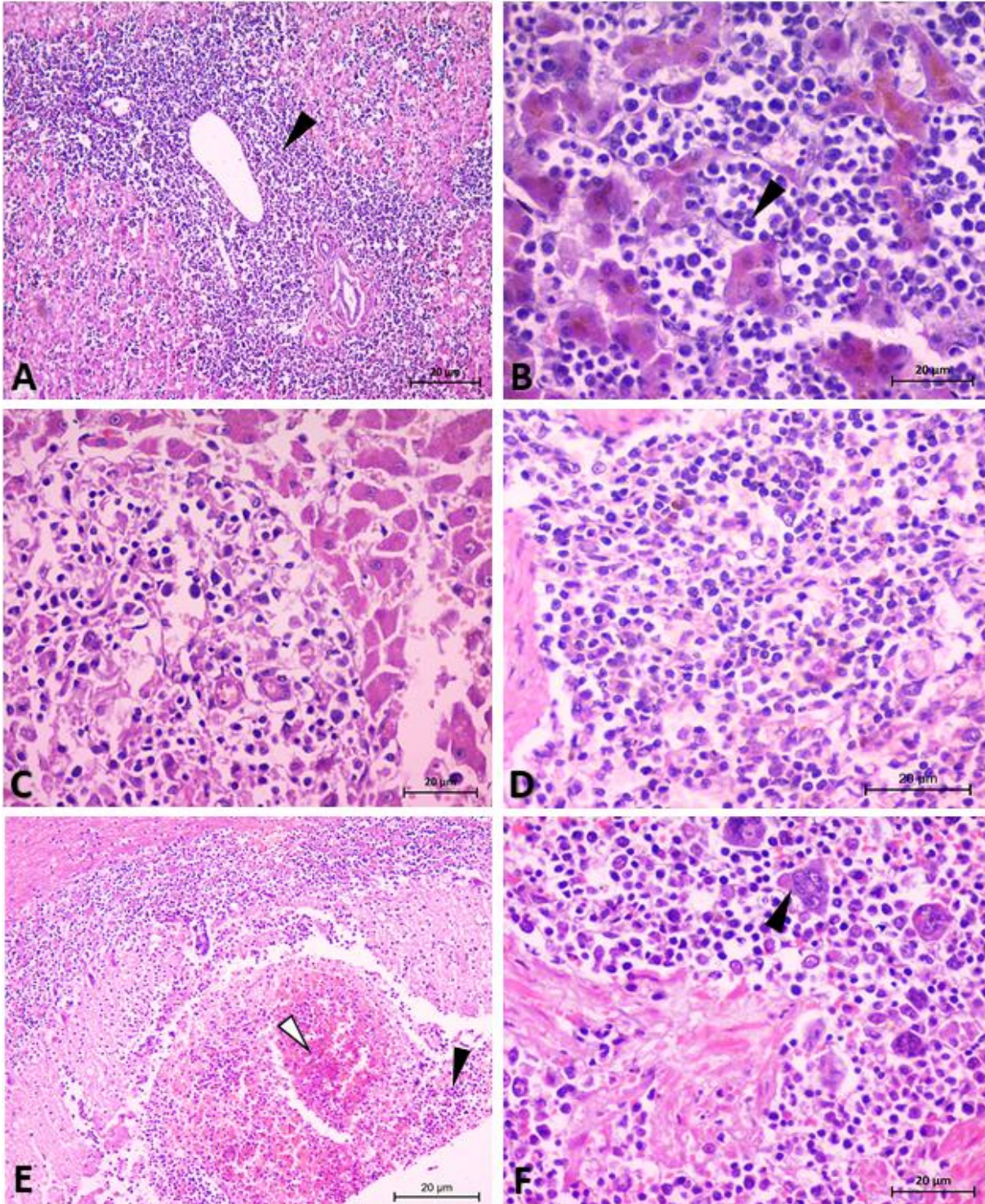
Tabela 11 - Relação dos órgãos com infiltração neoplásica sobre o total de gatos por faixa etária e tipo celular da leucemia

| IDADE (n) | ÓRGÃOS ¹ | | | | | | | |
|---------------|---------------------|---------|----------|--------|-----------|-----------|--------|--------|
| | BAÇO | CORAÇÃO | ENCÉFALO | FÍGADO | INTESTINO | LINFONODO | PULMÃO | RINS |
| Filhotes (01) | - | - | - | 100% | - | - | - | - |
| Adultos (27) | 37,04% | 25,93% | 25,93% | 85,19% | 11,11% | 33,33% | 44,44% | 40,74% |
| Idosos (04) | 50% | - | - | 100% | - | - | 50% | 20% |
| NI (5) | - | 20% | - | 60% | - | 40% | 60% | 60% |
| TIPO (n) | | | | | | | | |
| LLA (15) | 73,33% | 40% | 26,67% | 100% | 20% | 40% | 53,33% | 60% |
| LLC (01) | - | - | - | 100% | - | 100% | - | - |
| LMA (12) | 66,67% | 16,67% | 16,67% | 66,67% | - | 16,67% | 58,33% | 33,33% |
| LMC (09) | 37,50% | - | 11,11% | 77,78% | - | 25% | 22,22% | 25% |

¹Valores elaborados com base no total de indivíduos idade e tipo celular; NI: Não identificado; -: Ausência de infiltrações. LLA: Leucemia linfóide aguda, LLC: Leucemia linfóide crônica, LMA: Leucemia mieloide aguda, LMC: Leucemia mieloide crônica

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Figura 11 - Caracterização histológica e infiltrativa da leucemia em gatos domésticos: **(A)** Infiltração acentuada e multifocal de leucemia linfoide aguda em região de tríade portal (*cabeça de seta*). Macho, 2 anos. **(B)** Leucemia linfoide aguda infiltrando e distendendo sinusoides hepáticos (*cabeça de seta*). Macho, 2 anos. **(C)** Leucemia mieloide aguda infiltrando em fígado com aspecto dissociado das células neoplásicas. Macho, 2 anos. **(D)** Leucemia linfoide aguda difusa no parênquima esplênico. Macho, 6 anos. **(E)** Leucemia linfoide aguda em córtex do cerebelo com hemorragia e malácia (*cabeça de seta branca*), além da infiltração neoplásica (*cabeça de seta preta*). Macho, 6 anos. **(F)** Leucemia mieloide aguda: baço com megacariócitos típicos realizando hematopoese extramedular (*cabeça de seta*). Fêmea, 7 anos. (Hematoxilina e Eosina)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

Nos exames de IHQ anti-FeLV das medulas ósseas com leucemia, 78,38% (29/37) demonstraram-se positivos conforme descrito na Tabela 12. Houve marcação discreta em 35,14% (13/37) dos casos, moderada em 29,73% (11/37) e acentuada em 13,51% (5/37). Todos os 10 animais previamente testados e positivos para FeLV por ELISA, sete possuíam positividade simultânea na IHQ. No total houve marcação positiva anti-FeLV em 77,78% (7/9) das LMC (Figura 12 A C, D); 66,67% (8/12) das LMA (Figura 12 B, D) e 86,67% (13/15) das LLA (Figura 12 F), além do único caso de LLC.

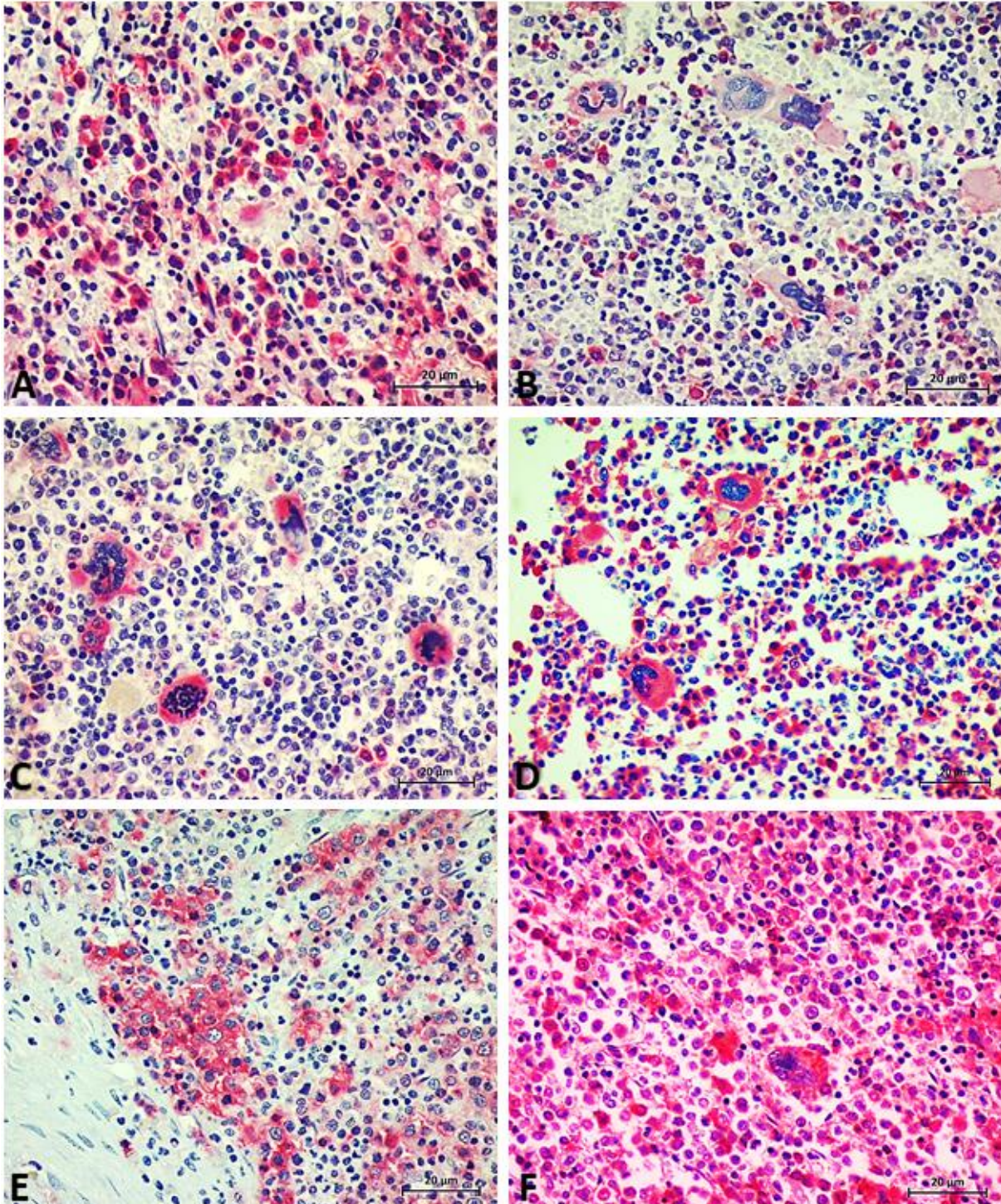
Tabela 12 - Imuno-histoquímica e ELISA para o vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos com leucemia de acordo com gênero e idade

| Animal | Gênero | Idade (anos) | Leucemia* | ELISA | IHQ ^a |
|--------|----------------|----------------|-----------|-------|------------------|
| F1 | M | - ¹ | LMA | ... | - |
| F2 | F | 4 | LLA | ... | + |
| F3 | M | 6 | LMC | ... | ++ |
| F4 | M | 2 | LMA | ... | +++ |
| F5 | F | 2 | LMC | ... | - |
| F6 | F | 7 | LMA | ... | ++ |
| F7 | M | 9 | LLA | ... | + |
| F8 | M | 5 | LLA | ... | ++ |
| F9 | F | 10 | LLA | ... | ++ |
| F10 | F | 10 | LMA | ... | +++ |
| F11 | M | - | LMA | ... | ++ |
| F12 | M | - | LLA | ... | ++ |
| F13 | M | 11 | LMC | + | - |
| F14 | - ¹ | 3 | LLA | ... | + |
| F15 | M | 2 | LMA | ... | +++ |
| F16 | F | 2 | LLA | + | - |
| F17 | F | 1 | LLA | ... | + |
| F18 | F | 11 | LMA | + | + |
| F19 | F | - | LLA | ... | + |
| F20 | M | 6 | LMC | + | + |
| F21 | M | 11 | LMC | ... | ++ |
| F22 | F | 8 | LMA | ... | + |
| F23 | F | 12 | LMC | ... | + |
| F24 | M | - | LMA | ... | - |
| F25 | M | 6 | LLA | + | ++ |
| F26 | M | 6 | LLA | ... | + |
| F27 | M | 2 | LMA | ... | - |
| F28 | F | 4 | LMC | ... | + |
| F29 | M | 2 | LLC | ... | + |
| F30 | F | 9 | LMC | ... | ++ |
| F31 | M | 2 | LLA | + | +++ |
| F32 | F | 4 | LMC | + | ++ |
| F33 | M | 4 | LLA | ... | + |
| F34 | M | 3 | LLA | + | +++ |
| F35 | F | 7 | LMA | + | ++ |
| F36 | M | 2 | LLA | + | - |
| F37 | F | 4 | LMA | ... | - |

^a:- marcação ausente, +: leve, ++: moderada, +++: acentuada. ** LLA: Leucemia linfoide aguda, LLC: Leucemia linfoide crônica, LMA: Leucemia mieloide aguda, LMC: Leucemia mieloide crônica. **: FA: Fosfatase Alcalina (AP), PR: Peroxidase (HRP). ¹:- Informações não recuperadas; ...:ELISA para FeLV não realizado; M: macho, F: fêmea

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

Figura 12 - Imuno-histoquímica para o vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos domésticos com leucemia: **(A)** Marcação acentuada em leucemia mieloide crônica. Macho, 2 anos. **(B)** Marcação moderada em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 7 anos. **(C)** Marcação leve em leucemia mieloide crônica. Fêmea, 4 anos. **(D)** Marcação acentuada em leucemia mieloide aguda. Fêmea, 2 anos. **(E)** Marcação moderada em leucemia mieloide crônica. Macho, 11 anos. **(F)** Marcação acentuada em leucemia linfóide aguda. Macho, 2 anos (Polímero ligado a fosfatase alcalina [MACH 4 AP], cromógeno *Red Warp®*)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018

5.4 DISCUSSÃO

Em gatos, as leucemias são mais comuns do que nas outras espécies, ocupando cerca de um terço de todos os tumores hematopoiéticos, as quais dois terços são de origem mieloide e o restante linfoide (WEISS, 2006; MORRIS; DOBSON, 2008; NELSON; COUTO, 2010; VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Os dados que obtivemos nesta pesquisa vão de acordo com a literatura e demonstram uma proporção entre mieloide/linfoide de aproximadamente 2/1.

A prevalência de FeLV no Brasil nas diferentes regiões varia de 8% a 47,5% (TEIXEIRA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2012; BIEZUS, 2017; LACERDA et al., 2017; POFFO et al., 2017) e, recentemente, um estudo realizado na região de Lages-SC, onde foi realizada esta pesquisa, demonstrou prevalência de 22,26% (61/274) e apontou importantes falhas nas medidas de controle e prevenção da infecção, como manejo populacional, livre acesso à rua e baixa adesão de programas vacinais (BIEZUS, 2017). A alta prevalência de FeLV nos gatos na localidade deste estudo, em associação à positividade de aproximadamente 80% das leucemias para FeLV, indicam a intensa relação entre a infecção e o desenvolvimento das leucemias.

Apesar de não constar nos históricos, a maior parte da população avaliada era composta por gatos inteiros, não vacinados, resgatados e com livre acesso à rua, fatores de risco para a infecção pelo FeLV (YILMAZ; ILGAZ; HARBOUR, 2000; GLEICH; KRIEGER; HARTMANN, 2009; MUCHAAMBA et al., 2014; BIEZUS, 2017; HAGIWARA; LACERDA et al., 2017; POFFO et al., 2017). Além de explicar a relação entre os vírus e as leucemias, os dados de prevalência e a positividade da IHQ anti-FeLV, reforçam a necessidade da implantação de medidas profiláticas e de controle do FeLV.

No presente estudo, houve positividade para FeLV em 66,67% dos casos de LMA, 77,78% de LMC, 87% dos gatos com LLA e no caso único caso com LLC, semelhante a outros trabalhos que encontraram associação com o FeLV em cerca de 80% das leucemias mieloides e cerca de 60 a 70% nas linfoides (FRANCIS; COTTER; HARDY, 1979; COMAZZI et al., 2000; MUNÓZ, 2005; PRIHIRUNKIT; NARKKONG; APIBAL, 2008; HISASUE et al., 2009; MARTINS et al., 2011; SHIRANI et al., 2013; DAVIS; HUME; STOKOL, 2017).

Existem poucos relatos sobre leucemias mieloides em gatos, nos quais as idades variam de poucos meses de vida até oito anos (citando média de quatro anos de idade) e predominam em machos (COMAZZI et al., 2000; MUNÓZ, 2005; HISASUE et al., 2009; MARTINS et al., 2011; DAVIS; HUME; STOKOL, 2017). No presente estudo, os gatos com LMA apresentavam média de idade ligeiramente superior aos com LLA. Pesquisas apontam médias superiores de idade em LMA também em cães e equinos, variando de cinco a 11 anos (COOPER et al., 2017; DAVIS; HUME; STOKOL, 2017; MORRIS; DOBSON, 2008).

As LLA são muitas vezes associadas à linfócitos do tipo T e são agrupadas aos linfomas linfoblásticos, principalmente quando essas células tumorais se infiltram na medula óssea (WEISS, 2006; VALLI, 2007; HARVEY, 2012; DAVIS; HUME; STOKOL, 2017), entretanto, na ausência de massas tumorais externas ao canal medular o termo LLA se torna mais adequado. Acredita-se que 60 a 80% destes casos estejam associados à infecção pelo FeLV (VAIL; KAREN, 2006). Foi observada elevada associação do FeLV nas LLA, ao contrário do observado por Valli et al. (2000), que observou poucos casos de leucemia linfóide, a maioria em gatos FeLV negativos. Acredita-se que essa diferença decorra da alta prevalência de FeLV na localidade onde realizou-se o presente trabalho, além dos animais possuírem média de idade inferior, sendo mais susceptíveis a infecção e propensos a desenvolverem leucemia (HOOVER et al., 1976; BIEZUS, 2017).

Um levantamento de doenças linfoproliferativas em gatos demonstrou proporção entre LLA e LLC aproximada de dois para um (VALLI et al., 2000), diferente deste estudo que demonstrou proporção de 15 para um. O único caso de LLC foi diagnosticado em um gato adulto positivo para FeLV por IHQ e ELISA, condição essa já relatada (KYLE; WRIGHT, 2010). A LLC geralmente tem maior associação ao envelhecimento do que a infecção pelo FeLV (TEBB et al., 2004; CAMPBELL; HESS; WILLIAMS, 2013). Em humanos as evidências apontam que estimulações antigênicas e auto-antigênicas em conjunto com citocinas e interação intercelular são fatores promotores da proliferação dos linfócitos neoplásicos da LLC e impedem que realizem apoptose (BORCHE et al., 1990; CHIORAZZI; RAI; FERRARINI, 1995; DÖHNER et al., 2000). Com base nestas informações, concorda-se com a hipótese de que o FeLV é capaz de originar a LLC, em decorrência das alterações a nível genômico, inclusive em associação com fatores farmacológicos, tóxicos e ambientais. Visto a raridade dos casos de LLC, principalmente associadas

ao FeLV, investigações específicas no DNA seriam indispensáveis para confirmação desta afirmação hipotética.

Neste estudo, observaram-se casos de pneumonia associados à *T. gondii* e *Pseudomonas* sp., além de lesões cutâneas e glosais bacterianas, o que estão diretamente associados à ocorrência mútua ou isolada da supressão imunológica promovida pelo FeLV e a insuficiente produção de células imunocompetentes pela medula nos casos de leucemia, sendo fatores que implicam diretamente na redução da qualidade de vida e podem promover o óbito (LINENBERGER et al., 1995). Enfermidades secundárias provocadas por patógenos oportunistas (vírus, fungos, bactérias e protozoários), tal como rinotraqueíte e calicivirose felinas, aspergilose (*Aspergillus* sp.), micoplasmose (*Mycoplasma haemofelis*) e toxoplasmose (*T. gondii*), já foram relacionadas a leucemia em gatos (LINENBERGER et al., 2005; HISASUE et al., 2009; ALMEIDA et al., 2016).

Em todos os casos de leucemia linfóide, foram identificadas infiltrações neoplásicas nos pulmões, tornando mais aceitável a relação do edema à estase de células neoplásicas nos capilares pulmonares, juntamente com o quadro de anemia intensa e disfunções hepáticas associadas à neoplásica. As efusões pleurais podem estar atreladas às infiltrações neoplásicas de parênquima pulmonar e pleura e obstruções de vasos linfáticos do tórax, mas principalmente às infecções concomitantes (FAIZ; SAHAY; JIMENEZ, 2014). Os quadros de ascite estão igualmente relacionados aos fatores sistêmicos citados no edema pulmonar (MURAKAMI; SHIMIZU, 2013; FAIZ; SAHAY; JIMENEZ, 2014).

Alterações macroscópicas promovidas por disfunções da pressão vascular foram frequentes, tais como edema pulmonar e ascite. Em humanos, o edema pulmonar está relacionado principalmente à toxicidade dos quimioterápicos sobre o endotélio vascular (CHOI et al., 2014), diferente do observado nesta pesquisa em que nenhum dos animais foi tratado para leucemia.

As hemorragias e trombozes ocorrem com relativa frequência nas leucemias, e estão associadas à grande mortalidade em humanos, principalmente associado com tratamentos quimioterápicos (LINENBERGER et al., 1995; BARBUI; FALANGA, 2005; LEE, 2010). A leucemia tem forte influência sobre a produção de fatores pró-coagulatórios (PCA), em especial Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e Interleucina 1-beta (IL-1 β), e promove alta atividade fibrinolítica e proteolítica através das células leucêmicas (BARBUI; FALANGA, 2005; RICKLES et al., 2007). Nos

gatos investigados neste trabalho, foram observados poucos casos de distúrbios hemorrágicos, porém sabe-se que nenhum dos animais foi submetido a tratamento quimioterápico, que é o principal promotor da trombocitopenia. Acredita-se que os casos observados neste trabalho estão diretamente relacionados às alterações morfológicas dos megacariócitos e as obstruções vasculares causadas por êmbolos neoplásicos e que decorrem em acidentes hemorrágicos.

Os eosinófilos observados em várias LMA já foram descritos em gatos (GELAIN et al., 2006; GILROY et al., 2011). A associação dos eosinófilos aos processos leucêmicos é consequência da produção de fatores eosinofilo-poéticos e eosinotáticos pelas células clonais (CATOVSKY; GALTON, 1980; ISHIBASHI et al., 1986; GILROY et al., 2011). Emperipoese megacariocítica também foi observada em alguns casos de LMA e LMC, esse processo biológico anômalo, sem atividade lisossomal, é frequentemente associado às neoplasias hematopoiéticas e não possui significância clínica conhecida (LEE, 1989; RASTOGI et al., 2014).

Microscopicamente, as infiltrações hepáticas margeavam espaços portais e ocasionalmente expandiam até a região mediozonal, evidenciando o padrão lobular. Essas alterações hepáticas ocorreram mais intensamente nas LLA, formando pequenas nodulações. Em seres humanos, a infiltração das leucemias agudas pode ou não promover alterações clínicas, como a icterícia (MURAKAMI; SHIMIZU, 2013). Quanto à localização, as linfoides tendem a predominar na região portal (CESUR; TOPCUOGLU, 2004) e nas mieloides na região portal e nos sinusoides (LITTEN; RODRÍGUES; MINIACI, 2006; MURAKAMI; SHIMIZU, 2013). Assim como observado nesse estudo, a infiltração das leucemias agudas pode ser tão massiva que causa disfunção hepática levando a icterícia (CESUR; TOPCUOGLU, 2004; LITTEN; RODRÍGUES; MINIACI, 2006).

A hepatomegalia é considerada uma lesão importante das LMC e a infiltração de células neoplásicas pode levar a disfunções de hepatócitos (FADERL et al., 1999; VALLI, 2007). Nas LLC, a infiltração tende a ser mais agressiva, possibilitando a ocorrência de isquemias e infartos hepáticos pela obstrução das células neoplásicas (MURAKAMI; SHIMIZU, 2013). Diferente da literatura, que aponta o aumento de tamanho do fígado decorrente de infiltração de células neoplásicas frequente nas leucemias crônicas, nesta pesquisa a maior parte dos quadros de hepatomegalia estava relacionado a lipidose hepática em leucemias agudas, creditada principalmente pelos distúrbios alimentares abruptos e intensos.

Células neoplásicas foram observadas com frequência em linfonodos, rins e baço, principalmente nos quadros agudos, assim como demonstrado em outros gatos (COMAZZI et al., 2000; MARTINS et al., 2011; SHIRANI et al., 2013). Normalmente a infiltração nestes órgãos é concomitante à hematopoese extramedular, devido a disfunção medular intensa (COMAZZI et al., 2000; SHIRANI et al., 2013). Infiltrações em coração, pulmões e intestinos são pouco relatadas em gatos, em humanos normalmente estão relacionados com LLA e menos frequente em LMA (BARBARIC et al., 2002; POTENZA et al., 2003; MALBORA et al., 2010; WERNER et al., 2016), semelhante ao observado neste trabalho, indicando que as LLA possuem intensa capacidade infiltrativa também na espécie em questão. O encéfalo é um importante local de infiltração de leucemias em humanos, porém, assim como observado neste estudo, os sinais neurológicos são incomuns (RATTERMAN et al., 2014; STRATI et al., 2016).

Três dos dez animais positivos para FeLV por ELISA não foram positivos por IHQ. Resultados negativos na IHQ em animais previamente positivos no ELISA não permitem descartar que o processo neoplásico está associado à infecção pelo FeLV, já que a inserção do DNA pró-viral pode promover a neoplasia mesmo após a eliminação completa do vírus, ou até mesmo que estejam associados a mecanismos oncogênicos não-agudos associados à infecção por FIV (FUJINO; OHNO; TSUJIMOTO, 2008; MAGDEN; QUACKENBUSH; MAJOR et al., 2010; FIGUEIREDO; ARAÚJO JÚNIOR, 2011; HARTMANN, 2012b; SYKES; HARTMANN, 2014). Um destes animais era parte do estudo retrospectivo, não permitindo descartar que o ELISA tinha sido realizado distante do momento do óbito, ou que houve manutenção prolongada em formol antes do processamento, interferindo na avaliação IHQ (WEBSTER et al., 2009).

5.5 CONCLUSÃO

Nesse estudo observou-se que as leucemias mieloides ocorreram com maior frequência que as linfoides e em animais com média de idade ligeiramente superior, e as leucemias de cursos agudos (para ambos os tipos celulares) predominaram sobre as de curso crônico. As leucemias infiltram-se principalmente em fígado, baço e linfonodos, e o comportamento das linfoides e mieloides agudas tem maior agressividade em comparação às crônicas. As alterações macroscópicas são pouco

específicas, ocasionalmente observa-se palidez de mucosas e alterações decorrentes de distúrbios hemodinâmicos (edema pulmonar, efusão pleura e ascite) e alimentares, como caquexia e lipidose hepática.

Os dados obtidos através da IHQ anti-FeLV permitem afirmar que a maior parte das leucemias dos gatos da região de Lages-SC ainda tem íntima associação com o FeLV, sendo necessário a implantação de medidas de controle e profilaxia.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os linfomas multicêntricos e mediastinais foram os tipos histológicos mais frequentes e os alimentares os que menos ocorreram nos gatos avaliados neste estudo. Linfomas de grau alto e intermediário foram os mais frequentes, principalmente os de células pequenas não clivadas (LCPnc) e mistos difusos (LMd);

Houve alta positividade dos linfomas para o FeLV nos tumores multicêntricos e mediastinais, dos tipos LCPnc e LMd. Os gatos adultos foram mais positivos na IHQ devido aos hábitos reprodutivos que os expõe amplamente aos diversos fatores de risco para infecção pelo FeLV;

Efusão pleural, ascite, atelectasia e edema pulmonar, hepatomegalia e lipidose foram as principais alterações observadas em animais com linfomas e na maioria dos casos estavam diretamente relacionadas com o local de origem ou com compressão de estruturas adjacentes;

As leucemias mieloides foram mais frequentes do que as linfoides, entretanto as alterações anatomopatológicas mais importantes estavam relacionadas às linfoides em decorrência do maior potencial infiltrativo das células;

O curso das leucemias, mieloides e linfoides, foi predominantemente agudo, porém quadros de leucemia mielóide crônica também ocorreram com frequência, se comparado a leucemia linfóide crônica;

Houve intensa associação das leucemias com o FeLV, mais pronunciada nas linfoides agudas em animais adultos;

Alterações macroscópicas em leucemias eram pouco específicas, sendo observado efusão pleural, ascite, hepatomegalia e lipidose hepática. Palidez de mucosas, hipoviscosidade sanguínea e esplenomegalia eram outros achados frequentes;

A alta associação observada entre a infecção pelo FeLV com o desenvolvimento dos linfomas e das leucemias demonstra a necessidade de intervenções que prospectem medidas de controle e profilaxia viral, além de manejo populacional e conscientização dos tutores dos gatos.

7 REFERÊNCIAS

ABINPET, **Setor pet deve crescer 7,4% até o final de 2015, mas não sem efeitos da crise**. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/site/setor-pet-deve-crescer-74-ate-o-final-de-2015-mas-nao-sem-efeitos-da-crise/>>. Acesso em 18, set. 2017.

ADAM, F. et al. Clinical pathological and epidemiological assessment of morphologically and immunologically confirmed canine leukaemia. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 3, p. 181–195, 2009.

ALLEMAN, A. R. Abdominal, thoracic, and pericardial effusions. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 33, n. 1, p. 89–118, 2003.

ARGYLE, D. J.; PECCEU, E. Canine and feline lymphoma: challenges and opportunities for creating a paradigm shift. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 14, p. 1–7, 2016.

ARJONA, A. et al. Seroepidemiological Survey of Infection by Feline Leukemia Virus and Immunodeficiency Virus in Madrid and Correlation with Some Clinical Aspects. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 9, p. 3448–3449, 2000.

BARBARIC, D. et al. It is ALL in the heart: A patient with acute lymphoblastic leukemia and cardiac infiltration at time of diagnosis. **Leukemia and Lymphoma**, v. 43, n. 12, p. 2417–2419, 2002.

BARBUI, T.; FALANGA, A. Hemorrhage and thrombosis in acute leukemia. **Haematologica reports**, v. 1, n. 9, p. 48–51, 2005.

BARRS, V.; BEATTY, J. Feline alimentary lymphoma. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 14, n. 3, p. 191–201, 2012.

BEATTY, J. Viral causes of feline lymphoma: Retroviruses and beyond. **Veterinary Journal**, v. 201, n. 2, p. 174–180, 2014.

BENNETT, J. M. et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. **British Journal of Haematology**, v. 33, n. 4, p. 451–8, 1976.

BENNETT, J. M. et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). **British journal of haematology**, v. 78, p. 325–9, 1991.

BERZINS, M. A. V. D. S. **Velhos, Cães e Gatos: Interpretação de Uma Relação**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2000.

BIEZUS, G. **Infecção Pelos Vírus da Leucemia (FeLV) e Imunodeficiência (FIV) em Gatos do Planalto de Santa Catarina: Prevalência, Fatores Associados, Alterações Clínicas e Hematológicas**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.

BORCHE, L. et al. Evidence that chronic lymphocytic leukemia B lymphocytes are frequently committed to production of natural autoantibodies. **Blood**, v. 76, n. 3, p. 562–9, 1990.

BOUND, N. J.; PRIESTNALL, S. L.; CARIOU, M. P. Lingual and renal lymphoma in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, n. 4, p. 272–275, 2011.

CALDAS, A. P. F. et al. Detecção do provírus da Imunodeficiência Felina em gatos domésticos pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 20–25, 2000.

CALLANAN, J. J. et al. Histologic classification and immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. **Veterinary Pathology**, v. 33, p. 264–72, 1996.

CAMPBELL, M. W.; HESS, P. R.; WILLIAMS, L. E. Chronic lymphocytic leukaemia in the cat: 18 cases (2000-2010). **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 11, n. 4, p. 256–264, 2013.

CASALS, J. B. et al. The Use of Animal Models for Stroke Research: A Review. **Comparative Medicine**, v. 61, n. 4, p. 305–313, 2011.

CATOVSKY, D.; GALTON, D. A. G. The Association of Eosinophilia with Lymphoblastic Leukaemia or Lymphoma: A study of Seven Patients. **British journal of haematology**, v. 45, p. 523–534, 1980.

CAVALLI, F. P. ISAACSON, R. GASCOYNE, E. Z. MALT Lymphomas. **Hematology**, v. 2001, n. 1, p. 241–258, 2001.

CENTER, S. A. Feline Hepatic Lipidosis. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 47, n. 3, p. 683–702, 2017.

CESUR, S.; TOPCUOGLU, P. Acute hepatic failure in a case of acute lymphoblastic leukemia. **Turkish Journal Of Medical Sciences**, v. 34, p. 275–279, 2004.

CHHETRI, B. K. et al. Comparison of risk factors for seropositivity to feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus among cats: A case-case study. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 1–7, 2015.

CHIARINI, F. et al. Advances in understanding the acute lymphoblastic leukemia bone marrow microenvironment: From biology to therapeutic targeting. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1863, p. 449–463, 2016.

CHINO, J. et al. Cytomorphological and immunological classification of feline lymphomas: Clinicopathological features of 76 cases. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 6, p. 701–707, 2013.

CHIORAZZI, N.; RAI, K. R.; FERRARINI, M. Chronic lymphocytic leukemia. **New England Journal of Medicine**, v. 333, p. 1052–1057, 1995.

CHOI, M. H. et al. Acute pulmonary complications in patients with hematologic malignancies. **Radiographics: a review publication of the Radiological Society of North America, Inc**, v. 34, n. 6, p. 1755–68, 2014.

COMAZZI, S. et al. Erythremic myelosis (AML6er) in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 2, n. 4, p. 213–215, 2000.

COUTO, C. G. Leucemias. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. (Eds.). **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 1189–1196.

COUTO, C. G. What is new on feline lymphoma? **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 3, n. 4, p. 171–176, 2001.

CULLEN, J. M.; STALKER, M. J. Liver and Biliary System. In: MAXIE, M. G. (Ed.). **Pathology of Domestic Animals**. 6. ed. Saint Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2016. p. 258–352.

DAVIS, L. L.; HUME, K. R.; STOKOL, T. A retrospective review of acute myeloid leukaemia in 35 dogs diagnosed by a combination of morphologic findings, flow cytometric immunophenotyping and cytochemical staining results (2007-2015). **Veterinary and Comparative Oncology**, p. 1–8, 2017.

DE ALMEIDA, N. R. et al. Prevalence of feline leukemia virus infection in domestic cats in Rio de Janeiro. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 14, n. 8, p. 583–586, 2012.

DÖHNER, H. et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. **The New England journal of medicine**, v. 343, n. 26, p. 1910–6, 2000.

EDWARDS, D. S. et al. Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs. **Veterinary and comparative oncology**, v. 1, n. 4, p. 200–206, 2003.

ERKELAND, S. et al. Large-Scale Identification of Disease Genes Involved in Acute Myeloid Leukemia. **Journal of Virology**, v. 78, n. 4, p. 1971–1980, 2004.

FADERL, S. et al. The Biology of chronic Myeloid Leukemia. **The New England journal of medicine**, 1999.

FAIZ, S. A.; SAHAY, S.; JIMENEZ, C. A. Pleural effusions in acute and chronic leukemia and myelodysplastic syndrome. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, v. 20, n. 4, p. 340–346, 2014.

FARIAS, M. G.; CASTRO, S. M. DE. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 2, p. 91–98, 2004.

FIGUEIREDO, A. S.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P. Vírus da leucemia felina: análise da classificação da infecção, das técnicas de diagnóstico e da eficácia da vacinação com o emprego de técnicas sensíveis de detecção viral. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1952–1959, 2011.

FONDEVILA, D.; VILAFRANCA, M.; PUMAROLA, M. Primary Central Nervous System T-cell Lymphoma in a Cat. **Veterinary Pathology**, v. 35, n. 6, p. 550–553, 1998.

FONTAINE, J.; HEIMANN, M.; DAY, M. J. Cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma in the cat: A review of the literature and five new cases. **Veterinary Dermatology**, v. 22, n. 5, p. 454–461, 2011.

FRANCIS, D. P.; COTTER, S. M.; HARDY, W. D. Comparison of Virus-positive and Virus-negative Cases of Feline Leukemia and Lymphoma Comparison of Virus-positive and Virus-negative Cases of Feline. **Cancer Research**, v. 39, n. October, p. 3866–3870, 1979.

FUJINO, Y.; OHNO, K.; TSUJIMOTO, H. Molecular pathogenesis of feline leukemia virus-induced malignancies: Insertional mutagenesis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 123, n. 1–2, p. 138–143, 2008.

GABOR, L. J. et al. Feline leukaemia virus status of Australian cats with lymphosarcoma. **Australian Veterinary Journal**, v. 79, n. 7, p. 476–81, 2001.

GABOR, L. J.; CANFIELD, P. J.; MALIK, R. Immunophenotypic and histological characterisation of 109 cases of feline lymphosarcoma. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 7, p. 436–41, 1999.

GATES, M. C.; VIGEANT, S.; DALE, A. Prevalence and risk factors for cats testing positive for feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus infection in cats entering an animal shelter in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 65, n. 6, p. 285–291, 2017.

GELAIN, M. E. et al. Chronic eosinophilic leukemia in a cat: Cytochemical and immunophenotypical features. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 35, n. 4, p. 454–459, 2006.

GHOSH, S. K.; FALLER, D. V. Feline leukemia virus long terminal repeat activates collagenase IV gene expression through AP-1. **Journal of virology**, v. 73, n. 6, p. 4931–40, 1999.

GIEGER, T. Alimentary Lymphoma in Cats and Dogs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 41, n. 2, p. 419–432, 2011.

GILROY, C. et al. Eosinophilia in a cat with acute leukemia. **Canadian Veterinary Journal**, v. 52, n. 9, p. 1004–1008, 2011.

GLEICH, S. E.; KRIEGER, S.; HARTMANN, K. Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 12, p. 985–992, 2009.

GREENLEE, P. G. et al. Lymphomas in dogs a morphologic, immunologic, and clinical study. **Cancer**, v. 66, n. 3, p. 480–490, 1990.

GUIJA DE ARESPOCHAGA, A.; SCHWENDENWEIN, I.; WEISSENBOCK, H. Retrospective Study of 82 Cases of Canine Lymphoma in Austria based on the Working Formulation and Immunophenotyping. **Journal of Comparative Pathology**, v. 136, n. 2–3, p. 186–192, 2007.

GUIMARÃES-OKAMOTO, P. T. C. et al. Primary Diffuse Large B Cell Lymphoma in Kidney with Involvement of Central Nervous System and Heart in a Siamese Cat. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, n. September, p. 1–4, 2016.

HAGIWARA, M. K.; JÚNIOR, A. R.; LUCAS, S. R. R. Estudo clínico da infecção de felinos pelo vírus da leucemia felina em São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 4, n. 1, p. 35–38, 1997.

HARDY, W. D. et al. Biology of Feline Leukemia Virus in the Natural Environment Environment. **Cancer Research**, v. 36, n. February, p. 582–588, 1976.

HARDY, W. D. Feline Leukemia Virus Non-Neoplastic Diseases. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 17, n. Nov/Dez, p. 941–949, 1981.

HARDY, W. D. Hematopoietic Tumors of cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 17, n. Nov/Dez, p. 921–940, 1981.

HARDY, W. D. Feline Oncoretroviruses. In: LEVY J.A. (Ed.). **The Retroviridae. The Viruses**. Boston: Springer, 1993. p. 102–168.

HARRIS, N. L. et al. A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms: A Proposal From the International Lymphoma Study Group. **Blood**, v. 84, n. 5, p. 1361–1392, 1994.

HARRIS, N. L. et al. Lymphoma classification - from controversy to consensus: The R.E.A.L. and WHO Classification of lymphoid neoplasms. **Annals of Oncology**, v. 11, n. October, p. S03-S10, 2000.

HARTMANN, K. Feline Leukemia Virus Infection. In: GREENE, C. E. (Ed.). **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. Saint Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2012a. p. 108–136.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: A review. **Viruses**, v. 4, n. 11, p. 2684–2710, 2012b.

HARVEY, J. W. **Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas**. 1. ed. Saint Louis: Elsevier Saunders, 2012.

HAWKINS, E. C. Manifestações Clínicas da Doença da Cavidade Pleural e Mediastinal. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. (Eds.). **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 207–350.

HAYES, A. Feline Lymphoma 2 - Specific Disease Presentations. **In Practice**, v. 28, n. 10, p. 578–585, 2006.

HENRY, J. B. **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 19. ed. São Paulo: Manole, 1999.

HERNÁNDEZ, J.; KRUEGER, J. E. C.; GLATSTEIN, E. Classification of Non-Hodgkin's Lymphoma: A Proposal. **The Oncologist**, v. 2, n. 4, p. 235–244, 1997.

HIDDEMANN, W. **Handbook of Acute Leukemia**. Springer, 2016.

HISASUE, M. et al. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia in cats infected with feline leukemia virus clone33 containing a unique long terminal repeat. **International Journal of Cancer**, v. 124, n. 5, p. 1133–1141, 2009.

HOOVER, E. A. et al. Feline leukemia virus infection: age-related variation in response of cats to experimental infection. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 57, n. 2, p. 365–9, 1976.

HU, R. et al. Central nervous system involvement of primary renal lymphoma with diffuse large B-cell type lymphoma. **The American journal of case reports**, v. 14, p. 292–294, 2013.

ISHIBASHI, T. et al. Involvement of Eosinophils in Leukemia: Cytogenetic Study of Eosinophilic Colonies from Acute Myelogenous Leukemia Associated with Translocation (8;21). **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 22, n. 3, p. 189–194, 1986.

JACKSON, M. L. et al. Feline leukemia virus detection by immunohistochemistry and polymerase chain reaction in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue from cats with lymphosarcoma. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 4, p. 269–276, 1993.

JAFFE, E. S. et al. Classification of lymphoid neoplasms: The microscope as a tool for disease discovery. **Blood**, v. 112, n. 12, p. 4384–4399, 2008.

JAIN, N. C. et al. Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats. **Veterinary clinical pathology**, v. 20, n. 3, p. 63–82, 1991.

JARRETT, O.; RUSSELL, P. H. Differential growth and transmission in cats of feline leukaemia viruses of subgroups A and B. **International Journal of Cancer**, v. 21, n. 4, p. 466–472, 1978.

KUMAR, V. Y. et al. Doenças de Leucócitos, Linfonodos, Baço e Timo. In: KUMAR, V. Y. et al. (Eds.). **Robbins & Cotran Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 589–638.

KYLE, K. N.; WRIGHT, Z. Apparent feline leukemia virus-induced chronic lymphocytic leukemia and response to treatment. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, n. 4, p. 341–344, 2010.

LACERDA, L. C. et al. Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus: frequency and associated factors in cats in northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, 2017.

LADINES-CASTRO, W. et al. Morphology of leukaemias. **Revista Médica del Hospital General de México**, v. 79, n. 2, p. 107–113, 2016.

LEE, A. Y. Y. Thrombosis in cancer: an update on prevention, treatment, and survival benefits of anticoagulants. **Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program**, v. 2010, p. 144–149, 2010.

LEIFER, C. E.; MATUS, R. E. Lymphoid leukemia in the dog. Acute lymphoblastic leukemia and chronic lymphocytic leukemia. **The Veterinary clinics of North America - Small animal practice**, v. 15, n. 4, p. 723–739, 1985.

LEVY, J. et al. 2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 10, n. 3, p. 300–316, 2008.

LEVY, L. S. Advances in understanding molecular determinants in FeLV pathology. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 123, n. 1–2, p. 14–22, 2008.

LIEBER, M. R. Mechanisms of human lymphoid chromosomal translocations. **Nature Reviews - Cancer**, v. 16, n. 6, p. 387–398, 2016.

LINENBERGER, M. L.; ABKOWITZ, J. L. Haematological disorders associated with feline retrovirus infections. **Bailliere's clinical haematology**, v. 8, p. 73–112, mar. 1995.

LINET, M. S. et al. Chronic lymphocytic leukaemia: An overview of aetiology in light of recent developments in classification and pathogenesis. **British Journal of Haematology**, v. 139, n. 5, p. 672–686, 2007.

LITTEN, J. B.; RODRÍGUES, M. M.; MINIACI, V. Acute Lymphoblastic Leukemia Presenting in Fulminant Hepatic Failure. **Pediatr Blood Cancer**, v. 47, 3 p., 2006.

LITTLE, S. et al. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in Canada. **The Canadian veterinary journal. La revue vétérinaire canadienne**, v. 50, n. 6, p. 644–8, 2009.

LOUWERENS, M. et al. Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 3, p. 329–335, 2005.

LURIA, B. J. et al. Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 6, n. 5, p. 287–296, 2004.

LUTZ, H. et al. **Feline leukaemia ABCD guidelines on prevention and management** *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2009.

MAGDEN, E.; QUACKENBUSH, S. L.; VANDEWOUDE, S. FIV Associated Neoplasms - A mini-review. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 143, n. 3–4, p. 227–234, 2011.

MAJOR, A. et al. Exposure of cats to low doses of FeLV: seroconversion as the sole parameter of infection. **Veterinary Research**, v. 41, n. 2, p. 17, 2010.

MALBORA, B. et al. Cardiac involvement in an adolescent with acute lymphoblastic leukemia. **Pediatric Hematology and Oncology**, v. 27, n. 6, p. 476–481, 2010.

MANDARA, M. T. et al. Distribution of feline lymphoma in the central and peripheral nervous systems. **Veterinary Journal**, v. 216, p. 109–116, 2016.

MARTINS, D. B. et al. Mielose eritrêmica em um gato. **Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p. 149–153, 2011.

MARTINS, S.L.R.; FALCÃO, R.P. A importância da imunofenotipagem na Leucemia Mielóide Aguda. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, p. 1–8, 2000.

MEICHNER, K. et al. Changes in prevalence of progressive feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma in Germany. **Veterinary Record**, v. 171, n. 14, p. 348–348, 2012.

MENÉNDEZ, C. B. Linfoma Hodgkin. **Revista Española De Patología**, v. 37, n. 2, p. 129–138, 2004.

MORRIS, J.; DOBSON, J. **Small Animal Oncology**. Hoboken, Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2008.

MORTON, L. M. et al. Proposed classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research from the Pathology Working Group of the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). **Blood**, v. 110, n. 2, p. 695–708, 2007.

MUCHAAMBA, F. et al. A survey of feline leukaemia virus infection of domestic cats from selected areas in Harare, Zimbabwe. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 85, n. 1, p. 1–7, 2014.

MÜLLER, D. C. M. et al. Técnicas e sítios de coleta de medula óssea em cães e gatos. **Ciência Rural**, v. 39, n. 7, p. 2243–2251, 2009.

MUNIZ, I. M.; ANDRADE, E. R.; VOIGT, P. R. Primary Renal Lymphoma in Domestic Cat (*Felis catus*): Case Report. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, p. 120–124, 2017.

MUNÕZ, L. Neoplasias hemopoyéticas en 10 gatos positivos al virus leucemia felina. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 31, p. 71–76, 2005.

MURAKAMI, J.; SHIMIZU, Y. Hepatic Manifestations in Hematological Disorders. **International Journal of Hepatology**, v. 2013, p. 1–13, 2013.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

NISHIGAKI, K. et al. Structure and function of the long terminal repeats of feline leukemia viruses derived from naturally occurring acute myeloid leukemias in cats. **Journal of Virology**, v. 71, n. 12, p. 9823–9827, 1997.

ORTEGA-PACHECO, A. et al. Seroprevalence of feline leukemia virus, feline immunodeficiency virus and heartworm infection among owned cats in tropical Mexico. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 16, n. 6, p. 460–464, 2014.

OVERBRAUGH, J. et al. Molecular cloning of Feline Leukemia virus that induces fatal immunodeficiency disease in cats. **Science**, v. 239, p. 906–910, 1988.

PALS, S. T.; GORTER, D. J. J. DE; SPAARGAREN, M. Lymphoma dissemination: the other face of lymphocyte homing. **Blood**, v. 110, n. 9, p. 3102–3111, 2008.

PANZIERA, W. et al. Classificação de 86 casos de linfoma em bovinos de acordo com a Working Formulation (WF) of Non-Hodgkin's Lymphomas for Clinical Usage e a Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms (REAL). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 4, p. 263–271, 2016.

PATTERSON-KANE, J. C.; KUGLER, B. P.; FRANCIS, K. The possible prognostic significance of immunophenotype in feline alimentary lymphoma: A pilot study. **Journal of Comparative Pathology**, v. 130, n. 2–3, p. 220–222, 2004.

POFFO, D. et al. Feline immunodeficiency virus (FIV), feline leukaemia virus (FeLV) and *Leishmania* sp. in domestic cats in the Midwest of Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 491–494, 2017.

POHLMAN, L. M. et al. Immunophenotypic and Histologic Classification of 50 Cases of Feline Gastrointestinal Lymphoma. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 2, p. 259–268, 2009.

POTENZA, L. et al. Leukaemic pulmonary infiltrates in adult acute myeloid leukaemia: a high-resolution computerized tomography study. **Brazilian Journal of Haematology**, v. 120, n. 6, p. 1058–1061, 2003.

PRIHIRUNKIT, K.; NARKKONG, N. A.; APIBAL, S. Acute monoblastic leukemia in a FeLV-positive cat. **Journal of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 109–111, 2008.

RAPPAPORT, H. Tumors of the hematopoietic system. In: HYAMS, V. J.; BATSAKIS, J. G.; MICHAELS, L. (Eds.). **Atlas of tumor pathology**. 2. ed. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1988. p. 240–248.

RASTOGI, V. et al. Emperipolesis - A review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 8, n. 12, p. ZM01-ZM02, 2014.

RATTERMAN, M. et al. Extramedullary chronic lymphocytic leukemia: Systematic analysis of cases reported between 1975 and 2012. **Leukemia Research**, v. 38, n. 3, p. 299–303, 2014.

REINACHER, M. Diseases associated with spontaneous feline leukemia virus (FeLV) infection in cats. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 21, n. 1, p. 85–95, 1989.

REZANKA, L. J.; ROJKO, J. L.; NEIL, J. C. Feline leukemia virus: Pathogenesis of neoplastic disease. **Cancer Investigation**, v. 10, n. 5, p. 371–389, 1992.

RICKLES, F. R. et al. Bleeding and thrombosis in acute leukemia: What does the future of therapy look like? **Thrombosis Research**, v. 120, n. 2, p. 99–106, 2007.

ROBB-SMITH, A. H. T. U.S. National Cancer Institute Working Formulation of Non-Hodgkin Lymphomas for clinical use. **The Lancet**, v. 320, n. 8295, p. 432–434, 1982.

ROCCABIANCA, P. et al. Cutaneous Lymphoma at Injection Sites. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 4, p. 823–832, 2016.

ROJKO, J. L. et al. Feline Lymphomas: Immunological and Cytochemical Characterization. **Cancer Research**, v. 49, n. 2, p. 345–351, 1989.

ROJKO, J. L. et al. Pathogenesis of experimental feline leukemia virus infection. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 63, n. 3, p. 759–68, 1979.

SANT'ANA, F. J. F. et al. Primary brain T-cell lymphoma in a cat. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 3, n. 1, p. 56–59, 2010.

SATO, H. et al. Prognostic Analyses on Anatomical and Morphological Classification of Feline Lymphoma. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 76, n. 6, p. 807–811, 2014.

SCHERK, M. A et al. 2013 AAFP Feline Vaccination Advisory Panel Report. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 9, p. 785–808, 2013.

SCHMIDT, J. M. et al. Feline paediatric oncology: Retrospective assessment of 233 tumours from cats up to one year (1993 to 2008). **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, n. 6, p. 306–311, 2010.

SCHMITT, A et al. Pathologic interaction between megakaryocytes and polymorphonuclear leukocytes in myelofibrosis. **Blood**, v. 96, p. 1342–1347, 2000.

SELLON, R. K.; HARTMANN, K. Feline Immunodeficiency Virus Infection. In: GREENE, C. E. (Ed.). **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. Saint Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2012. p. 136–149.

SHALEV, Z. et al. Identification of a feline leukemia virus variant that can use THTR1, FLVCR1, and FLVCR2 for infection. **Journal of virology**, v. 83, n. 13, p. 6706–6716, 2009.

SHIRANI, D. et al. Acute erythroid leukemia with multilineage dysplasia in a cat. **Canadian Veterinary Journal**, v. 54, p. 389–393, 2013.

STACY, N. I.; HARVEY, J. W. Bone Marrow Aspirate Evaluation. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 47, n. 1, p. 31–52, 2017.

STRATI, P. et al. Prevalence and characteristics of central nervous system involvement by chronic lymphocytic leukemia. **Haematologica**, v. 101, n. 4, p. 458–465, 2016.

STÜTZER, B. et al. Incidence of persistent viraemia and latent feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, n. 2, p. 81–87, 2011.

SUNTZ, M. et al. High prevalence of non-productive FeLV infection in necropsied cats and significant association with pathological findings. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 136, n. 1–2, p. 71–80, 2010.

SYKES, J. E.; HARTMANN, K. Feline Leukemia Virus Infection. In: SYKES, J. E. (Ed.). **Canine and feline infectious diseases**. 1. ed. Saint Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences, 2014. p. 222–235.

TEBB, A. J. et al. Diagnosis and management of B cell chronic lymphocytic leukaemia in a cat. **The Veterinary record**, v. 154, n. 14, p. 430–3, 2004.

TEIXEIRA, B. M. et al. Ocorrência do vírus da imunodeficiência felina e do vírus da leucemia felina em gatos domésticos mantidos em abrigos no município de Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 939–942, 2007.

TRAPP, S. M. et al. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de cães e gatos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 5, p. 395–402, 2010.

TWOMEY, L. N.; ALLEMAN, A. R. Cytodiagnosis of feline lymphoma. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v. 27, n. 1, p. 17, 2005.

VAIL, D. M. et al. Feline lymphoma (145 cases): Proliferation indices, cluster of differentiation 3 immunoreactivity, and their association with prognosis in 90 cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 12, n. 5, p. 349–354, 1998.

VAIL, D. M.; KAREN, M. Y. Hematopoietic Tumors. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. (Eds.). **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 4. ed. Saint Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2006. p. 699–755.

VALLI, V. E. et al. The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute working formulation. **Journal of veterinary Diagnostic Investigation**, v. 12, n. 4, p. 295–306, 2000.

VALLI, V. E. Hematopoietic system. In: MAXIE, M. G. (Ed.). **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5. ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, 2007. p. 107–324.

VALLI, V. E.; BIENZLE, D.; MEUTEN, D. J. Tumors of the Hemolymphatic System. In: MEUTEN, D. J. (Ed.). **Tumors in Domestic Animals**. 5. ed. Iowa: John Wiley & Sons, 2017. p. 203–321.

VERNAU, K. M. et al. Acute B-cell lymphoblastic leukemia with meningeal metastasis causing primary neurologic dysfunction in a dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 1, p. 110-115, 2000.

VEZZALI, E. et al. Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 8, n. 1, p. 38–49, 2010.

VOCCIA, S. **Linfoma renale del gatto: rilievi anatomopatologici, immunofenotipizzazione delle popolazioni linfocitarie ed espressione tissutale dell'antigene virale FeLV gp70**. 2016. Tese (Doutorado em Ciência Médica Veterinária) - Università di Parma, Parma, 2016.

WEBSTER, J. D. et al. Effects of prolonged formalin fixation on diagnostic immunohistochemistry in domestic animals. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 57, n. 8, p. 753–761, 2009.

WEISS, D. J. A retrospective study of the incidence and classification of bone marrow disorder in cats (1996-2004). **Comparative Clinical Pathology**, v. 14, n. 4, p. 179–185, 2006.

WERNER, R. A. et al. Cardiac manifestation of acute lymphoblastic leukemia. **Clinical Nuclear Medicine**, v. 41, n. 7, p. 570–571, 2016.

WILLETT, B. J.; HOSIE, M. J. Feline leukaemia virus: Half a century since its discovery. **Veterinary Journal**, v. 195, n. 1, p. 16–23, 2013.

WITHOEFT, J. A. et al. **Causas de morte e eutanásia em felinos domésticos no planalto de Santa Catarina: estudo retrospectivo (1995-2015)**. 8 p. Não publicado.

WORKMAN, H. C.; VERNAU, W. Chronic lymphocytic leukemia in dogs and cats: The veterinary perspective. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 33, n. 6, p. 1379–1399, 2003.

YILMAZ, H.; ILGAZ, A.; HARBOUR, D. A. Prevalence of FIV and FELV Infections in Cats in Istanbul. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 2, n. 1, p. 69–70, 2000.