

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



COMPARAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E FENOTÍPICAS DE LINFOMA
ENTRE GATOS COM E SEM INFEÇÃO RETROVIRAL (FIV E/OU FELV)

INÊS DUTRA LOPES

ORIENTADOR:

Doutor Virgílio da Silva Almeida

TUTOR:

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2021

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



COMPARAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E FENOTÍPICAS DE LINFOMA
ENTRE GATOS COM E SEM INFEÇÃO RETROVIRAL (FIV E/OU FELV)

INÊS DUTRA LOPES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro

VOGAIS:

Doutor Luís Manuel Morgado Tavares
Doutor Virgílio da Silva Almeida

ORIENTADOR:

Doutor Virgílio da Silva Almeida

TUTOR:

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

Nome: Inês Dutra Lopes

Título da Tese ou Dissertação: Comparação de características histológicas e fenotípicas de linfoma entre gatos com e sem infeção retroviral (FIV e/ou FeLV)

Ano de conclusão: 2021

Designação do curso de Mestrado: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica Produção Animal e Segurança Alimentar
 Morfologia e Função Sanidade Animal

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e ao direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

*Indique o motivo de embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três, retirando as que não interessam):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 11 de fevereiro de 2021

Assinatura _____ *Inês Dutra Lopes*

Agradecimentos

Aos meus pais e irmã, que sempre acreditaram em mim, que celebraram as minhas vitórias, mas também choraram as minhas derrotas, motivando-me para ultrapassar cada obstáculo e tornar-me melhor, pessoal e profissionalmente. Sem vocês não estaria hoje a escrever este agradecimento. Obrigada por acreditarem em mim!

Ao Eduardo, que apesar de ter aparecido na minha vida na fase final do meu percurso académico, foi a força e o apoio que precisei para o finalizar. Obrigada por seres o meu fã nº1; por me ouvires durante horas a fio a explicar a carcinogénese do FeLV, apesar de não saberes metade dos termos que utilizo; por me motivares quando mais precisei; e por me fazeres acreditar em mim, na minha (futura) profissão, e que farei a diferença ao contribuir para uma sociedade mais informada, mais sensível e disponível para a causa animal!

A toda a minha família que sempre esteve lá, longe ou perto, e sempre me apoiou ao longo deste percurso. Em especial, à minha avó por todo o carinho e apoio durante estes longos anos, e por se lembrar sempre de mim toda a vez que estão animais envolvidos: documentários sobre animais, lenços com padrão de animais, animais de loiça, entre muitas outras que virão!

À dona Eduarda, que apesar de não estar presente neste final de curso, acompanhou-me desde o primeiro dia. Não teria sido a mesma coisa sem o seu “vai correr bem”.

Aos meus amigos, os que vieram da infância e os que este belo curso me trouxe, pela amizade e pelo apoio durante estes anos. A amizade duplica as alegrias, e divide as tristezas, já dizia Francis Bacon e muito bem! Obrigada por todas as alegrias que proporcionaram, e por todas as tristezas que fizeram desaparecer! Sem vocês este percurso teria sido muito mais complicado.

Ao meu orientador professor Virgílio Almeida, e ao meu tutor Gonçalo Vicente, por embarcarem nesta viagem, apesar de ser a primeira vez desta dupla. Foi uma longa viagem, com altos e baixos, mas chegamos ao destino com o sentimento de dever cumprido.

Um especial agradecimento à professora Conceição Peleteiro e ao Dr. Hugo Pissarra pelo auxílio prestado durante a elaboração das classificações de linfoma. Foram incansáveis e tornaram, sem dúvida, o meu trabalho melhor!

Aos laboratórios e centros de atendimento médico-veterinário que tornaram esta dissertação possível: Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária; Laboratório VetPat; Hospital Escolar Veterinário; Centro Veterinário do Jamor; Hospital do Gato; Hospital Veterinário de Berna; Clínica Veterinária da Linha – Cão de Loiça; Hospital Veterinário São Francisco de Assis; Clínica Veterinária de Telheiras; Centro Veterinário da Ilha do Faial – Valvet; Hospital Veterinário da Tapada das Mercês; Hospital Veterinário da Bicuda; Clínica Veterinária Dra. Elsa Pereira; Clínica Veterinária Dogtor; Centro

Veterinário Dr. José Leite; Clínica Veterinária de Mafra; Clínica Veterinária Apavet; Clínica Veterinária VetBelas; Centro Veterinário Encosta das Maias; Hospital Veterinário – Alma Veterinária.

Por fim, a todos os docentes e trabalhadores da Universidade dos Açores – Pólo de Angra do Heroísmo e da Faculdade de Medicina Veterinária pela formação e companhia ao longo destes anos.

Resumo

O linfoma é a neoplasia mais comum nos gatos, e representa cerca de 1/3 dos tumores na espécie. O vírus da Leucemia Felina (FeLV) e o vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) têm uma relação direta e indireta, na gênese do linfoma felino. O diagnóstico definitivo de linfoma é efetuado através de análises histopatológicas e imunohistoquímicas, sendo o linfoma classificado segundo a sua localização anatômica (gastrointestinal, mediastínico, nodal e extranodal), o grau (baixo, intermédio e alto) e o fenótipo (B e T).

O principal objetivo do presente estudo foi avaliar a associação entre a infecção por FeLV e FIV e as características dos linfomas, tais como a localização anatômica, a classificação histológica, fenotípica, e ainda segundo a grelha de classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS). A raça, idade ao diagnóstico e o sexo dos gatos foram também avaliados.

A amostra investigada é composta por 34 gatos com linfoma, com diagnóstico histológico e fenotípico realizado no período 2013-2019. Os animais foram divididos em dois grupos: gatos sem infecção retroviral (n=26); gatos com infecção retroviral (n=8).

O linfoma mais frequente foi o gastrointestinal (19/26; 73,1%), de fenótipo T, baixo grau, sem associação aos retrovírus, que se classifica em Linfoma Intestinal de Células T, segundo o esquema da OMS. Os gatos sem infecção retroviral desenvolveram mais linfoma no trato gastrointestinal ($p=0,03$). Detetou-se uma associação estatística entre a infecção retroviral e o desenvolvimento do Linfoma Difuso de Grandes Células B ($p=0,03$) e entre o fenótipo T e o baixo grau do linfoma ($p=0,01$).

Palavras-chave: gato, linfoma, FeLV, FIV, localização anatômica, fenótipo, grau.

Abstract

Lymphoma is the most common neoplasia reported in cats and represents approximately 1/3 of all tumors in this specie. Feline Leukemia virus (FeLV) and Feline Immunodeficiency virus (FIV) play a direct and indirect role in tumorigenesis. The definitive diagnosis is based on histopathological and immunohistochemical analysis. Then, lymphoma is classified according to anatomical site (gastrointestinal, mediastinal, nodal and extranodal), grade (low, intermediate and high) and phenotype (B and T).

The main goal of this study is to evaluate the association between FeLV and FIV infection and the characteristics of the lymphoma, such as anatomical site, histologic and phenotypic classifications, as well as according to the World Health Organization (WHO) classification. Cats race, age at diagnosis and sex were also evaluated.

The sample of this study is composed of 34 cats with histological and phenotypical diagnosis of lymphoma, between 2013 and 2019. The sample was divided in two groups: cats without retroviral infection (n=26); cats with retroviral infection (n=8).

The most frequent lymphoma in this study was gastrointestinal lymphoma (19/26; 73,1%), with T phenotype, low grade, without retroviral association, classified as Intestinal T Cell Lymphoma, according to WHO. Cats without retroviral infection developed more frequently gastrointestinal lymphoma ($p=0,03$). A statistical association between retroviral infection and the development of Diffuse Large B Cell Lymphoma ($p=0,03$) and also between T phenotype and low-grade lymphoma ($p=0,01$) were detected.

Keywords: cat, lymphoma, FeLV, FIV, anatomic site, phenotype, degree.

Índice Geral

I – Relatório de Atividades de Estágio.....	1
II – Revisão Bibliográfica	3
1. Linfoma Felino	3
1.1. Etiologia	3
1.1.1. Retrovírus.....	4
1.1.1.1. Vírus da Leucemia Felina	5
1.1.1.1.1. Subgrupos	5
1.1.1.1.2. Patogenicidade.....	6
1.1.1.1.3. Sinais Clínicos	7
1.1.1.1.4. Carcinogénese	7
1.1.1.2. Vírus da Imunodeficiência Felina.....	8
1.1.1.2.1. Subgrupos	9
1.1.1.2.2. Patogenicidade.....	9
1.1.1.2.3. Sinais Clínicos	10
1.1.1.2.4. Carcinogénese	11
2. Classificação dos Linfomas	12
2.1. Classificação Histológica e Imunofenotípica.....	12
2.2. Classificação Anatômica	13
2.2.1. Linfoma Gastrointestinal.....	13
2.2.2. Linfoma Mediastínico	14
2.2.3. Linfoma Nodal	15
2.2.4. Linfoma Extranodal ou Atípico.....	15
3. Diagnóstico e Estadiamento Clínico.....	17
4. Tratamento e Prognóstico.....	20
III – Comparação de características histológicas e fenotípicas de linfoma entre gatos com e sem infecção retroviral (FIV e/ou FeLV)	23
1. Introdução e Objetivos	23
2. Material e Métodos	24
2.1. Estudo.....	24
2.2. Critérios de Exclusão	24
2.3. Classificação dos Linfomas.....	24
2.4. Análise Estatística.....	25
3. Resultados.....	26

3.1. Caracterização da Amostra.....	26
3.2. Classificação Fenotípica	28
3.3. Classificação segundo a Localização Anatômica	29
3.4. Classificação da NCI-WF (graus)	30
3.5. Classificação da OMS	32
4. Discussão	34
5. Conclusão.....	38
IV – Bibliografia	40
V – Anexos	51
Anexo 1: Classificação Histológica de Linfoma – “ <i>Working Formulation</i> ”, do <i>National Cancer Institute</i> . Adaptado de Morrison (2004).....	52
Anexo 2: Classificação Histopatológica de Linfomas Caninos e Felinos de acordo com a Organização Mundial de Saúde. Adaptado de Vezzali et al. (2010).....	53
Anexo 3: Estadiamento Clínico para o Linfoma em Animais Domésticos, segundo a Organização Mundial de Saúde. Adaptado de Vail (2017).....	54
Anexo 4: Protocolo Quimioterápico COP para Linfoma em Gatos. Adaptado de Vail (2013).....	55
Anexo 5: Protocolo Quimioterápico CHOP para Linfoma em Gatos. Adaptado de Vail (2013) e Vail (2017).....	56
Anexo 6: Classificação felina relativa à faixa etária. Adaptado de Vogt et al. (2010).....	57
Anexo 7: Resultados do GI – animais, fenótipo, localização anatômica, classificação NCI-WF e classificação OMS.....	58
Anexo 8: Resultados do GNI – animais, fenótipo, localização anatômica, classificação NCI-WF e classificação OMS.....	59
Anexo 9: Resultados das análises histopatológica e imunofenotípica dos gatos do GI.....	61
Anexo 10: Resultados das análises histopatológica e imunofenotípica dos gatos do GNI.....	64

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Frequência relativa do sexo nos grupos GI e GNI.....	26
Gráfico 2: Distribuição das idades ao diagnóstico pelos grupos GI e GNI.....	27
Gráfico 3: Frequência relativa da infecção por FIV e/ou FeLV no grupo GI.....	28
Gráfico 4: Frequência relativa do fenótipo dos linfomas nos subgrupos de gatos infectados por retrovírus.....	29
Gráfico 5: Frequência relativa da localização anatômica dos linfomas nos subgrupos de gatos infectados por retrovírus.....	30
Gráfico 6: Frequência relativa do grau dos linfomas (NCI-WF) nos subgrupos de gatos infectados por retrovírus.....	32

Índice de Tabelas

Tabela 1: Distribuição do fenótipo dos linfomas por grupo investigado.....	28
Tabela 2: Localização anatômica dos linfomas por grupo investigado.....	30
Tabela 3: Classificação de NCI-WF dos linfomas por grupo investigado.....	31
Tabela 4: Classificação de NCI-WF por fenótipo dos linfomas.....	32
Tabela 5: Classificação dos linfomas, segundo o critério da OMS, por grupo investigado.....	33

Lista de Abreviaturas e Siglas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ALT – Alanina Aminotransferase

ARN – Ácido Ribonucleico

BCR – *B Cell Receptor* (Recetor de Células B)

CAMV – Centro(s) de Atendimento Médico-Veterinário

CD – *Cluster of Differentiation* (conjunto de antigénios diferenciadores de tipos de células)

CHOP – Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina e Prednisolona

COP – Ciclofosfamida, Vincristina e Prednisolona

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

enFeLV – *Endogenous Feline Leukemia Virus* (Vírus da Leucemia Felina endógeno)

env – Envelope

FAS – Fosfatase Alcalina Sérica

FeLV – *Feline Leukemia Virus* (vírus da Leucemia Felina)

FIV – *Feline Immunodeficiency Virus* (Vírus da Imunodeficiência Felina)

FMV-ULisboa – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

FR – Frequência Relativa

HEV – Hospital Escolar Veterinário

HIV – *Human Immunodeficiency Virus* (Vírus da Imunodeficiência Humana)

LAP – Laboratório de Anatomia Patológica

LLGG – Linfoma de Linfócitos Grandes Granulares

NCI-WF – *National Cancer Institute - Working Formulation*

NK – *Natural Killer*

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAAF – Punção Aspirativa por Agulha Fina

PARR – *PCR for Antigen Receptor Rearrangement*

Pax-5 – *Paired Box Transcription Factor 5*

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

PIF – Peritonite Infeciosa Felina

REAL – *Revised European American Lymphoma*

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC – Sistema Nervoso Central

TAC – Tomografia Axial Computorizada

TCR – *T Cell Receptor* (Recetor de Células T)

UICB – Unidade de Isolamento e Contenção Biológica do HEV

Lista de Símbolos

% Percentagem

> Maior que

< Menor que

\geq Maior ou igual a

\pm Mais ou menos

® Marca registada

g/dL Gramas por decilitro

mg/m² Miligramas por metro quadrado

ρ valor de ρ

α Alfa

β Beta

γ Gama

δ Delta

ϵ Épsilon

ζ Zeta

I – Relatório de Atividades de Estágio

O estágio curricular foi realizado no Hospital Escolar Veterinário (HEV), da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL), no período de 4 de março de 2019 a 30 de agosto de 2019. Durante o estágio curricular realizei atividades nas seguintes áreas da medicina de animais de companhia: Medicina Geral; Medicina Interna; Cirurgia; Oncologia; Internamento Geral; Dermatologia; Oftalmologia; Radiologia; Ecografia e Unidade de Isolamento e Contenção Biológica (UICB).

A componente de **Medicina Geral** do estágio curricular foi de 405 horas. Iniciei consultas, com a recolha de anamnese e exame físico. Estabeleci o primeiro contacto com os tutores, reforçando a importância da comunicação com o cliente. Recolhi amostras biológicas para análise e administrei fármacos e vacinas. Colaborei na gestão de emergências clínicas, nomeadamente animais em convulsão, em estado oncológico terminal e com obstrução urinária, entre outros. No final de cada consulta, tive oportunidade para esclarecer dúvidas e discutir o caso e a abordagem médica efetuada. Colaborei também com a equipa de enfermagem veterinária na colocação/renovação de pensos, administração de medicações e triagens.

A componente de **Cirurgia** do estágio curricular totalizou 240 horas. Durante este treino, foi possível estabelecer o primeiro contacto com os tutores aquando da chegada do animal, possibilitando o esclarecimento de algumas dúvidas e potenciando a sua confiança. O contacto com os tutores na entrega do animal (pós cirurgia) permitiu novas interações, muitas vezes relativas à receita médica e aos cuidados pós cirúrgicos, essenciais para o sucesso da recuperação do animal. Relativamente aos atos médicos, prepararam-se e administraram-se diversas medicações injetáveis, bem como foram efetuadas induções anestésicas, seguidas de intubação traqueal. Antes, durante, e depois de cada um destes procedimentos, foi monitorizado o estado geral dos animais e a sua resposta à medicação. Foi possível prestar auxílio durante cirurgias, maioritariamente em orquiectomias ou ovariectomias, bem como efetuar a *so*lo diversas orquiectomias felinas.

A componente de **Dermatologia** do estágio curricular totalizou 80 horas. Durante este período, foi possível executar exames físicos e recolher amostras para exames complementares (fita cola, zaragatoas, tricotomia, raspagem, com coloração e visualização ao microscópio ótico). Foram observados casos de diagnóstico frequente, como dermatite atópica, mas também casos menos frequentes, como celulite juvenil.

A componente de Oncologia do estágio curricular foi de 63 horas. Ao longo deste período, acompanhei diversos animais em tratamento quimioterápico e constatei como nesta área a comunicação e sensibilização dos tutores para os efeitos do tratamento e impacto do mesmo na qualidade de vida do animal têm uma importância acrescida. Durante as consultas,

ajudei na recolha de diversas amostras biológicas para análise, quer para diagnóstico de neoplasia quer para monitorização do estado geral do animal. Adicionalmente, participei no preparo das soluções quimioterápicas, bem como na preparação dos animais para a sessão de quimioterapia.

A componente de **Medicina Interna** do estágio curricular foi de 56 horas. Colaborei na execução de diversos exames complementares, como rinoscopia e endoscopia digestiva alta e baixa, quer em consultas de seguimento (*follow-up*) quer de referência. As consultas incidiram essencialmente na área de Endocrinologia e doenças do trato digestivo e respiratório.

A componente de **Radiologia** do estágio curricular foi de 42 horas na realização e avaliação de raio-X e de Tomografia Axial Computorizada (TAC). Foram avaliados exames de TAC e acompanhei todo o procedimento de anestesia dos animais antes, durante e após os exames. Consolidei os conhecimentos radiológicos de interpretação de exames de raio-X de diversas condições como, por exemplo, malformação congénita da coluna de um cachorro da raça Pug, displasia da anca de um cão da raça Labrador e colapso da traqueia de um cão da raça Spitz.

A componente na **Unidade de Isolamento e Contenção Biológica do HEV** do estágio curricular foi de 40 horas. Realizei os exames físicos (três vezes ao dia) de monitorização dos animais internados, colaborei na preparação da medicação, acompanhei os casos (leitura das fichas clínicas) e aprofundi o estudo das suas doenças. Adicionalmente, participei numa consulta de acompanhamento de um animal após alta clínica, com recolha de amostras biológicas para monitorização de valores, e aconselhamento dos tutores.

A componente no serviço de **Ecografia** do estágio curricular foi de 28 horas. Auxiliei na contenção dos animais. A maioria dos exames ecográficos foram abdominais, com colheita de material para citologia. O despiste de *shunt* portossistémico foi requisitado diversas vezes.

A componente de **Oftalmologia** do estágio curricular foi de 28 horas. Realizei exames físicos oftálmicos, com verificação dos reflexos palpebral, pupilar e de ameaça, teste de *Schirmer*, tonometria, biomicroscopia e exame do fundo do olho. As afeções mais frequentes foram úlceras de córnea e glaucomas.

II – Revisão Bibliográfica

1. Linfoma Felino

O linfoma é uma das neoplasias incluídas no grupo dos tumores hematopoiéticos, e é definido como a proliferação de células linfóides malignas, afetando essencialmente os linfonodos ou órgãos viscerais como o fígado ou o baço, podendo originar-se em basicamente qualquer tecido (Vail 2013; Vail 2017). É a neoplasia mais descrita nos gatos, representando cerca de 1/3 de todos os tumores na espécie (Morrison 2004). Antigamente a causa desta neoplasia era atribuída, quase na sua totalidade, à infecção pelo vírus da Leucemia Felina (FeLV). Segundo Hardy WDJ (1993), citado por Louwerens et al. (2005), na década de 80 do século XX, o FeLV era responsável por cerca de 70% dos casos de linfoma felino. Atualmente, com a vacinação para FeLV e a identificação de animais infetados, a incidência do linfoma associado ao FeLV diminuiu consideravelmente. Contudo, a prevalência de linfomas na espécie tem-se mantido, o que sugere a existência de outras causas para o desenvolvimento desta neoplasia (Louwerens et al. 2005).

1.1. Etiologia

A etiologia do linfoma em animais de companhia ainda é pouco compreendida. Todavia, no caso do linfoma felino, estabeleceram-se algumas associações como a predisposição das raças orientais, nomeadamente a Siamês, para o aparecimento de linfomas, podendo haver um risco hereditário subjacente (Louwerens et al. 2005).

Está também documentada em linfomas felinos, atividade da telomerase, uma enzima que impede o encurtamento dos telómeros, fornecendo assim à célula a capacidade de escapar à apoptose, conferindo-lhe imortalidade replicativa (Cadile et al. 2001; Vail 2013).

Os fatores ambientais também influenciam a formação tumoral. Foi demonstrado que gatos expostos ao fumo do tabaco durante cinco ou mais anos têm um risco 3,2 vezes agravado de desenvolver linfoma (Bertone et al. 2002).

Apesar de serem necessários mais estudos, tem sido testada a hipótese de a inflamação crónica poder estar na origem de processos tumorais. Sabe-se que a inflamação crónica, resultante das vacinações, pode promover o desenvolvimento de fibrossarcomas no local de administração das vacinas. Gatos que desenvolvem sarcomas de injeção têm um risco acrescido de desenvolver linfoma (Madewell et al. 2004). Esta evidência científica indicia que os linfomas nos gatos, tal como outras neoplasias, necessitam tanto de uma predisposição do hospedeiro, como de um fator que os despolete, como a inflamação crónica (Louwerens et al. 2005). Nos últimos 20 anos, a incidência de linfomas gastrointestinais na espécie felina tem vindo a aumentar, e suspeita-se que a inflamação intestinal crónica possa ser uma possível causa, na medida em que pode potenciar a progressão para linfoma

(Louwerens et al. 2005). Existe uma diversidade de rações para animais de companhia, com variadas formulações consoante o pretendido, e este aumento de diversidade está cronologicamente relacionado com o aumento de casos de linfoma intestinal. Contudo mais estudos são necessários para validar esta associação (Vail 2013).

Outra hipótese em investigação é existir uma relação entre a infeção por *Helicobacter* spp. e o linfoma gástrico do tecido linfóide associado à mucosa. Esta associação está profusamente documentada em medicina humana (Fox et al. 2006; Hsu et al. 2007). Num estudo efetuado em 2001, das biópsias gástricas de 72 gatos, em que 25 demonstraram desenvolvimento de linfoma gástrico, 23 gastrite e 24 sem alterações, cerca de 92% dos gatos com linfoma apresentavam colonização por *Helicobacter* spp. Contudo, cerca de 52% dos gatos sem alterações gástricas também tiveram desenvolvimento desta bactéria, segundo Marini, citado por Bridgeford et al. (2008). Em 2008, Bridgeford e colegas avaliaram biópsias de 47 gatos com sintomatologia gástrica, e dos 31 casos que exibiram desenvolvimento tumoral (linfoma gástrico), 64% apresentaram colonização por *Helicobacter* spp.

O papel dos retrovírus na génese do linfoma felino está bem estudado, existindo evidência científica robusta. O FeLV e o vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) são responsáveis por diversas afeções no gato, nomeadamente linfomas. O FeLV normalmente atua de forma direta, enquanto o FIV por norma promove a formação tumoral de forma indireta (Hartmann 2012a). Também foi demonstrada uma associação entre estes dois vírus e o fenótipo dos linfomas: nos gatos infetados pelo FeLV tendem a surgir linfomas de linfócitos T; na infeção pelo FIV, são mais frequentes os linfomas de linfócitos B (Callanan et al. 1996; Louwerens et al. 2005; Chino et al. 2013; Vail 2013).

1.1.1. Retrovírus

Os retrovírus pertencem à família *Retroviridae*. O seu genoma é constituído por ácido ribonucleico (ARN) de cadeia simples, de sentido positivo. A replicação destes vírus é feita no citoplasma da célula hospedeira com o auxílio de uma enzima, a transcriptase reversa, descoberta em 1970 por Howard Temin, Renato Dulbecco e David Baltimore. Esta enzima permite a conversão do ARN para ácido desoxirribonucleico (ADN) de cadeia dupla, que, após a integração no genoma da célula hospedeira, se designa provírus (Murphy 2017).

O FeLV e o FIV são retrovírus, englobados na sub-família *Orthoretrovirinae*, sendo que o FeLV pertence ao género *Gammaretrovirus*, e o FIV ao género *Lentivirus* (Beatty 2017; Murphy 2017).

O genoma dos viriões dos retrovírus contém três genes principais: *gag*, *pol* e *env* (Murphy 2017). O gene *gag* codifica para as proteínas estruturais não-glicosiladas, nomeadamente as da matriz, da cápside e da nucleocápside. No FeLV, este gene é responsável por codificar as proteínas p15c, p12, p27 e p10. A proteína p27 encontra-se em

grande quantidade na corrente sanguínea de animais infetados, e é ela o principal alvo dos testes de diagnóstico utilizados por rotina nos hospitais veterinários. No FIV, este gene codifica as proteínas p15, p24 e p10 (Hartmann 2012b; Hartmann and Levy 2017; Murphy 2017). O gene *pol* codifica proteínas multifuncionais como a transcriptase reversa, a protease e a integrase, similares em ambos os vírus (Murphy 2017). O gene *env* codifica os componentes do envelope (glicoproteínas de superfície e proteínas transmembranares). No FeLV, este gene codifica as proteínas gp70 e p15e. Os subgrupos do FeLV são caracterizados por variações na proteína gp70 (Hartmann 2012b; Hartmann and Levy 2017). Esta proteína tem um papel importante no processo de infecção e entrada na célula hospedeira (Ghosh et al. 1992). A proteína gp70 é também o alvo das vacinas utilizadas (Hartmann 2012b; Hartmann and Levy 2017). No FIV, este gene codifica as proteínas gp41 e gp120 (Beatty 2017).

1.1.1.1. Vírus da Leucemia Felina

O FeLV foi descrito pela primeira vez em 1964, por William Jarrett e colegas, quando observaram partículas virais a emergir de linfoblastos malignos, provenientes de um gato com linfoma. O vírus, quando inoculado experimentalmente em gatos saudáveis, desencadeou o desenvolvimento de uma neoplasia semelhante, comprovando a sua capacidade oncogénica (Hartmann 2012b). Em 1968, a incidência do FeLV, segundo Hardy WDJ (1993), citado por Louwerens et al. (2005), era de 200 casos por cada 100,000 gatos. Mas em 1973, Hardy e os colegas tornaram possível o diagnóstico do FeLV pela primeira vez, através da imunofluorescência indireta, o que contribuiu para o surgimento de programas de testagem de gatos e eliminação dos animais infetados, resultando na diminuição da prevalência do vírus à escala mundial. A introdução, em 1986, da primeira vacina para FeLV contribuiu também para a referida diminuição da incidência da doença (Louwerens et al. 2005). Atualmente, a sua prevalência difere consideravelmente dependendo da região geográfica e da população felina avaliada (Hartmann 2012b; Meichner et al. 2012).

1.1.1.1.1. Subgrupos

São conhecidos três subgrupos do vírus: A, B e C. Existem ainda sequências retrovirais endógenas presentes no genoma de gatos saudáveis, transmitidos da mãe para a cria, sem capacidade patogénica e replicativa, a que se dá o nome de FeLV endógeno (enFeLV). O FeLV-A é o subgrupo menos patogénico, mas mais contagioso, e está presente em todos os gatos naturalmente infetados (Overbaugh et al. 2001). O FeLV-B resulta da recombinação de sequências do gene *env* do FeLV-A com elementos do enFeLV, sendo isolado em 30 a 60% dos gatos positivos (Neil et al. 1991). Já o FeLV-C, menos frequente, resulta de mutações no gene *env* do FeLV-A. O FeLV-B está associado ao aparecimento de

linfomas e leucemias, e o FeLV-C a anemias não-regenerativas (Pandey et al. 1995; Fujino et al. 2008; Hartmann 2012a).

1.1.1.1.2. Patogenicidade

A transmissão horizontal do FeLV faz-se essencialmente pela saliva, através da partilha de comedouros, do *grooming* entre gatos, mordeduras durante brigas, mas também pode ser feita pelo contacto com fezes, urina, sangue ou leite contaminados (Cattori et al. 2009). Os animais mais suscetíveis são os gatos machos, inteiros, de vida semilivre ou livre, mas também gatos que vivam em colónias ou gatis (sobrepopulação). Apesar de não existir predisposição de raça, a infeção pelo FeLV é menos frequente nos gatos de raça pura, porque estes animais tendem a ter um estilo de vida exclusivamente *indoor* (Hartmann 2012b).

Quando um gato é infetado, o vírus afeta os tecidos linfóides localizados na orofaringe, tendo como alvo os linfócitos e os monócitos. Posteriormente, o vírus penetra na corrente sanguínea (virémia), afetando os restantes tecidos linfóides, em cerca de duas semanas. Às três semanas pós-infeção o vírus invade a medula óssea, afetando essencialmente as células da linha linfóide. Nesta altura, ocorre uma segunda virémia, desta vez associada à circulação de células infetadas. A excreção viral nas mucosas e nos tecidos linfóides ocorre entre as 4 e as 8 semanas pós-infeção (Cattori et al. 2009).

A dinâmica da doença depende muito da capacidade do sistema imunitário do gato. Podem ocorrer 4 tipos de infeção: abortiva; regressiva; progressiva e focal. A **infeção abortiva** ocorre em gatos imunocompetentes, nos quais a replicação viral é combatida por uma eficaz resposta imunitária, não chegando a ocorrer virémia. Estes gatos têm níveis elevados de anticorpos neutralizantes, e nunca chegam a excretar o vírus. A **infeção regressiva** desenvolve-se em gatos imunocompetentes, mas não o suficiente para impedir a virémia, e a eventual excreção viral. Pode ocorrer infeção da medula óssea quando a virémia persiste mais do que 3 semanas. Nestes casos, os gatos dificilmente eliminarão o vírus do organismo, mesmo que contenham a virémia, pois o provírus está presente nas células estaminais da medula óssea. Tornam-se portadores do vírus, apesar de poderem não manifestar sintomatologia, ou terem menor probabilidade de infetar outros gatos. Em períodos de imunossupressão, pode ocorrer reativação da infeção com replicação viral, virémia e excreção do vírus na saliva. A **infeção progressiva** ocorre quando o sistema imunitário não consegue debelar a infeção. O gato faz virémia, com replicação e excreção viral persistente. São estes animais que desenvolverão doenças relacionadas com o FeLV, como, por exemplo, linfomas, tendo uma esperança média de vida reduzida (Gleich et al. 2009). Na **infeção focal** a replicação viral acontece localmente, por exemplo nas glândulas mamárias, bexiga e olhos, com produção intermitente de antigénio (Hartmann 2012a; Hartmann 2012b).

Outro fator determinante de doença associado ao hospedeiro que influencia a dinâmica da doença é a idade do gato aquando da infeção. Gatinhos recém-nascidos que sejam infetados desenvolvem atrofia do timo, resultando em astenia, imunossupressão grave e morte. Se o contágio acontecer em adulto, aumenta a probabilidade de ocorrer uma infeção abortiva ou regressiva, e ainda que os gatos desenvolvam uma infeção progressiva, os sinais clínicos serão menos agressivos, e os animais terão um período mais prolongado de aparente bem-estar (Hartmann 2012a; Hartmann 2012b).

1.1.1.1.3. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos mais comuns são afeções hematológicas (anemia não regenerativa), doenças imunomediadas, neoplasias (linfoma, leucemia), imunossupressão que promove o aparecimento de infeções secundárias, como Peritonite Infeciosa Felina (PIF), micoplasmose, infeções do trato respiratório, bem como estomatite, neuropatias e afeções reprodutivas (Hartmann 2012a; Hartmann 2012b).

1.1.1.1.4. Carcinogénese

A associação entre o FeLV e o linfoma está bem estabelecida. Primeiro, esta neoplasia pode ser induzida em gatos saudáveis, pela infeção experimental com o vírus; segundo, gatos infetados pelo FeLV têm uma probabilidade 62 vezes superior de desenvolverem linfoma; terceiro, especialmente antes dos anos 80 do século XX, a maioria dos gatos com linfoma eram portadores de FeLV (Hartmann 2012a).

O FeLV não contém informação genética que codifique para produtos com capacidade oncogénica (Levesque et al. 1990). Assim, o mecanismo pelo qual induz a formação tumoral é o da inserção mutagénica, isto é, inserção do provírus perto de genes importantes para a diferenciação e a proliferação celular (proto-oncogenes), o que leva à sua expressão anormal, resultando em proliferação celular descontrolada (Mikkers and Berns 2003). Em 1981, Hayward e colegas publicaram um artigo onde demonstraram que em linfomas induzidos pelo vírus da leucose aviária, o gene *c-myc* era ativado pela integração do provírus. Diversos estudos posteriores comprovaram a ativação deste gene em infeções pelo FeLV, mediante transdução viral, inserção mutagénica do provírus, ou rearranjos genéticos (Neil et al. 1984; Tsatsanis et al. 1994). Através de estudos de interrupções genéticas pelo provírus do FeLV, vários locais foram identificados, como o *flvi-1*, o *fit-1*, o *pim-1*, o *flvi-2* e o *flit-1* (Theo Cuypers et al. 1984; Levesque et al. 1990; Verbeek et al. 1991; Tsatsanis et al. 1994; Z. Wang et al. 2001; Fujino et al. 2009). O locus *flit-1* foi identificado em 2009 por Fujino et al., num estudo onde foram investigados 35 gatos com neoplasias associadas ao FeLV, em que 23 apresentavam linfoma do timo, 4 linfoma gastrointestinal e 5 linfoma nodal. A grande maioria dos gatos não exibia inserção do provírus no locus *flit-1*, contudo, em 5 dos 23 linfomas do

timo (21,7%) constatou-se a inserção neste, e apenas 1 destes gatos apresentava simultaneamente inserção perto do gene *c-myc*. Estes resultados sugerem que a integração do provírus no locus *flit-1* pode estar associado ao desenvolvimento de linfomas no timo, e que, ao contrário dos loci *flvi-2* e *fit-1*, o produto da inserção neste locus pode não apresentar uma associação direta com o *c-myc*. A identificação frequente deste locus em linfomas do timo em gatos FeLV-positivos sugere que o *flit-1* está localizado próximo de um gene que tem uma ação crucial no crescimento e na diferenciação celular, e a inserção do provírus influencia a expressão deste gene. Através da sequenciação alargada desta zona, o gene ACVRL1 foi identificado. A expressão deste gene foi detetada em dois linfomas do timo com rearranjos no *flit-1*, enquanto em timos saudáveis e em 7 tumores linfóides relacionados com o FeLV mas sem rearranjos neste locus, não se detetou a sua expressão. Foi assim demonstrado que a sobreexpressão do ACVRL1, pela inserção do provírus do FeLV no locus *flit-1*, contribui para o crescimento celular, podendo ser um dos mecanismos da formação tumoral (Fujino et al. 2009; Hartmann 2012a; Hartmann 2012b).

A infeção pelo FeLV está mais relacionada com o desenvolvimento de linfomas de células T, o que pode dever-se ao facto de a replicação viral no timo ocorrer numa fase precoce da infeção, predispondo para o desenvolvimento tumoral neste órgão (Hartmann 2012b; Hartmann 2012a). Sabe-se também que os linfócitos T, maduros e imaturos, células *natural killer* (NK), e possivelmente também os monócitos, são as células-alvo deste retrovírus (Stützer et al. 2011). Há também uma associação entre a infeção pelo FeLV e linfomas de elevado índice mitótico, o que sugere um comportamento mais agressivo destas neoplasias (Valli et al. 2000; Meichner et al. 2012).

Questiona-se que a prevalência de linfomas associados ao FeLV possa ser maior do que os testes convencionais de pesquisa de antigénio sugerem. Segundo um estudo efetuado por Gabor et al. (2001), de 107 gatos com linfoma, a ELISA apenas detetou infeção pelo FeLV em 2% dos gatos, enquanto a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) detetou a infeção em 26%. Também, segundo Hartmann (2012a), gatos negativos ao antigénio do FeLV que vivam com animais portadores do vírus têm uma probabilidade 40 vezes superior de desenvolver linfoma, do que os gatos da população geral. A infeção regressiva pode ser responsável pelo desenvolvimento tumoral, ou a infeção pelo FeLV pode estar presente em células que não as neoplásicas (sem ser detetado) e induzir a oncogénese por mecanismos como a libertação de citocinas ou pela estimulação crónica do sistema imunitário (Hartmann 2012b).

1.1.1.2. Vírus da Imunodeficiência Felina

O FIV foi identificado pela primeira vez em 1987, por Niels Pedersen e colegas (Murphy 2017). Infeta felinos a uma escala mundial, e a sua prevalência varia consoante a localização geográfica (Sellon and Hartmann 2012; Murphy 2017).

1.1.1.2.1. Subgrupos

Quando presente num hospedeiro, o FIV sofre mutações com frequência. Estas alterações genómicas podem ocorrer durante a transcrição reversa, ou através de recombinações entre diferentes subtipos que co-infetam a mesma célula (Beatty 2017).

Alterações no gene *env* são responsáveis pela existência de diversos subtipos em todo o mundo: A, B, C, D, E e F. Gatos infetados naturalmente podem exibir diversos subtipos, e estas superinfecções sugerem que não há proteção cruzada – ou é residual – entre subtipos (Sellon and Hartmann 2012). Contudo, a relevância clínica da classificação dos subtipos do FIV é dúbia, na medida em que o conhecimento do subtipo não permite prever a sua virulência ou a eficácia da proteção vacinal nos países onde a imunização é autorizada (Beatty 2017).

1.1.1.2.2. Patogenicidade

A transmissão do vírus ocorre através do contacto com saliva ou sangue contaminados, por mordeduras ou arranhadelas relacionadas com lutas, o que explica serem os machos os mais infetados.

O vírus pode ser detetado no epitélio das glândulas salivares em infeções agudas, tal como na saliva, nos linfócitos circulantes e no plasma ou soro. A transmissão também pode ocorrer verticalmente, das gatas para as ninhadas, apesar de ser pouco frequente em infeções naturais. Apesar da transmissão sexual não ter a expressão observada na infeção pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), o sémen de gatos infetados contém frequentemente o vírus (Levy et al. 2008; Sellon and Hartmann 2012; Beatty 2017; Murphy 2017).

Em infeções experimentais, após a inoculação do FIV, a replicação viral ocorre em células-alvo de órgãos linfóides (timo, baço, linfonodos), e noutros tecidos ricos em linfócitos. Há também infeção de células mononucleares, como linfócitos e monócitos, de órgãos como a medula óssea, pulmão, trato intestinal, cérebro e rins (Sellon and Hartmann 2012).

Os linfócitos T CD4⁺ (*T-helper*) e CD8⁺ (T-citotóxico) são os alvos iniciais, com decréscimo das suas concentrações nas primeiras semanas pós-infeção. Esta linfopénia é seguida por uma robusta resposta imunitária, caracterizada pela produção de anticorpos contra o FIV, supressão da carga viral circulante e recuperação dos níveis de linfócitos T CD8⁺ para níveis pré-infeção. Esta recuperação resulta na inversão do rácio de linfócitos T CD4⁺:CD8⁺, que tende a manter-se, apesar de, com o tempo, ambas as linhagens de linfócitos T diminuírem gradualmente. A resposta imunitária é incapaz de eliminar o vírus, e o gato permanece infetado para a vida (Levy et al. 2008; Murphy 2017).

Apesar de na infeção pelo HIV (na ausência de terapia antirretroviral) os pacientes progredirem de forma bem caracterizada até à fase terminal, conhecida como Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), na infeção pelo FIV, a progressão clínica não é tão

previsível. Em infecções experimentais identificaram-se três fases: fase aguda; fase crônica assintomática e fase terminal (Beatty 2017). Na medicina humana, estes estadios podem ser definidos pela contagem absoluta de linfócitos T CD4⁺ e da carga de ARN viral no plasma, mas em medicina veterinária tais associações não são tão assertivas (Goto et al. 2002; Levy et al. 2008).

A **fase aguda** ocorre logo após a infecção, e pode ter a duração de 6 a 8 semanas. Nesta fase, o vírus replica-se rapidamente e entra em circulação (virémia). Depois dissemina-se para os tecidos linfóides, sendo detetável na saliva 3 semanas após a infecção. Nas 2 a 6 semanas pós-infecção, ocorre uma intensa resposta imunitária, com produção de linfócitos T citotóxicos (CD8⁺) e anticorpos. A replicação viral é contida, mas o vírus não é eliminado. A **fase crônica assintomática** pode durar vários anos, e caracteriza-se por ausência de virémia ou virémia fraca. Nesta fase a disfunção imunitária continua, e os níveis de linfócitos T CD4⁺ diminuem. Estas células são relevantes na resposta imunitária celular e humoral, e sendo os principais alvos do FIV, a imunidade adaptativa é afetada. Vários fatores podem influenciar a duração desta fase, como a patogenicidade do vírus, infecções secundárias e a idade do gato aquando da infecção (Hartmann 2012a; Sellon and Hartmann 2012). Eventualmente, alguns animais entram na **fase terminal**, caracterizada por uma intensa depleção linfocitária, em que se desenvolve a comumente designada “SIDA Felina”. Surgem infecções secundárias e a carga viral circulante aumenta. Porém, gatos nesta fase podem recuperar e tornar-se assintomáticos novamente, com diminuição drástica da carga viral, algo que não está descrito no Homem. O termo “SIDA Felina” não é recomendado, não só por os critérios para a sua definição não estarem bem definidos, mas especialmente porque muitos tutores associam este termo a qualquer gato FIV-positivo, condicionando uma interpretação de uma infecção de péssimo prognóstico e letal, o que não se observa na maioria dos casos monitorizados (Hartmann 2012a; Beatty 2017).

1.1.1.2.3. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos geralmente refletem infecções secundárias e neoplasias. A fase inicial/aguda é marcada por sinais clínicos transitórios e suaves, como febre, letargia, enterite, estomatite, dermatite, conjuntivite, doenças do trato respiratório e linfadenomegália generalizada. Por vezes os tutores não se apercebem desta fase, ou o animal apresenta manifestações muito subtis. A estomatite é um achado frequente em gatos FIV-positivos, e pode ocorrer em qualquer fase da infecção. A sua patogénese não é bem conhecida, contudo alguns achados histopatológicos de linfócitos, plasmócitos, e variados graus de infiltração neutrofílica e eosinofílica, sugerem uma resposta imunitária desencadeada por estimulação antigénica crónica ou devido a uma desregulação imunitária. A imunossupressão que se

verifica ao longo da infecção pode condicionar a eliminação de outros microrganismos patogênicos, como o calicivírus ou bactérias que induzem infecções secundárias (Sellon and Hartmann 2012; Beatty 2017). Também se detetou, em infecções experimentais, provírus no Sistema Nervoso Central (SNC), sendo que são as células não-neuronais os alvos (macrófagos e microglia). As lesões histopatológicas por norma são menos agressivas do que as observadas no Homem, por o FIV ter menos tropismo para os macrófagos, que são as células que transportam o vírus através da barreira hematoencefálica. Ainda assim, alguns isolados de subtipos do FIV provocam graves neuropatias, com alterações comportamentais, aumento da agressividade e retardamento dos reflexos pupilares (Meeker 2007; Beatty 2017). Na fase crónica assintomática, os animais aparentam estar saudáveis, podendo esta durar vários anos. Já na fase terminal, os sinais clínicos mais frequentes são mielossupressão, neoplasias e doenças neurológicas (Obert and Hoover 2000; Pedersen et al. 2001; Hartmann 2012a). Estão descritas infecções oportunistas por vírus, bactérias, protozoários e fungos (Sellon and Hartmann 2012).

1.1.1.2.4. Carcinogénese

Os animais FIV-positivos têm uma probabilidade de 5 vezes superior de desenvolverem linfoma ou leucemia, comparativamente a gatos saudáveis (Hartmann 2012a). Os linfomas são tipicamente de alto grau, e de células B, à semelhança do linfoma de células B característico da infecção pelo HIV (Beatty 2017). O FIV e o HIV não contêm oncogenes no seu genoma, e o provírus só foi ocasionalmente encontrado nas células neoplásicas de gatos com linfoma (J. Wang et al. 2001; Beatty et al. 2002), o que sugere que estes vírus têm um papel essencialmente indireto na formação tumoral: ou pela hiperplasia crónica dos linfócitos B ou pela diminuição da competência da vigilância imunitária (Beatty et al. 2002; Hartmann 2012a). Num estudo efetuado por Beatty et al. (1998), foram registados, em gatos com linfoma associado ao FIV, aumentos da produção de interleucina-1, que promove a produção de anticorpos, e de interleucina-6, que atua sinergicamente com a interleucina-1 na estimulação da proliferação e diferenciação das células B. A hiperestimulação dos linfócitos B pode contribuir para a formação tumoral, ao predispor para o surgimento de clones celulares “imortais”, como resultado do aumento de erros no ADN relacionados com a replicação celular aumentada (Callanan et al. 1993; Beatty et al. 1998; Beatty 2017). A diminuição da eficácia da vigilância imunitária deve-se à redução da contagem de linfócitos T CD4⁺, pois estes têm um papel essencial na promoção e manutenção de ambas as respostas imunitárias, celular e humoral. Esta redução de linfócitos T CD4⁺ pode resultar de: (1) diminuição da produção, secundária à infecção do timo ou da medula óssea; (2) lise de células infetadas induzida pelo vírus; (3) destruição de células infetadas pelo sistema imunitário; (4) apoptose.

Ao longo do tempo, os linfócitos de gatos infetados perdem a capacidade de proliferar em resposta à estimulação antigénica. A sua função também é prejudicada pela expressão reduzida ou alterada de algumas moléculas de superfície que têm um papel relevante na apresentação antigénica ou na amplificação e no controlo da resposta imunitária (Sellon and Hartmann 2012).

Em medicina humana, 80% dos linfomas associados ao HIV estão relacionados com a infeção concomitante por um gamaherpesvírus, especificamente o vírus *Epstein-Barr* (Gloghini et al. 2013). A infeção por este vírus tende a ser assintomática (em portadores sãos), mas numa situação de imunossupressão pode promover a formação tumoral (Beatty et al. 2014; Troyer et al. 2014). Com a descoberta recente de um novo gamaherpesvírus no gato doméstico (*Felis catus* gamaherpesvirus-1), é necessário investigar se a infeção por *Felis catus* gamaherpesvirus-1 induz um papel oncogénico similar ao observado no Homem (Beatty et al. 2014; Troyer et al. 2014; Beatty 2017).

2. Classificação dos Linfomas

A classificação dos linfomas nos gatos baseia-se na sua localização anatómica, na morfologia e distribuição celular, e no seu fenótipo (Vail 2017).

2.1. Classificação Histológica e Imunofenotípica

Em medicina veterinária, a classificação histológica resultou da adaptação dos métodos desenvolvidos para a medicina humana. Ainda assim, existem algumas diferenças entre as espécies. Por exemplo, os animais apresentam uma proporção mais elevada de linfomas de alto grau, mais baixa de linfomas de tipo folicular, e os linfomas semelhantes ao de *Hodgkin* são raramente identificados, comparativamente ao Homem (Morrison 2004).

A classificação histológica baseia-se na observação microscópica das células de uma amostra de tecido, e na identificação de diversos parâmetros, como o tamanho das células e o número de mitoses por campo, entre outros (Gabor et al. 1999; Twomey and Alleman 2005; Vezzali et al. 2010; Briscoe et al. 2011; Valli et al. 2011; Moore et al. 2012; Meichner and von Bomhard 2016; Thangapandiyan et al. 2018).

A classificação fenotípica fundamenta-se no tipo de células que constituem o linfoma, linfócitos T ou B (Z. Wang et al. 2001; Twomey and Alleman 2005; Jaffe et al. 2008; Feldman et al. 2010; Matter et al. 2012). Após o reconhecimento destas características, recorre-se a um esquema de classificação para identificar o linfoma.

Em 1980 surgiu a “*Working Formulation*” desenvolvida pelo *National Cancer Institute* (NCI-WF), que classifica os tumores em baixo, intermédio e alto-grau, consoante o seu índice

mitótico e a taxa natural de progressão (Anexo 1). Os linfomas de alto-grau são constituídos por uma população de linfoblastos grandes, com abundante citoplasma e intensa atividade mitótica. Estas neoplasias tendem a progredir rapidamente, e podem ser de células B ou T. Já os linfomas de baixo-grau são constituídos por células pequenas, e de baixo índice mitótico. Progridem mais lentamente, e podem ser de células B ou T (Morrison 2004).

Em 1994, o *International Lymphoma Study Group* publicou a classificação “*Revised European American Lymphoma*” (REAL). Este sistema combina a morfologia celular, o fenótipo, as características genéticas e as manifestações clínicas. Contudo, este sistema não propõe a separação histológica em graus, como descrito na classificação NCI-WF (Parodi 2001).

Em 1999 a Organização Mundial de Saúde (OMS) formulou uma classificação baseada nos trabalhos da *European Association for Hematopathology*, da *American Society of Hematopathology* e da referida classificação REAL (Harris et al. 1999). Contudo, só em 2002, a OMS publica a classificação para linfomas em animais domésticos, com base no método REAL (Parodi 2001; Vezzali et al. 2010; Valli et al. 2011) (Anexo 2).

2.2. Classificação Anatômica

2.2.1. Linfoma Gastrointestinal

O linfoma gastrointestinal é a forma anatômica mais comum no gato, e engloba um conjunto de afeções localizadas no trato gastrointestinal, com possível envolvimento dos linfonodos mesentéricos e do fígado. Podem surgir como neoplasias solitárias, ou, mais frequentemente, de forma difusa ao longo do trato gastrointestinal (Barrs and Beatty 2012a; Vail 2013). Geralmente, o linfoma gastrointestinal tende a manifestar-se mais no intestino delgado, em comparação com o estômago ou o intestino grosso (Lingard et al. 2009; Moore et al. 2012; Vail 2013). É o linfoma menos associado a infecções retrovirais (Barrs and Beatty 2012a).

Numa perspectiva clínica, o linfoma gastrointestinal pode ser subdividido em linfoma de baixo grau e em linfoma de grau intermédio/alto. Afetam gatos entre os 10-13 anos de idade, e a maioria apresenta fenótipo T (Vezzali et al. 2010; Kiupel et al. 2011; Moore et al. 2012). Contudo, nos linfomas gastrointestinais de grau mais elevado, podem surgir com o fenótipo B (Pohlman et al. 2009; Moore et al. 2012). O Linfoma de Linfócitos Grandes Granulares (LLGG) é uma subclassificação dos linfomas gastrointestinais descrita no esquema de classificação da OMS. Pode ser de qualquer grau histológico (Krick et al. 2008; Barrs and Beatty 2012a). Neste linfoma, também os gatos mais velhos (idade média 9-10 anos) são os alvos, e não está descrita associação com a infecção pelo FIV ou FeLV. Este tumor é formado por linfoblastos, com núcleo redondo e clivado, com uma quantidade moderada de grânulos azurófilos no citoplasma, que ocasionalmente se encontra com vacúolos (Krick et al. 2008;

Vail 2013). Estes linfomas são geralmente de células T citotóxicas, mas aproximadamente 10% não expressa marcadores para linfócitos T nem B, sendo classificados como linfomas de células NK. Estes tumores detetam-se com maior frequência no intestino delgado, especialmente no jejuno, são transmurais, com exibição de epiteliotropismo, e pelo menos 2/3 envolvem outros órgãos, como linfonodos mesentéricos, fígado, baço, rins, com possíveis efusões peritoneais e infiltração da medula óssea (Vail 2013).

Os linfomas gastrointestinais estão associados a sinais clínicos inespecíficos. No linfoma de baixo grau, os sinais clínicos mais reportados são a anorexia, a perda de peso, o vômito e a diarreia, que tendem a progredir lentamente (Kiselow et al. 2008; Lingard et al. 2009). À palpação abdominal sente-se espessamento das ansas intestinais em cerca de 70% dos casos, e em 20% é possível palpar uma massa abdominal (Barrs and Beatty 2012a; Vail 2013). Nos linfomas gastrointestinais de alto grau, os sinais clínicos são semelhantes, mas com uma evolução aguda de dias a semanas. É também mais frequente a identificação de uma massa abdominal palpável, linfadenomegália dos mesentéricos e hepatomegália (Gieger 2011). Pode ocorrer icterícia se houver envolvimento hepático, e hematoquémia ou tenesmo nos casos que envolvem o cólon (Vail 2013). Gatos com LLGG apresentam-se com anorexia, perda de peso, letargia e vômito (Krick et al. 2008). Em cerca de metade dos casos é possível palpar-se uma massa abdominal, e a presença de hepatomegália, esplenomegália e renomegália é frequente. Efusões peritoneais e pleurais, e icterícia são achados observados em menos de 10% dos casos (Vail 2013).

2.2.2. Linfoma Mediastínico

A forma mediastínica pode envolver o timo e os linfonodos mediastínico e esternal. Esta localização anatômica é mais frequente em gatos jovens (2-4 anos de idade), com infecção retroviral, sendo que nestes o fenótipo é geralmente de células T, enquanto em gatos mais velhos, aumenta a frequência de linfoma B, segundo Antony 2001, citado por Seo et al. (2006).

Há evidência de predisposição de raças orientais, nomeadamente a Siamês, para o aparecimento deste tipo de linfoma, sendo que nestes casos a infecção retroviral, por norma, não está presente, e o linfoma é menos agressivo (Louwerens et al. 2005; Seo et al. 2006; Schmidt et al. 2010; Vail 2013; Vail 2017).

Os sinais clínicos mais frequentes de linfoma mediastínico são dispneia, taquipneia, presença de uma massa intratorácica ou de efusão pleural. Esta última é geralmente de conteúdo serossanguinolento a quiloso e, na maioria dos casos, são observadas células neoplásicas. A presença de síndrome de Horner e síndrome pré-cava é rara (Vail 2013; Vail 2017).

2.2.3. Linfoma Nodal

Esta forma anatômica manifesta-se pelo envolvimento dos linfonodos periféricos, com linfadenomegália dos mesmos. Representa apenas 4 a 10% dos casos de linfoma felino. Afeta principalmente gatos adultos (por volta dos 7 anos de idade), pouco associado a infecção por retrovírus, e o linfoma nodal pode ser de células B ou T. A progressão deste linfoma pode provocar infiltração do fígado e da medula óssea (Louwerens et al. 2005; Vail 2013; Vail 2017).

Existe um tipo de linfoma nodal que parece estar a emergir, descrito como “Linfoma semelhante ao de *Hodgkin*”, que, tal como o nome indica, apresenta semelhanças patológicas e clínicas ao linfoma de *Hodgkin* humano. O “Linfoma semelhante ao de *Hodgkin*” atinge gatos mais velhos. Não há associação com infecção retroviral. Manifesta-se como linfadenopatia unilateral e focal dos linfonodos cervicais e mandibulares (à semelhança do Homem, em que os linfonodos do pescoço e do tórax são os alvos), sem envolvimento extranodal (Vail 2013; Vail 2017).

Histologicamente, os linfonodos exibem uma minoria de células neoplásicas, rodeadas por uma maioria de linfócitos pequenos, histiócitos e granulócitos (Walton and Hendrick 2001). Também podem estar presentes linfócitos pequenos ou linfoblastos com características bizarras, ou células multinucleadas semelhantes às células *Reed-Sternberg* características do linfoma de *Hodgkin* humano (Vail 2017). Este linfoma pode ser classificado como de células B, mas rico em células T (Hayes 2006a; Vail 2013).

Gatos com a forma nodal apresentam uma variedade de sinais clínicos, dependendo da extensão do tumor. Geralmente apresentam-se apenas prostrados. É raro a linfadenopatia periférica ser o único sinal clínico.

O linfoma semelhante ao de *Hodgkin* é geralmente menos agressivo do que os linfomas felinos não-*Hodgkin* (Walton and Hendrick 2001; Vail 2013).

2.2.4. Linfoma Extranodal ou Atípico

O linfoma extranodal ou atípico, caracteriza-se pela formação tumoral em localizações que não os linfonodos, sendo os mais frequentes o linfoma nasal, renal, do SNC, laringotraqueal, ocular, retrobulbar e cutâneo (Vail 2013).

O **linfoma nasal** é a expressão anatômica mais frequente (Taylor, Goodfellow, et al. 2009). É normalmente localizado, contudo cerca de 30% dos linfomas nasais apresentam extensão local, ou metástases à distância. Os gatos afetados são geralmente adultos (9 a 10 anos de idade), negativos a FIV/FeLV. 3/4 destes tumores são de células B, de grau histológico intermédio ou alto (Little et al. 2007; Haney et al. 2009; Taylor, Goodfellow, et al. 2009; Vail 2013). Os sinais clínicos mais frequentes são anorexia, corrimento nasal, espirro, ruídos respiratórios (estridor, estertor e sibilos), deformação facial, epífora, e ocasionalmente dispneia e tosse (Little et al. 2007; Haney et al. 2009; Taylor, Goodfellow, et al. 2009). O

corrimento nasal é normalmente mucopurulento, mas em 1/3 dos casos regista-se epistáxis. Também pode ocorrer linfadenopatia regional (Vail 2013).

O **linfoma renal** é o segundo linfoma extranodal mais frequente. Representa cerca de 1/3 dos linfomas atípicos no gato. Surge geralmente em gatos adultos (9 a 10 anos), sem associação retroviral (Taylor, Goodfellow, et al. 2009). A maioria destes linfomas são de células B e de grau histológico intermédio a alto (Gabor et al. 1999; Vail 2013). Parece haver uma associação entre o linfoma renal e o linfoma no SNC, pois a extensão ao SNC é uma sequela reportada em 40 a 50% dos gatos, mas faltam estudos que comprovem esta associação (Hayes 2006a; Tomek et al. 2006). Os gatos exibem sinais clínicos de insuficiência renal: perda de apetite; perda de peso; poliúria/polidipsia (Taylor, Goodfellow, et al. 2009). À palpação abdominal é possível identificar renomegália, geralmente bilateral (Vail 2013).

O **linfoma do SNC** é a segunda neoplasia mais comum do SNC na espécie felina. Pode ser intracraniano, espinhal ou ambos (Marioni-henry et al. 2008). Este tumor surge com maior frequência em gatos entre os 4 e 10 anos de idade. 17% a 50% dos casos estão relacionados com a infeção pelo FeLV (Troxel et al. 2003; Marioni-henry et al. 2008; Vail 2013). Aproximadamente, 70% dos linfomas do SNC têm manifestações extraneurais, nomeadamente nos rins e na medula óssea (Troxel et al. 2003; Vail 2013). Segundo Marioni-Henry et al. (2004), 40% dos linfomas espinhais apresentaram envolvimento de diversas porções da medula; 50% apresentaram envolvimento intracraniano; 82,3% apresentaram manifestações extraneurais. No linfoma do SNC são identificados sinais clínicos inespecíficos como anorexia e letargia, e sinais mais específicos consoante haja lesão intracraniana, medular ou ambas. Os sinais clínicos de linfomas intracranianos incluem alteração da consciência, *circling*, convulsões, agressividade, cegueira central e anomalias vestibulares (Troxel et al. 2003; Tomek et al. 2006; Vail 2013). Os sinais clínicos de linfoma com envolvimento da medula espinhal incluem parésia ou paraplegia, fraqueza, ataxia, obstipação e dor na coluna. Por vezes observam-se sinais clínicos inespecíficos como anorexia, letargia, perda de peso e dificuldade respiratória, que podem ser explicadas pelo envolvimento extraneural do linfoma (Marioni-henry et al. 2008; Vail 2013). Cerca de 1/3 dos sinais são assimétricos, e geralmente a zona toracolombar é a mais atingida. As disfunções neurológicas podem ser subtis ou progredir rapidamente (Vail 2013).

O **linfoma traqueal** é um tumor pouco frequente, mas bem caracterizado. Representou cerca de 10% dos gatos incluídos num estudo que abrangeu 110 casos de linfoma atípico (Taylor, Goodfellow, et al. 2009). Ocorre geralmente em gatos adultos (9 anos de idade, em média), sem infeção retroviral. Pode surgir de forma localizada ou fazer parte de um processo tumoral generalizado (Vail 2013). É comum surgir dispneia, disfonia, estridor, engasgos ou até vômitos, e mais raramente tosse (Taylor, Goodfellow, et al. 2009; Taylor, Harvey, et al. 2009).

O **linfoma cutâneo** é raramente diagnosticado no gato. Ocorre em animais de 10 a 13 anos de idade, sem associação aos retrovírus (Fontaine et al. 2011). Pode surgir de forma solitária ou generalizada, afetando sobretudo a cabeça, numa progressão crónica/lenta. Tem duas formas, epiteliotrópica e não-epiteliotrópica, sendo ambas frequentemente de células T (Vail 2013). Os sinais clínicos reportados são alopecia, placas eritematosas, nódulos ou placas ulceradas, e linfadenopatia regional (Vail 2013).

O **linfoma ocular** foi identificado em 5 de 110 casos de linfoma atípico investigados por Taylor, Goodfellow, et al. (2009). Pode ter uma apresentação uni ou bilateral, envolvendo qualquer parte do globo ocular e do espaço retrobulbar (Hayes 2006a). Apesar de ainda não ter sido comprovado, presume-se que a maioria dos linfomas oculares façam parte de um processo generalizado (Vail 2013). Gatos com linfoma ocular podem apresentar-se com uveíte ou massas iridiais, bem como com sinais clínicos sistémicos (Taylor, Goodfellow, et al. 2009).

3. Diagnóstico e Estadiamento Clínico

Quando surge a suspeita de linfoma, um estudo aprofundado deve ser sempre efetuado. O exame físico deve ser minucioso, com palpação abdominal e dos linfonodos periféricos, avaliação da coloração das mucosas e auscultação torácica. Também deve ser efetuado um exame oftálmico, pois, segundo um estudo realizado por Nerschbach et al. (2013), aproximadamente 50% dos gatos com linfoma exibiam alterações oculares. A testagem para FeLV e FIV deve ser realizada ou solicitada sempre que surja uma suspeita de linfoma (Levy et al. 2008; Vail 2017). Também o hemograma e as análises bioquímicas devem ser requisitados, pois no hemograma é comum encontrar anemia, com possível trombocitopenia e leucopenia, em situações de marcada mielóptose. A presença de linfócitos atípicos em circulação pode ser indicativa de envolvimento da medula óssea ou de leucemia (Vail 2017). No perfil bioquímico devem ser incluídos parâmetros hepáticos, como alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina sérica (FAS), e renais, como ureia e creatinina. Podem também ser incluídos os eletrólitos, albumina, proteínas totais, e, caso estas últimas estejam aumentadas, deve solicitar-se um proteinograma. Uma elevação das globulinas séricas (normalmente monoclonais) pode sugerir linfoma de células B. A hipoproteïnemia (<5.0 g/dL), com hipoalbuminemia são mais comuns em linfomas gastrointestinais (Tams 1993; Ragaini et al. 2003). A Imagiologia é essencial não só para o diagnóstico, como para avaliar o estadiamento do linfoma e monitorizar a resposta ao tratamento. O raio-X, a TAC e a ecografia são os exames imagiológicos mais utilizados. A TAC com emissão de positrões é o exame *gold standard* no diagnóstico imagiológico de linfoma (Vail 2017).

O diagnóstico definitivo de linfoma só é atingido através de estudos citológicos ou histológicos. A **histopatologia** é o método mais utilizado, pois fornece informação relativa à estrutura/organização dos tecidos, à sua invasão por células neoplásicas, bem como a possíveis anomalias na sua arquitetura. Assim, apesar do exame citológico ser menos invasivo, mais económico e rápido, o exame histopatológico fornece mais informações, melhorando a precisão do diagnóstico (Friedrichs and Young 2013; Vail 2013).

O **estudo imunohistoquímico** também tem um papel essencial no diagnóstico de linfoma, pois permite detetar o tipo de célula neoplásica em expansão – linfócito B ou T. Esta análise é feita através da identificação de proteínas específicas, com expressão membranar, citoplasmática ou nuclear, que, devido à utilização de anticorpos, enzimas e substratos, permite aos patologistas identificarem as células que expressam a proteína/marcador de interesse, e aferir o seu padrão. A maioria dos estudos imunohistoquímicos em linfomas felinos focam-se na avaliação da expressão de dois marcadores glicoproteicos nos linfócitos, um específico para células T, e outro para células B. A expressão mais acentuada de um destes marcadores permite concluir que existe uma população dominante de linfócitos com um só fenótipo, sendo ele B ou T, o que reforça a suspeita de linfoma. O marcador **CD3** é uma glicoproteína composta por um complexo de cinco polipéptidos (cadeia gama/ γ , cadeia delta/ δ , duas cadeias épsilon/ ϵ e uma cadeia zeta/ ζ) associados ao recetor da célula T (TCR). Este marcador é expresso nas duas grandes classes de linfócitos T (linfócitos $T\alpha\beta$ e linfócitos $T\gamma\delta$). O recetor CD3 é relevante na ativação dos linfócitos T, e é a proteína transmembranar mais utilizada na imunohistoquímica para a deteção destas células no gato (Matter et al. 2012; Felisberto 2013; Felisberto et al. 2017). Para a identificação dos linfócitos B existem diversos marcadores, como o CD79 $\alpha\beta$, o CD20, o Pax-5, entre outros. O marcador **CD79** é constituído por duas proteínas transmembranares, CD79 α e CD79 β . As suas porções extracelulares acoplam com qualquer imunoglobulina, e as porções intracitoplasmáticas providenciam a ligação necessária para a transdução dos sinais extracelulares, tal como os produzidos pela ligação do antigénio à porção da imunoglobulina do recetor da célula B (BCR). A estimulação deste recetor resulta na mudança da célula B do estadio G0 para o G1 do ciclo celular. O marcador mais utilizado nos estudos imunohistoquímicos é o CD79 α (Chu and Arber 2001; Felisberto et al. 2017). O marcador **CD20** é uma proteína transmembranar expressa durante o desenvolvimento celular dos linfócitos B, estando presente em todos os linfócitos B maduros, mas ausente durante a sua diferenciação terminal em plasmócitos (Chu et al. 2006). A sua função é ainda pouco conhecida, mas pensa-se que atua como um canal de cálcio na membrana celular. A presença da proteína CD20 em linfócitos normais e neoplásicos torna-a um marcador específico da linhagem de células B. Contudo normalmente é negativo em linfomas de células B imaturas (Nasr et al. 2010; Lee et al. 2011). O marcador nuclear **Pax-5** é um fator de transcrição importante na diferenciação dos linfócitos B e é responsável pela

expressão do complexo BCR (Busslinger 2004; Chung et al. 2012). A expressão elevada do Pax-5 ocorre durante o desenvolvimento da célula B; na fase de maturação celular dá-se uma diminuição da sua expressão; nos plasmócitos e células T há uma completa ausência da expressão do Pax-5 (Cobaleda et al. 2007; Feldman et al. 2010; Felisberto et al. 2017). Segundo Chu et al. (2006), o Pax-5 expressa-se na fase inicial do desenvolvimento do linfócito B, marcando em neoplasias de células precursoras, enquanto a marcação do CD20 e do CD79 α não é tão acentuada nesta fase, marcando com maior intensidade em neoplasias de células maduras.

Por vezes, os resultados não são conclusivos, na medida em que não existe predominância de nenhum dos fenótipos (por exemplo, marcação 50:50). Quando tal acontece, e dependendo do resultado histopatológico da amostra, pode-se assumir que se trata apenas de uma hiperplasia reativa linfóide, ou podem-se adicionar mais marcadores ao estudo imunohistoquímico, de forma a reduzir o número de células não marcadas e a identificar um possível fenótipo dominante, ou mesmo recorrer a outros métodos de diagnóstico, nomeadamente moleculares, por exemplo a *PCR for antigen receptor rearrangement* (PARR) (Grover 2005; Gieger 2011). Pode ainda surgir um resultado negativo, ou seja, o tecido não marcar para nenhum dos fenótipos, o que sugere um linfoma de células NK (Hirabayashi et al. 2019).

Outro método que permite determinar o fenótipo dos linfomas é a **citometria de fluxo**. Esta técnica utiliza um laser para identificar certas características da célula, tais como o seu tamanho, a sua complexidade e as proteínas que expressa à superfície. A citometria de fluxo apresenta algumas vantagens em relação à imunohistoquímica, como a capacidade de identificar, de uma única vez, até 10 proteínas de superfície diferentes; a amostra poder ser recolhida por métodos menos invasivos como a punção aspirativa por agulha fina (PAAF). Contudo, uma das grandes desvantagens da citometria de fluxo é não permitir ao patologista avaliar a arquitetura dos tecidos que é uma das características mais importantes para o diagnóstico e a classificação dos linfomas (Avery et al. 2013).

Atualmente, sabe-se que a clonalidade é o *hallmark* do cancro, ou seja, é o que o caracteriza (Vail et al. 2013). Isto significa que a população de células malignas que formam uma neoplasia tem de derivar da expansão de uma só célula. Cada célula tem um conjunto de genes responsáveis por codificar a região que se irá ligar ao antigénio (TCR e BCR, para linfócitos T e B, respetivamente), e este conjunto varia entre células, quer em tamanho quer em sequência. Cada vez que um linfócito sofre maturação e se divide, em resposta à estimulação antigénica, passa a sua sequência genética do recetor de antigénio às células-filhas (Avery 2012). Por exemplo, num animal com linfoma T, todas as células T malignas devem conter a mesma sequência de ADN para a região TCR. Da mesma forma, num animal com linfoma B, todas as células B malignas devem conter sequências de ADN idênticas na

região BCR. Pelo contrário, nas linfocitoses reativas benignas as células apresentam sequências de ADN diferentes para os recetores de antígeno de cada uma (policlonalidade) (Avery 2012). Assim, a **PARR** é utilizada para amplificar as sequências de ADN dos recetores das células T e B, de modo a detetar a existência, ou não, de clonalidade. Esta técnica tem a capacidade de detetar aproximadamente até 1 célula tumoral por cada 100 células normais, dependendo do tecido (Burnett et al. 2003; Avery 2012). A sensibilidade e especificidade da técnica difere entre laboratórios, pois os resultados dependem das condições em que a análise é feita, dos *primers* selecionados e da técnica utilizada para separar os produtos do PCR. A sensibilidade em canídeos é calculada entre 70 a 90%, sendo menor nos felídeos (Burnett et al. 2003; Avery 2012; Avery et al. 2013; Vail 2017). Em cerca de 5% dos casos é possível a ocorrência de falsos-negativos (ex. linfomas de células NK, que não expressam nenhum dos recetores ou a escolha inadequada dos *primers*) ou de falsos-positivos (ex. erliquiose, ou doença de *Lyme*) (Vail 2017). Nestes casos, o diagnóstico deve ser feito com base na análise global dos resultados de todos os exames, como a histopatologia e a imunohistoquímica, em conjunto com os sinais clínicos e os achados do exame físico. Esta e outras técnicas moleculares podem ter uma grande utilidade no diagnóstico, no estadiamento (ao torná-lo mais preciso), na determinação da resposta terapêutica, na avaliação da presença de doença residual mínima e consequente reincidência (Avery et al. 2013; Vail 2017).

Após se confirmar o diagnóstico de linfoma, é imperativo compreender qual a sua extensão, e, para tal, recorre-se ao estadiamento clínico da OMS (Anexo 3).

4. Tratamento e Prognóstico

Em geral, o linfoma é uma doença sistémica e requer uma abordagem terapêutica igualmente sistémica – quimioterapia. Normalmente, os gatos toleram bem a quimioterapia, e a sua qualidade de vida melhora após o início desta (Vail 2017). A escolha da quimioterapia nos gatos é baseada no tipo histológico da neoplasia (Vail 2017).

Os fármacos quimioterápicos utilizados em linfomas felinos de grau intermédio a alto são os mesmos utilizados para os linfomas canino e humano: doxorrubicina, vincristina, ciclofosfamida, metotrexato, L-asparaginase, lomustina e prednisolona. A maioria dos protocolos de indução baseiam-se no protocolo COP (Anexo 4), constituído por ciclofosfamida, vincristina e prednisolona. A junção da doxorrubicina ao COP (passando a designar-se protocolo CHOP [Anexo 5]) parece ser benéfica. Todavia, em alguns estudos a duração da remissão e o tempo de sobrevivência foram idênticos com ambos os tratamentos (Teske et al. 2002; Waite et al. 2013). A resposta completa à terapêutica varia de 50 a 80% e, em geral, o período de remissão e tempo de sobrevivência são de aproximadamente 4-5 meses e 6-8 meses, respetivamente. Contudo, uma proporção significativa dos gatos (30 a

40%) que atingem a remissão completa, têm um período de remissão e tempo de sobrevivência mais longos (2 anos) do que o observado nos cães (Vail 2017). Gatos diagnosticados com linfoma de grau intermédio a alto que não recebam tratamento, vivem em média 4 a 6 semanas pós-diagnóstico, podendo ocorrer variações consoante a localização anatômica e o subtipo do linfoma (Vail 2013; Vail 2017).

Os linfomas indolentes (baixo grau) representam a forma mais comum de linfoma nos gatos (Briscoe et al. 2011; Kiupel et al. 2011; Rissetto et al. 2011; Barrs and Beatty 2012a; Moore et al. 2012; Russell et al. 2012; Daniaux et al. 2014; Gustafson et al. 2014). Neste tipo de linfoma é feito um tratamento quimioterápico menos agressivo, com clorambucilo e prednisolona orais. Este protocolo resulta em taxas de resposta de cerca de 90%, e o tempo médio de sobrevivência ronda os 2 anos (Troxel et al. 2003; Kiselow et al. 2008; Lingard et al. 2009).

Em linfomas extranodais por vezes são utilizadas terapias locais (cirurgia ou radioterapia) e, quando existe confirmação da ausência de doença sistémica, e a neoplasia está bem localizada, podem ser utilizadas sem associação de quimioterápicos (Hayes 2006b).

A doxorubicina como agente único, ou a prednisolona de forma paliativa, são sugeridas nos casos em que não seja possível avançar para um protocolo mais agressivo, como o CHOP (Vail 2013).

Nos gatos, a toxicidade renal relacionada com os quimioterápicos é frequente, e a função renal deve ser monitorizada, antes e durante o tratamento (ureia, creatinina e densidade urinária) (Vail 2013).

Os fatores que influenciam o prognóstico estão relacionados com o animal, o tipo de linfoma e a terapêutica instituída. A infeção pelo FeLV tem valor prognóstico, e gatos positivos apresentam uma menor taxa de sobrevivência (Vail et al. 1998; Kristal et al. 2001; Barrs and Beatty 2012b; Vail 2017). Já a infeção pelo FIV parece não influenciar a sobrevivência dos gatos com linfoma (Malik et al. 2001). Ao contrário do verificado no cão, o fenótipo do linfoma parece não influenciar o prognóstico no gato (Vail et al. 1998; Hayes 2006b). Já a localização anatômica tem valor prognóstico, sendo que gatos com linfoma nasal apresentaram tempo de sobrevivência mais prolongado, seguido do linfoma gastrointestinal, linfoma hepático, linfoma extranodal e linfoma mediastínico (Vail et al. 1998; Brenn et al. 2008). O estadio, subestadio e o envolvimento da medula óssea também são fatores de prognóstico, sendo que gatos em estadios avançados, que se apresentem no subestadio b do estadiamento OMS, e/ou que apresentem envolvimento da medula óssea, têm menor tempo de sobrevivência (Vail et al. 1998; Brenn et al. 2008; Barrs and Beatty 2012b).

A resposta inicial à terapêutica está significativamente associada à duração da primeira remissão, bem como ao tempo de sobrevivência (Vail et al. 1998; Milner et al. 2005; Vail 2017). Gatos que atinjam a remissão completa têm um tempo de sobrevivência mais

prolongado do que gatos que não respondam à terapêutica, ou que apenas atinjam uma remissão parcial (Milner et al. 2005; Lingard et al. 2009; Vail 2017). A adição de doxorubicina ao protocolo COP tem valor prognóstico positivo, com prolongamento do tempo de remissão (Moore et al. 1996; Vail et al. 1998; Barrs and Beatty 2012b; Vail 2017).

De um modo geral, a infecção por FeLV e a resposta à terapêutica são os fatores de prognóstico melhor estabelecidos, contudo, este último só pode ser determinado após a instituição da terapêutica, o que não auxilia o tutor na tomada de decisão (Vail 2017).

III – Comparação de características histológicas e fenotípicas de linfoma entre gatos com e sem infecção retroviral (FIV e/ou FeLV)

1. Introdução e Objetivos

O linfoma é a neoplasia mais frequente na espécie felina e uma das suas etiologias é a infecção por retrovírus (FIV e FeLV) (Morrison 2004; Vail 2013). O FeLV normalmente atua de forma direta na carcinogénese, enquanto o papel do FIV é, sobretudo, indireto (Hartmann 2012a). Existe também uma associação entre estes retrovírus e o fenótipo do linfoma. Os gatos infetados com FeLV desenvolvem, geralmente, linfomas de células T, enquanto gatos infetados com FIV desenvolvem linfomas de células B (Callanan et al. 1996; Louwerens et al. 2005; Vail 2013). Apesar da vacinação contra o FeLV, da testagem frequente para FeLV e FIV e do controlo e acompanhamento dos animais infetados, estes retrovírus continuam presentes nas populações felinas, essencialmente em gatos de vida semilivre e livre, e em colónias de gatos errantes (Turras 2014).

A localização anatómica mais frequente dos linfomas no gato é a gastrointestinal, com envolvimento do trato gastrointestinal (incluindo linfonodos mesentéricos e fígado), sendo que, normalmente, a infecção retroviral está ausente (Barrs and Beatty 2012a). Pelo contrário, o linfoma mediastínico está associado a estes retrovírus, ocorrendo essencialmente em gatos mais jovens (Louwerens et al. 2005; Vail 2013). Os linfomas nodais e extranodais são menos frequentes e, na sua maioria, também não estão relacionados com a infecção por FeLV ou FIV (Vail 2013).

O aumento da esperança média de vida dos animais domésticos, que resulta num aumento de afeções crónicas, juntamente com o avanço das técnicas laboratoriais, criou a necessidade e a oportunidade para classificar o linfoma. Assim, e como em muitas outras áreas da medicina veterinária, a classificação do linfoma no cão e gato foi inicialmente adaptada das classificações existentes para medicina humana (Parodi 2001), até a OMS estabelecer em 2002 uma classificação para linfomas em animais domésticos.

O objetivo deste estudo é contribuir para o conhecimento do papel dos retrovírus FeLV e FIV no desenvolvimento do linfoma, relativamente à localização anatómica, à progressão da neoplasia (tamanho celular, organização tecidual, índice mitótico) e ao tipo de células neoplásicas (linfócitos T ou B).

2. Material e Métodos

2.1. Estudo

Realizou-se um estudo retrospectivo que reuniu uma amostra composta por 34 gatos com diagnóstico histológico e fenotípico de linfoma, realizado no período compreendido entre 2013 e 2019.

A população-alvo inicial era composta por gatos seguidos no HEV. Contudo, de forma a aumentar o tamanho da amostra, foram também incluídos casos referenciados por diversos Centros de Atendimento Médico Veterinário (CAMV). Esta estratégia foi viabilizada com a colaboração do laboratório VetPat, responsável pela recolha da maioria das análises histopatológicas requeridas. Após o primeiro contacto, a análise das informações, tais como sexo, raça, idade, e o estatuto sanitário para FeLV/FIV dos animais foi efetuada pela autora.

A amostra investigada foi dividida em dois grupos: o Grupo Infetado (GI), constituído por gatos com linfoma e infeção retroviral (FIV, FeLV ou ambos); o Grupo Não Infetado (GNI), constituído por gatos com linfoma, mas sem infeção retroviral; sendo que ambos os grupos integraram gatos de qualquer idade, raça e sexo.

Não dispomos de informação relativa ao método de diagnóstico da infeção retroviral, mas é possível que a grande maioria corresponda a testes rápidos de imunocromatografia ou a ELISA.

2.2. Critérios de Exclusão

Foram excluídos os gatos com estatuto retroviral desconhecido.

Foram excluídos os gatos com diagnóstico de linfoma apenas citológico, com base na premissa de que a histopatologia fornece mais informação, como a estrutura/organização dos tecidos, invasão destes por células neoplásicas e anomalias na sua arquitetura.

Foram excluídos os gatos que, apesar do diagnóstico histológico de linfoma, não efetuaram imunofenotipagem das células tumorais.

2.3. Classificação dos Linfomas

As análises histopatológicas requeridas pelos diversos CAMV foram efetuadas pelo Laboratório VetPat; as análises dos casos seguidos no HEV foram efetuadas no Laboratório de Anatomia Patológica da FMV-ULisboa (LAPFMVULisboa). As análises imunofenotípicas foram todas efetuadas pelo LAPFMVULisboa, com a utilização de diversos marcadores, nomeadamente o CD3 na marcação de linfócitos T, e o CD79 α , Pax-5 ou CD20 para linfócitos B.

A classificação histológica em graus, segundo o esquema NCI-WF, foi efetuada com base na informação dos relatórios histopatológicos, tal como o índice mitótico, organização tecidual, tamanho e características celulares.

A classificação histológica segundo a OMS, apesar de pouco utilizada na espécie felina (Wolfesberger et al. 2016), foi efetuada neste estudo com o intuito de compreender a sua distribuição numa amostra de animais. Para que esta classificação seja o mais correta possível, na imunohistoquímica deveriam ser utilizados diversos marcadores, de forma a identificar com precisão que tipo de linfócito é responsável pelo desenvolvimento tumoral. Contudo, para o diagnóstico fenotípico rotineiro na prática clínica, apenas dois marcadores são o suficiente para distinguir o linfoma T e B. Assim, sendo este um estudo retrospectivo, a classificação teve apenas como base dois marcadores por análise, o que nem sempre permitiu uma correta correlação com as categorias da OMS. Desta forma, foi introduzida, neste estudo, a categoria “Sem Classificação”. Devido a estas limitações, a classificação foi realizada com o auxílio dos patologistas dos laboratórios mencionados, o que mitiga vieses no diagnóstico e na descrição das amostras de tecido analisadas.

2.4. Análise Estatística

A análise estatística foi efetuada através dos programas R® versão 3.6.3 com a extensão *R commander* (Rcmdr) e SPSS®. Foi realizada uma análise estatística descritiva das diferentes variáveis, com obtenção de médias, desvio-padrão, mínimos e máximos para a variável quantitativa “Idade”, e frequências relativas e absolutas para as restantes variáveis.

Como as variáveis analisadas são, na sua maioria, qualitativas, foram construídas tabelas de contingência para investigar associações estatísticas com recurso ao teste exato de *Fisher*. O facto de a grande maioria das células apresentarem valores inferiores a 5 impossibilitou a realização do teste de qui-quadrado (χ^2). Neste estudo, apenas foram considerados significativos valores de p inferiores a 0,05 ($p < 0,05$). Nas situações em que o valor de p foi significativo, em tabelas de contingência com mais de duas linhas, foi efetuada uma comparação das proporções, com correção de *Bonferroni*.

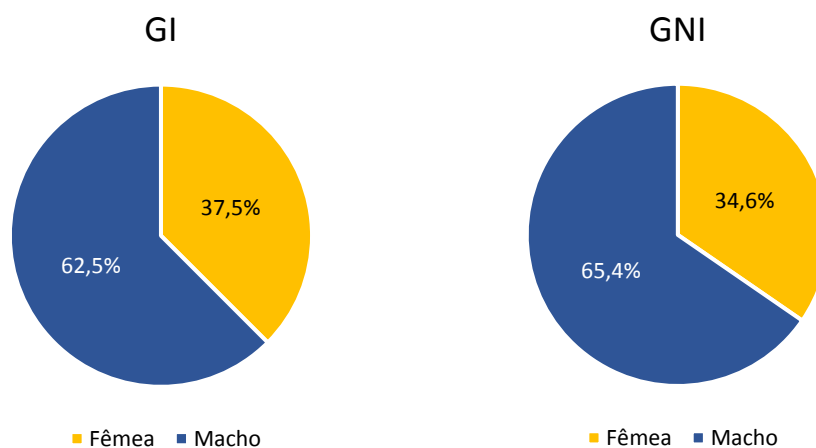
3. Resultados

3.1. Caracterização da Amostra

O Grupo Infetado (GI) foi constituído por 8 gatos: 3 fêmeas (3/8; FR=37,5%); 5 machos (5/8; FR=62,5%) (Gráfico 1). A grande maioria dos gatos foram de raça indeterminada (6/8; FR=75%), sendo que apenas 25% (2/8) era da raça Siamês.

O Grupo Não Infetado (GNI) foi constituído por 26 gatos; 9 fêmeas (9/26; FR=34,6%); 17 machos (17/26; FR=65,4%) (Gráfico 1). A maior parte dos gatos neste grupo foram de raça indeterminada (24/26; FR=92,3%). Dois pertenciam a outras: 1 Persa (1/26; FR=3,85%); 1 Abissínio (1/26; FR=3,85%).

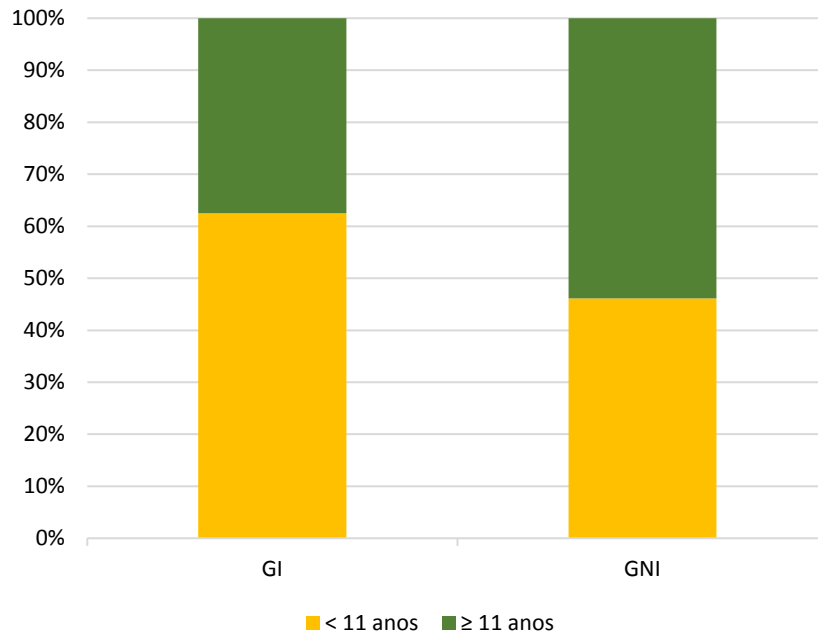
Gráfico 1: Frequência relativa do sexo no GI e GNI.



Não foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre ausência ou presença de infecção por retrovírus e o género dos animais ($p=1$).

Segundo a OMS, a partir dos 60/65 anos de idade os humanos entram na faixa etária “idoso” (Kowal and Peachey 2001). Utilizando as *guidelines* de Vogt et al. (2010) (Anexo 6) juntamente com a definição anterior, considerou-se que um gato que atinja os 11 anos de idade entra na mesma faixa etária (“idoso”), na qual o risco de desenvolvimento tumoral é maior. Nesta lógica, os animais foram divididos em gatos cuja idade ao diagnóstico de linfoma foi inferior a 11 anos, e em gatos cuja idade foi igual ou superior a 11 anos. No GI, 5 gatos apresentaram <11 anos ao diagnóstico (5/8; FR=62,5%), enquanto 3 gatos apresentaram idade ≥ 11 anos (3/8; FR=37,5%) (Gráfico 2). A média de idades ao diagnóstico foi de $8,9 \pm 4,3$ anos, sendo 2 anos a idade mínima e 15 anos a idade máxima. No GNI, 12 gatos apresentaram, ao diagnóstico, idade inferior a 11 anos (12/26; FR=46,2%), enquanto 14 gatos apresentaram idade igual ou superior a 11 anos (14/26; FR=53,8%) (Gráfico 2). A média de idades ao diagnóstico foi de $10,3 \pm 3,7$ anos, sendo a mínima 2 anos e a máxima 17 anos.

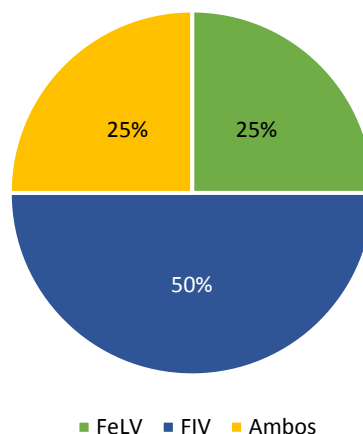
Gráfico 2: Distribuição das idades ao diagnóstico no GI e GNI.



Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas da média de idades ao diagnóstico entre os dois grupos ($p=0,43$), nem da infecção por retrovírus e a idade ao diagnóstico ($p=0,69$).

No GI, 4 gatos apresentaram infecção pelo FIV (4/8; FR=50%), 2 pelo FeLV (2/8; FR=25%), e 2 por ambos os vírus (2/8; FR=25%) (Gráfico 3). Não foram encontradas evidências de associação estatisticamente significativa entre os subgrupos (infecção por FeLV, FIV ou ambos os vírus) e a idade ao diagnóstico ($p=0,71$); a raça ($p=1$) ou o sexo dos animais ($p=0,29$).

Gráfico 3: Frequência relativa da infecção por FIV e/ou FeLV no grupo GI.



3.2. Classificação Fenotípica

No GI, 25% dos gatos (2/8) desenvolveram linfoma de células T e 75% (6/8) linfoma de células B. No GNI, 61,5% dos gatos (16/26) desenvolveram linfoma de células T e 38,5% (10/26) linfoma de células B (Tabela 1).

No GI, dos 2 gatos que desenvolveram linfoma de células T, 1 tinha infecção pelo FeLV (1/2; FR=50%), e o outro tinha infecção pelo FIV (1/2; FR=50%). Dos 6 gatos que desenvolveram linfoma de células B, 3 apresentavam infecção pelo FIV (3/6; FR=50%), 2 tinham infecção por ambos os vírus (2/6; FR=33,3%), e 1 tinha infecção pelo FeLV (1/6; FR=16,7%).

Não foi encontrada evidência estatisticamente significativa que permita estabelecer uma associação entre a presença ou ausência de infecção por retrovírus e o fenótipo do linfoma ($p>0,05$) (Tabela 1).

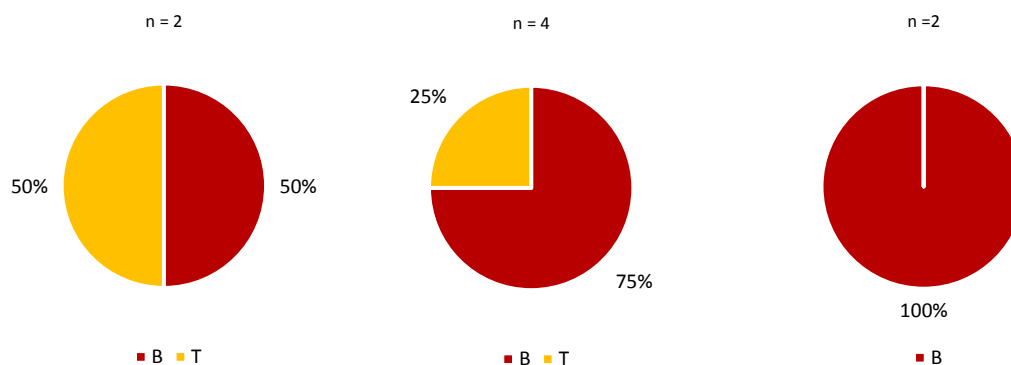
Tabela 1: Distribuição do fenótipo dos linfomas por grupo investigado.

Fenótipo	Grupo		
	GI (n=8)	GNI (n=26)	
B	75% (n=6)	38,5% (n=10)	$p=0,11$
T	25% (n=2)	61,5% (n=16)	
Total	100%	100%	

Legenda: o valor de p não foi significativo ($p>0,05$).

Nos subgrupos do GI, não foram encontradas evidências estatisticamente significativas de associação entre a infecção pelos diversos retrovírus e o fenótipo do linfoma resultante ($p=1$) (Gráfico 4).

Gráfico 4: Frequência relativa do fenótipo dos linfomas nos subgrupos de gatos infetados por retrovírus.



Legenda: o valor de p não foi significativo ($p>0,05$).

3.3. Classificação segundo a Localização Anatômica

No GI, 2 gatos desenvolveram linfoma na forma gastrointestinal (2/8; FR=25%), com envolvimento do intestino em 100% dos casos (2/2) e dos linfonodos em 50% dos casos (1/2). Destes gatos, 1 apresentava infecção pelo FeLV (1/2; FR=50%) e o outro apresentava infecção pelo FIV (1/2; FR=50%). Três gatos desenvolveram linfoma extranodal (3/8; FR=37,5%), cada gato apresentando uma localização distinta. Um gato que desenvolveu linfoma na zona da maxila estava infetado com ambos os vírus (1/3; FR=33,3%); um gato desenvolveu linfoma na orofaringe (1/3; FR=33,3%) e outro gato que desenvolveu linfoma na cavidade nasal (1/3; FR=33,3%) estavam ambos infetados com FIV. Dois gatos desenvolveram linfoma nodal (2/8; FR=25%), sendo que um estava infetado pelo FeLV (1/2; FR=50%) e o outro apresentava infecção por ambos os vírus (1/2; FR=50%). Num gato infetado pelo FIV não foi possível estabelecer uma correta localização anatômica (1/8; FR=12,5%).

No GNI, 19 gatos desenvolveram linfoma gastrointestinal (19/26; FR=73,1%), com envolvimento do intestino em 89,5% (17/19), envolvimento dos linfonodos mesentéricos em 78,9% (15/19), envolvimento do estômago em 10,5% (2/19) e envolvimento de outros órgãos em 5,3% (1/19), nomeadamente do fígado. A localização foi extranodal em 4 animais (4/26; FR=15,4%), sendo que cada gato desenvolveu linfoma em localizações distintas, nomeadamente na mucosa oral (1/4; FR=25%), no rim (1/4; FR=25%), na pele (1/4; FR=25%) e no globo ocular (1/4; FR=25%). Três gatos desenvolveram linfoma nodal (3/26; FR=11,5%).

A distribuição dos grupos por localização anatômica está reunida na Tabela 2.

Tabela 2: Localização anatômica dos linfomas por grupo investigado.

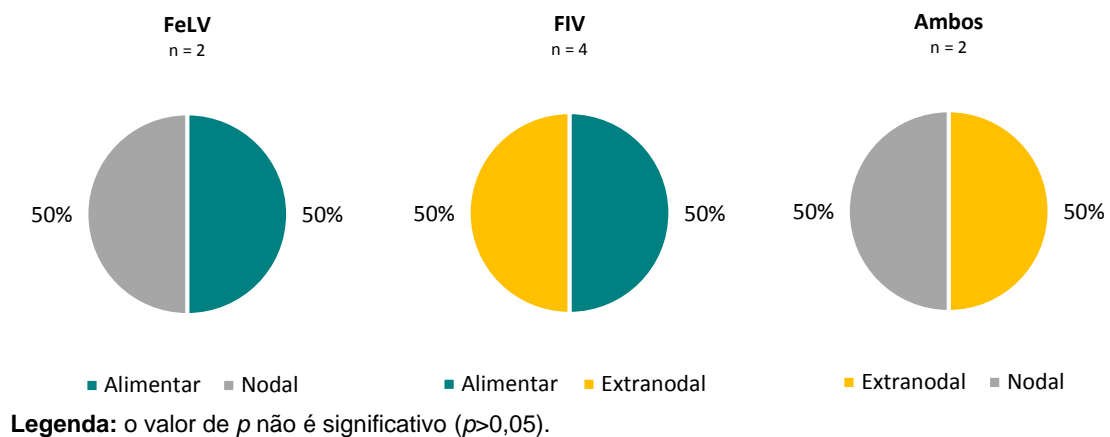
Localização Anatômica	Grupo		
	GI (n=8)	GNI (n=26)	
Gastrointestinal	25% (n=2)	73,1% (n=19)	p=0,034*
Extranodal	37,5% (n=3)	15,4% (n=4)	
Nodal	25% (n=2)	11,5% (n=3)	
Sem Classificação	12,5% (n=1)	0% (n=0)	
Total	100%	100%	

Legenda: *O valor de p é significativo ($p < 0,05$).

No GNI evidenciou-se uma associação estatisticamente significativa entre a ausência de infecção por retrovírus e a localização anatômica do linfoma ($p=0,034$), sendo esta relação referente à ausência de infecção retroviral e o linfoma gastrointestinal ($p=0,03$).

Nos subgrupos do GI não foram encontradas evidências estatisticamente significativas de associação entre a localização anatômica do linfoma e a infecção individual por FIV, FeLV nem em contexto de co-infecção ($p=0,57$) (Gráfico 5).

Gráfico 5: Frequência relativa da localização anatômica dos linfomas nos subgrupos de gatos infectados por retrovírus.



3.4. Classificação da NCI-WF (graus)

No GI, 3 gatos desenvolveram linfoma de baixo grau (3/8; FR=37,5%), 4 linfoma de alto grau (4/8; FR=50%), e apenas 1 desenvolveu linfoma de grau intermédio (1/8; FR=12,5%) (Tabela 3). Dos gatos que desenvolveram linfoma de baixo grau, 2 apresentavam infecção pelo FIV (2/3; FR=66,7%) e 1 apresentava infecção pelo FeLV (1/3; FR=33,3%). Dos gatos que desenvolveram linfoma de alto grau, 2 apresentavam infecção por ambos os vírus (2/4; FR=50%), 1 apresentava infecção pelo FeLV (1/4; FR=25%) e 1 infecção pelo FIV (1/4; FR=25%). O gato que desenvolveu linfoma de grau intermédio estava infectado com FIV.

No GNI, 18 gatos desenvolveram linfoma de baixo grau (18/26; FR=69,2%), 6 gatos desenvolveram linfoma de alto grau (6/26; FR=23,1%) e 2 gatos desenvolveram linfoma de grau intermédio (2/26; FR=7,7%) (Tabela 3).

Não se evidenciou associação estatisticamente significativa entre a infecção por retrovírus e o grau do linfoma ($p > 0,05$).

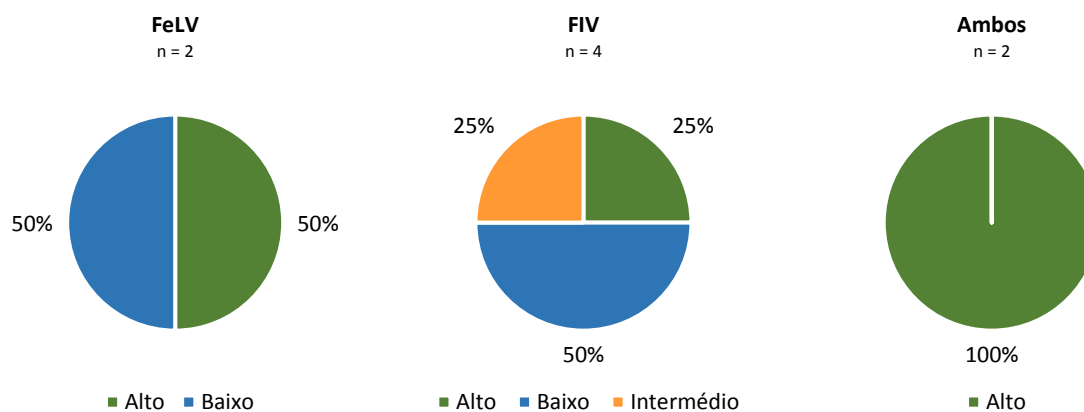
Tabela 3: Classificação de NCI-WF dos linfomas por grupo investigado.

Classificação NCI-WF	Grupo		
	GI (n=8)	GNI (n=26)	
Alto	50% (n=4)	23,1% (n=6)	p=0.24
Baixo	37,5% (n=3)	69,2% (n=18)	
Intermédio	12,5% (n=1)	7,7% (n=2)	
Total	100%	100%	

Legenda: o valor de p não é significativo ($p>0,05$).

Nos subgrupos do GI, não foram encontradas evidências estatisticamente significativas de associação entre o grau do linfoma resultante e a infecção individual por FIV, FeLV nem em contexto de co-infecção ($p=0,83$) (Gráfico 6).

Gráfico 6: Frequência relativa do grau dos linfomas (NCI-WF) nos subgrupos de gatos infectados por retrovírus.



Legenda: o valor de p não é significativo ($p>0,05$).

Foi identificada uma associação estatisticamente significativa entre a classificação segundo graus e o fenótipo do linfoma ($p=0,014$) (Tabela 4), na qual o fenótipo T está associado ao desenvolvimento de linfomas de baixo grau ($p=0,01$).

Tabela 4: Classificação de NCI-WF por fenótipo dos linfomas.

Classificação NCI-WF	Fenótipo	
	B (n=16)	T (n=18)
Alto	43,75% (n=7)	16,70% (n=3)
Baixo	37,50% (n=6)	83,30% (n=15)
Intermédio	18,75% (n=3)	0% (n=0)
Total	100%	100%

Legenda: o valor de p é significativo ($p < 0,05$).

3.5. Classificação da OMS

No GI, 3 gatos desenvolveram Linfoma Difuso de Grandes Células B (3/8; FR=37,5%), 1 gato desenvolveu Linfoma B Linfocítico de Tipo Intermédio (1/8; FR=12,5%), 1 gato desenvolveu Linfoma Intestinal de Células T (1/8; FR=12,5%), 1 gato desenvolveu Linfoma Linfoplasmocítico (1/8; FR=12,5%), 1 gato desenvolveu Linfoma T Periférico (1/8; FR=12,5%) e 1 gato desenvolveu um linfoma que não foi possível classificar (1/8; FR=12,5%) (Tabela 5).

No GNI, 14 gatos desenvolveram Linfoma Intestinal de Células T (14/26; FR=53,8%), 2 gatos desenvolveram Linfoma Linfoblástico de Células B (2/26; FR=7,7%), 2 gatos desenvolveram Linfoma Linfocítico de Pequenas Células B (2/26; FR=7,7%), 1 gato desenvolveu Linfoma Associado ao Tecido Linfóide das Mucosas (1/26; FR=3,8%), 1 gato desenvolveu Linfoma Difuso de Grandes Células B (1/26; FR=3,8%), 1 gato desenvolveu Linfoma Linfocítico de Pequenas Células T (1/26; FR=3,8%), 1 gato desenvolveu Linfoma T Periférico (1/26; FR=3,8%) e 4 gatos desenvolveram linfomas cuja classificação não foi possível (4/26; FR=15,8%) (Tabela 5).

Constatou-se uma associação estatisticamente significativa entre a infeção por retrovírus e o tipo de linfoma, de acordo com a classificação da OMS, nomeadamente entre o desenvolvimento de Linfoma Difuso de Grandes Células B e a infeção por retrovírus ($p=0,03$) e entre o desenvolvimento de Linfoma Intestinal de Células T e a ausência de infeção por retrovírus ($p=0,048$).

Tabela 5: Classificação dos linfomas, segundo o critério da OMS, por grupo investigado.

Classificação OMS	Grupo	
	GI (n=8)	GNI (n=26)
LAMALT	0% (n=0)	3,8% (n=1)
LBLTI	12,5% (n=1)	0% (n=0)
LDGCB	37,5% (n=3)	3,8% (n=1)
LICT	12,5% (n=1)	53,8% (n=14)
LLCB	0% (n=0)	7,7% (n=2)
LLP	12,5% (n=1)	0% (n=0)
LLPCB	0% (n=0)	7,7% (n=2)
LLPCT	0% (n=0)	3,8% (n=1)
LTP	12,5% (n=1)	3,8% (n=1)
SC	12,5% (n=1)	15,4% (n=4)
Total	100%	100%

$p=0,021^*$

Legenda: LAMALT, Linfoma Associado ao Tecido Linfóide das Mucosas; LBLTI, Linfoma B Linfocítico de Tipo Intermédio; LDGCB, Linfoma Difuso de Grandes Células B; LICIT, Linfoma Intestinal de Células T; LLCB, Linfoma Linfoblástico de Células B; LLP, Linfoma Linfoplasmocítico; LLPCB, Linfoma Linfocítico de Pequenas Células B; LLPCT, Linfoma Linfocítico de Pequenas Células T; LTP, Linfoma T Periférico; OMS, Organização Mundial de Saúde; SC, Sem Classificação.

*O valor de p é significativo ($p<0,05$).

Nos Anexos 7 e 8 disponibilizamos um resumo dos resultados dos dois grupos. Nos Anexos 9 e 10 estão compilados os resultados das análises de histopatologia e de imunohistoquímica dos casos de ambos os grupos.

4. Discussão

O linfoma felino está muito bem investigado e a sua associação epidemiológica aos retrovírus também. O FeLV e o FIV induzem respostas diferentes que se manifestam no fenótipo e no grau histológico do linfoma resultante (Louwerens et al. 2005; Barrs and Beatty 2012a; Meichner et al. 2012; Vail 2013).

Como a infeção pelos retrovírus tem um papel essencial na formação tumoral, seria uma hipótese que os gatos infetados desenvolvessem linfoma precocemente. A divisão etária em dois grupos teve como objetivo investigar essa hipótese. Contudo, talvez ainda mais importante do que a idade ao diagnóstico de linfoma, é a informação sobre a idade ao contágio por retrovírus, que permitiria compreender melhor o papel oncogénico dos retrovírus nestes casos. Infelizmente essa informação não estava disponível. Fizemos uma comparação entre os grupos e não foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa, contrariamente ao descrito por Vail et al. (1998) que detetaram uma diferença estatisticamente significativa para a idade ao diagnóstico entre grupos de gatos com (n=28) e sem infeção por FeLV (n=110). O facto deste estudo não ter investigado gatos com FIV pode ter acentuado esta associação e pode ser uma das razões para, no presente estudo, não termos encontrado uma associação estatisticamente significativa, uma vez que os gatos do GI que desenvolveram linfoma precocemente (aos 2 e 4 anos de idade) apresentavam infeção pelo FeLV, enquanto os 2 gatos que desenvolveram linfoma tardiamente (aos 13 e 15 anos de idade) apresentavam infeção pelo FIV. Mas o principal fator que contribuiu para a ausência de associação estatística entre os grupos quando investigada a variável Idade foi o reduzido tamanho da amostra do GI.

Não foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre o GI e o GNI relativamente ao sexo dos animais. Os dois grupos apresentaram uma proporção de cerca de 60% de machos. A frequência observada no GI pode ser justificada por comportamentos de risco mais frequentes nos machos, como escapadelas e luta. Contudo, o mesmo foi observado no GNI. A mesma proporção foi reportada nos estudos de Vail et al. (1998) e de Vezzali et al. (2010), onde cerca de 60% dos gatos com linfoma eram machos, sugerindo que o género possa ser um fator de predisposição para o desenvolvimento de linfoma na espécie.

Não encontramos associação estatisticamente significativa entre os grupos relativamente ao fenótipo dos linfomas, apesar de 75% dos gatos do GI terem desenvolvido linfoma B e 61,5% dos gatos do GNI terem desenvolvido linfoma T. Segundo a literatura, gatos com infeção pelo FeLV normalmente desenvolvem linfoma T, enquanto os gatos infetados pelo FIV tendem a desenvolver linfoma B (Callanan et al. 1996; Louwerens et al. 2005; Vail 2013). Contudo, neste estudo, o linfoma prevalente do GI foi o de células B, sendo que dos 6 gatos com este linfoma, 3 estavam infetados pelo FeLV (FR=50%), 2 em contexto de co-infeção e 1 em contexto de infeção individual. Ainda assim, dos 4 gatos com infeção individual

pelo FIV, 3 desenvolveram linfoma B (3/4; FR=75%). Este estudo reforça a relação entre a infecção pelo FIV e o desenvolvimento de linfoma B, mas não a relação entre a infecção por FeLV e o linfoma T. O desenvolvimento tumoral em gatos co-infetados dificulta a interpretação do papel de cada vírus no linfoma resultante.

Quanto à localização anatômica do linfoma, foi encontrada uma associação estatisticamente significativa entre o GNI e o linfoma gastrointestinal, tal como no estudo de Vezzali et al. (2010) em que cerca de 50% dos linfomas investigados se desenvolveram no trato gastrointestinal. Contudo, a infecção retroviral não foi considerada. O linfoma gastrointestinal é a localização anatômica mais frequente, comparativamente à “era do FeLV”, na qual os linfomas se desenvolviam majoritariamente na zona mediastínica ou nodal (Louwerens et al. 2005; Vail 2013). As causas do linfoma não relacionado com a infecção por retrovírus são alvo de muitos estudos, parecendo a inflamação intestinal crônica estar relacionada com o desenvolvimento do linfoma gastrointestinal (Louwerens et al. 2005; Vail 2013).

No GI não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre os dois vírus e a localização do linfoma. Gatos com infecção por FeLV têm tendência a desenvolver linfoma nodal ou mediastínico (Court et al. 1997; Vail et al. 1998; Louwerens et al. 2005), o que não foi observado neste estudo; gatos com infecção pelo FIV têm tendência a desenvolver linfomas extranodais (Gabor et al. 2001), o que se observou no presente estudo em 2 gatos com infecção pelo FIV e em 1 gato co-infetado com FeLV e FIV.

Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre os grupos relativamente à classificação em graus, consoante o esquema NCI-WF, apesar de diversos autores descreverem uma relação entre a infecção por retrovírus e os linfomas de alto grau (Valli et al. 2000; Hartmann 2012a; Meichner et al. 2012; Chino et al. 2013). Todavia, observou-se que 50% dos gatos do GI desenvolveram linfoma de alto grau e 69,2% dos gatos do GNI desenvolveram linfoma de baixo grau.

Também não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre o grau do linfoma e os diferentes retrovírus. Apesar de não se poder retirar muitas conclusões sobre esta distribuição, devido ao reduzido número de casos em cada grupo, constatámos que os gatos infetados pelo FIV desenvolveram mais linfoma de baixo grau, comparativamente ao grupo de gatos infetados pelo FeLV ou co-infetados com FeLV e FIV.

O fenótipo dos linfomas não parece ter valor prognóstico nesta espécie (Hayes 2006b). Contudo, no presente estudo foi encontrada uma associação estatisticamente significativa entre o fenótipo T e o baixo grau histológico. Os linfomas T desenvolveram-se majoritariamente no trato gastrointestinal e são quase na totalidade constituídos por células de pequenas dimensões, com um baixo índice mitótico, isto é, de baixo grau, o que se enquadra no descrito por Chino et al. (2013). Relativamente ao fenótipo B, cerca de 50% dos

linfomas deste fenótipo apresentaram grau histológico alto. Consideramos que devem ser realizados mais estudos neste âmbito, de modo a confirmar a existência, ou não, de valor prognóstico no estudo imunohistoquímico, em felinos.

Na classificação da OMS, foi encontrada uma associação estatisticamente significativa entre os grupos, nomeadamente entre o GI e o Linfoma Difuso de Grandes Células B (LDGCB), e entre o GNI e o Linfoma Intestinal de Células T (LICT). No estudo de Vezzali et al. (2010), o linfoma mais frequente foi o LICT, seguido do Linfoma T Periférico e do LDGCB, contudo o estatuto viral não foi investigado. No presente estudo, dos 21 casos de linfoma gastrointestinal, 16 foram de fenótipo T (76,2%) e destes cerca de 90% enquadraram-se na categoria LICT. Este linfoma é frequentemente descrito como um linfoma de baixo grau, e parece estar relacionado com a ausência de infeção retroviral. Suspeita-se de novo que a inflamação intestinal crónica possa estar na génese do desenvolvimento neoplásico nestes gatos. Já o LDGCB parece ser mais agressivo (alto grau) e está associado à infeção por retrovírus, sendo as localizações anatómicas nodal e extranodal as mais representadas. No estudo de Vezzali et al. (2010), este linfoma manifestou-se em cerca de 10% dos gatos investigados. Contudo a localização anatómica dos linfomas e o estatuto retroviral dos gatos são desconhecidos. A associação encontrada entre o LDGCB e o GI deve ser considerada com prudência pois o tamanho da amostra deste grupo é muito reduzido.

O presente estudo apresenta algumas limitações, sendo as principais a sua natureza retrospectiva e o reduzido tamanho da amostra investigada. Como referido anteriormente, para a determinação do fenótipo do linfoma, apenas dois marcadores são suficientes para identificar a população linfocitária dominante. Assim, foram utilizados dois marcadores por análise, um para os linfócitos T, outro para os linfócitos B. Este facto dificulta o enquadramento dos casos na grelha de classificação da OMS que exige mais marcadores, de forma a esclarecer qual o tipo de linfócito que originou a expansão celular, isto é, se são células precursoras ou células maduras. Por essa razão, as classificações efetuadas devem ser avaliadas com cautela.

Outro fator que condicionou a análise dos resultados foi o reduzido tamanho da amostra, essencialmente do GI. A reduzida frequência de gatos neste grupo deve-se à ausência de informação relativamente ao estatuto retroviral de muitos gatos que foram excluídos deste estudo. De facto, o estatuto retroviral é uma informação relevante na medicina de felinos, especialmente quando surge uma suspeita ou diagnóstico de linfoma. Outro fator que pode ter contribuído para esta situação é a população de gatos infetados com FeLV e/ou FIV ser cada vez menor, devido à testagem, vacinação e controlo das colónias, e que uma proporção destes gatos, eventualmente, não desenvolva linfoma, mas sim outras afeções, como infeções secundárias, neuropatias, entre outras. Por outro lado, pode ainda dever-se ao

reduzido número de animais com infecção retroviral que são submetidos a exames complementares, com o intuito de atingir o diagnóstico definitivo de linfoma. Este cenário pode ter diversas razões, sendo uma delas a questão socioeconómica dos tutores, que nem sempre permite a realização de um estudo aprofundado da afeção em causa (Machado 2016), ou a falta de informação relativa aos retrovírus por parte dos tutores, levando-os a assumir que se trata de uma infecção letal e a considerarem a eutanásia ao invés do diagnóstico e tratamento do seu gato. No estudo efetuado por Machado (2016), cerca de 26,5% (n=30) dos gatos hospitalizados na UIDI tinham infecção pelo FeLV, 18,6% (n=21) tinham infecção pelo FIV e 5,3% (n=6) tinham co-infecção, sendo que a taxa de sobrevivência se encontrou entre 66-72% para os animais com infecção pelo FeLV ou pelo FIV, excluindo os gatos co-infetados. Assim, é também possível que muitos gatos com infecção retroviral sejam hospitalizados por se encontrarem num estágio avançado da infecção, e que, apesar de apresentarem sintomatologia compatível com linfoma, o seu diagnóstico não seja prioritário.

Outro condicionalismo foi a falta de dados sobre a idade do animal aquando da infecção pelos retrovírus, bem como da ausência de registo dos resultados de análises efetuadas em clínica (testes rápidos). O registo da história clínica do animal, bem como de todos os procedimentos/exames efetuados em consulta é extremamente importante, mas que por vezes não acontece. Assim, é recomendado que todos os exames e respetivos resultados sejam registados na ficha clínica do animal. É também importante que o tutor tenha na sua posse essa informação, ou em formato papel (por exemplo, um relatório) ou registado no boletim de vacinas. A existência de informação relativa à presença de provírus nos linfomas avaliados teria sido uma mais valia, não só para compreender a dinâmica do desenvolvimento dos linfomas em gatos co-infetados, mas também para identificar linfomas associados a infecção retroviral em animais negativos em testes imunocromatográficos ou ELISA. Esta última limitação desempenha um papel significativo na associação entre os vírus e a neoplasia, ainda que não seja uma análise frequentemente realizada na prática clínica.

5. Conclusão

Apesar da capacidade carcinogénica dos retrovírus estar bem documentada, e existirem diversos estudos centrados nestes animais (Callanan et al. 1996; Vail et al. 1998), alguns englobam gatos infetados por retrovírus e gatos não infetados num único grupo (Chino et al. 2013) e muitos omitem informação relativa ao estatuto retroviral dos gatos investigados (Gabor et al. 1999; Louwerens et al. 2005; Pohlman et al. 2009; Vezzali et al. 2010). Para contribuir para colmatar este défice de conhecimento, este estudo teve como objetivo comparar as características do linfoma resultante entre gatos com e sem infeção retroviral.

Constatámos que gatos sem infeção por retrovírus desenvolvem sobretudo linfomas no trato gastrointestinal, tendo sido esta a localização anatómica mais frequente neste estudo. Todavia, não foi possível relacionar a infeção por retrovírus com o grau histológico, a localização anatómica nem o fenótipo do linfoma, mas identificou-se uma associação estatisticamente significativa entre a infeção pelos retrovírus e o desenvolvimento de Linfoma Difuso de Grandes Células B quando aplicámos a classificação de linfoma da OMS.

O linfoma predominante foi o gastrointestinal, de fenótipo T, baixo grau, não associado aos retrovírus e que, segundo o esquema da OMS, se classifica em Linfoma Intestinal de Células T. É possível que, com o aumento do controlo dos gatos infetados, surjam e sejam reconhecidas novas etiologias que possam promover o desenvolvimento tumoral, como a inflamação intestinal crónica.

Foi também detetada uma associação estatisticamente significativa entre o fenótipo T e o grau histológico baixo de linfoma. Este resultado pode não espelhar a realidade na população felina devido ao grande número de gatos com linfoma gastrointestinal, envolvendo o intestino delgado, que normalmente apresenta um baixo grau histológico e fenótipo T, investigados neste trabalho. Apesar de ainda não ter sido encontrada uma relação entre o fenótipo e o seu valor prognóstico, são necessários mais estudos com inclusão de gatos com desenvolvimento tumoral noutras localizações anatómicas e informação detalhada e rigorosa do desenvolvimento clínico da neoplasia, de forma a esclarecer o valor prognóstico do estudo imunohistoquímico nesta espécie animal.

Não foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre o sexo dos gatos e a presença ou ausência de infeção retroviral. Todavia, constatámos que a proporção de machos (cerca de 65%) com linfoma foi semelhante à de outros estudos. São necessários mais estudos para compreender se o sexo do animal é considerado um fator de predisposição para o desenvolvimento de linfoma.

O tamanho reduzido da amostra de gatos do GI condicionou muito os resultados da investigação. Uma maior amostra aumentaria a probabilidade de identificação de padrões específicos das diversas características dos linfomas, bem como de aferir o papel de cada vírus, individualmente, e em co-infeção. Futuras investigações devem tentar incluir mais

gatos, com e sem infecção retroviral, e eventualmente incluir a identificação de provírus na neoplasia resultante.

IV – Bibliografia

- Avery AC. 2012. Molecular diagnostics of hematologic malignancies in small animals. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 42(1):97–110. doi:10.1016/j.cvsm.2011.11.001. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.11.001>.
- Avery AC, Olver C, Khanna C, Paoloni MC. 2013. Molecular Diagnostics. In: Withrow S, editor. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 5th ed. Missouri: Saunders, Elsevier. p. 131–141.
- Barrs V, Beatty J. 2012a. Feline alimentary lymphoma: 1. Classification, risk factors, clinical signs and non-invasive diagnostics. *J Feline Med Surg.* 14(3):182–190. doi:10.1177/1098612X12439265.
- Barrs V, Beatty J. 2012b. Feline alimentary lymphoma: 2. Further diagnostics, therapy and prognosis. *J Feline Med Surg.* 14(3):191–201. doi:10.1177/1098612X12439266.
- Beatty J, Terry A, Macdonald J, Gault E, Cevario S, Brien SJO, Cameron E, Neil JC. 2002. Feline immunodeficiency virus integration in B-cell lymphoma identifies a candidate tumor suppressor gene on human chromosome 15q15. *Cancer Res.* 62(24):7175–7180.
- Beatty JA. 2017. Feline Immunodeficiency Virus Infection. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 8th ed. Missouri: Elsevier. p. 971–983.
- Beatty JA, Lawrence CE, Callanan JJ, Grant CK. 1998. Feline immunodeficiency virus (FIV)-associated lymphoma: a potential role for immune dysfunction in tumourigenesis. *Vet Immunol Immunopathol.* 65(2–4):309–322. doi:10.1016/s0165-2427(98)00164-0.
- Beatty JA, Troyer RM, Carver S, Barrs VR, Espinasse F, Conradi O, Stutzman-rodriguez K, Chan CC, Tasker S, Lappin MR, et al. 2014. *Felis catus* gammaherpesvirus 1 ; a widely endemic potential pathogen of domestic cats. *Virology.* 460–461:100–107. doi:10.1016/j.virol.2014.05.007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2014.05.007>.
- Bertone ER, Snyder LA, Moore AS. 2002. Environmental tobacco smoke and risk of malignant lymphoma in pet cats. *Am J Epidemiol.* 156(3):268–273. doi:10.1093/aje/kwf044.
- Brenn SH, Couto SS, Craft DM, Leung C, Bergman PJ. 2008. Evaluation of P-glycoprotein expression in feline lymphoma and correlation with clinical outcome. *Vet Comp Oncol.* 6(3):201–211. doi:10.1111/j.1476-5829.2008.00161.x.
- Bridgeford EC, Marini RP, Feng Y, Parry NMA, Rickman B, Fox JG. 2008. Gastric *Helicobacter* species as a cause of feline gastric lymphoma: a viable hypothesis. *Vet Immunol Immunopathol.* 123(1–2):106–113. doi:10.1016/j.vetimm.2008.01.016.
- Briscoe KA, Krockenberger M, Beatty JA, Crowley A, Dennis MM, Canfield PJ, Dhand N, Lingard AE, Barrs VR. 2011. Histopathological and Immunohistochemical Evaluation of 53 Cases of Feline Lymphoplasmacytic Enteritis and Low-Grade Alimentary

- Lymphoma. *J Comp Pathol.* 145(2–3):187–198. doi:10.1016/j.jcpa.2010.12.011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2010.12.011>.
- Burnett RC, Vernau W, Modiano JF, Olver CS, Moore PF, Avery AC. 2003. Diagnosis of canine lymphoid neoplasia using clonal rearrangements of antigen receptor genes. *Vet Pathol.* 40(1):32–41. doi:10.1354/vp.40-1-32.
- Busslinger M. 2004. Transcriptional control of early B cell development. *Annu Rev Immunol.* 22(1):55–79. doi:10.1146/annurev.immunol.22.012703.104807.
- Cadile CD, Kitchell BE, Biller BJ, Hetler ER, Balkin RG. 2001. Telomerase activity as a marker for malignancy in feline tissues. *Am J Vet Res.* 62(10):1578–1581. doi:10.2460/ajvr.2001.62.1578.
- Callanan JJ, Jones BA, Irvine J, Willett BJ, Mccandlish IAP, Jarrett O. 1996. Histologic classification and immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. *Vet Pathol.* 33(3):264–272. doi:10.1177/030098589603300302.
- Callanan JJ, Racz P, Thompson H, Jarrett O. 1993. Morphologic Characterization of the Lymph Node Changes in Feline Immunodeficiency Virus Infection as an Animal Model of AIDS1. *Anim Model HIV Other Retroviral Infect.:*115–136. doi:10.1159/000422218.
- Cattori V, Tandon R, Riond B, Pepin AC, Lutz H, Hofmann-lehmann R. 2009. The kinetics of feline leukaemia virus shedding in experimentally infected cats are associated with infection outcome. *Vet Microbiol.* 133(3):292–296. doi:10.1016/j.vetmic.2008.07.001.
- Chino J, Fujino Y, Kobayashi T, Kariya K, Goto-Koshino Y, Ohno K, Nakayama H, Tsujimoto H. 2013. Cytomorphological and immunological classification of feline lymphomas: Clinicopathological features of 76 cases. *J Vet Med Sci.* 75(6):701–707. doi:10.1292/jvms.12-0246.
- Chu PG, Arber DA. 2001. CD79: A review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 9(2):97–106. doi:10.1097/00022744-200106000-00001.
- Chu PG, Loera S, Huang Q, Weiss LM. 2006. Lineage determination of CD20- B-cell neoplasms: An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol.* 126(4):534–544. doi:10.1309/3WVG32YRAMQ7RB9D4.
- Chung EY, Psathas JN, Yu D, Li Y, Weiss MJ, Thomas-Tikhonenko A. 2012. CD19 is a major B cell receptor-independent activator of MYC-driven B-lymphomagenesis. *J Clin Invest.* 122(6):2257–2266. doi:10.1172/JCI45851.
- Cobaleda C, Schebesta A, Delogu A, Busslinger M. 2007. Pax5: The guardian of B cell identity and function. *Nat Immunol.* 8(5):463–470. doi:10.1038/ni1454.
- Court EA, Watson ADJ, Peaston AE. 1997. Retrospective study of 60 cases of feline lymphosarcoma. *Aust Vet J.* 75(6):424–427. doi:10.1111/j.1751-0813.1997.tb14347.x.

- Daniaux LA, Laurenson MP, Marks SL, Moore PF, Taylor SL, Chen RX, Zwingenberger AL. 2014. Ultrasonographic thickening of the muscularis propria in feline small intestinal small cell T-cell lymphoma and inflammatory bowel disease. *J Feline Med Surg.* 16(2):89–98. doi:10.1177/1098612X13498596.
- Feldman AL, Law ME, Inwards DJ, Dogan A, McClure RF, MacOn WR. 2010. PAX5-positive T-cell anaplastic large cell lymphomas associated with extra copies of the PAX5 gene locus. *Mod Pathol.* 23(4):593–602. doi:10.1038/modpathol.2010.4.
- Felisberto R, Matos J, Alves M, Cabeçadas J, Henriques J. 2017. Evaluation of Pax5 expression and comparison with BLA.36 and CD79 α cy in feline non-Hodgkin lymphoma. *Vet Comp Oncol.* 15(4):1257–1268. doi:10.1111/vco.12262.
- Felisberto RO. 2013. Caracterização e Classificação de 45 casos de Linfoma não-Hodgkin do gato de acordo com o esquema da Organização Mundial de Saúde (OMS). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Fontaine J, Heimann M, Day MJ. 2011. Cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma in the cat: A review of the literature and five new cases. *Vet Dermatol.* 22(5):454–461. doi:10.1111/j.1365-3164.2011.00972.x.
- Fox JG, Wang TC, Parsonnet J. 2006. Helicobacter, Chronic Inflammation, and Cancer.
- Friedrichs KR, Young KM. 2013. Diagnostic Cytopathology in Clinical Oncology. In: Withrow S, editor. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology: Fifth Edition.* 4th ed. Missouri: Saunders, Elsevier. p. 111–130.
- Fujino Y, Liao C, Shi Y, Pan J, Mathes LE, Hayes KA, Ohno K, Tsujimoto H, Roy-burman P. 2009. Identification of a novel common proviral integration site , flit- 1 , in feline leukemia virus induced thymic lymphoma. *Virology.* 386(1):16–22. doi:10.1016/j.virol.2009.01.021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2009.01.021>.
- Fujino Y, Ohno K, Tsujimoto H. 2008. Molecular pathogenesis of feline leukemia virus-induced malignancies: Insertional mutagenesis. *Vet Immunol Immunopathol.* 123(1–2):138–143. doi:10.1016/j.vetimm.2008.01.019.
- Gabor LJ, Canfield PJ, Malik R. 1999. Immunophenotypic and histological characterisation of 109 cases of feline lymphosarcoma. *Aust Vet J.* 77(7):436–441. doi:10.1111/j.1751-0813.1999.tb12085.x.
- Gabor LJ, Jackson ML, Trask B, Malik R, Canfield PJ. 2001. Feline leukaemia virus status of Australian cats with lymphosarcoma. *Aust Vet J.* 79(7):476–481. doi:10.1111/j.1751-0813.2001.tb13017.x.
- Ghosh AK, Bachmann MH, Hoover EA, Mullins JI. 1992. Identification of a putative receptor for subgroup A feline leukemia virus on feline T cells. *J Virol.* 66(6):3707–3714. doi:10.1128/jvi.66.6.3707-3714.1992.

- Gieger T. 2011. Alimentary Lymphoma in Cats and Dogs. *Vet Clin NA Small Anim Pract.* 41(2):419–432. doi:10.1016/j.cvsm.2011.02.001. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.02.001>.
- Gleich SE, Krieger S, Hartmann K. 2009. Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *J Feline Med Surg.* 11(12):985–992. doi:10.1016/j.jfms.2009.05.019.
- Gloghini A, Dolcetti R, Carbone A. 2013. Lymphomas occurring specifically in HIV-infected patients: From pathogenesis to pathology. *Semin Cancer Biol.* 23(6):457–467. doi:10.1016/j.semcancer.2013.08.004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2013.08.004>.
- Goto Y, Nishimura Y, Baba K, Mizuno T, Endo Y, Masuda K, Ohno K, Tsujimoto H. 2002. Association of Plasma Viral RNA Load with Prognosis in Cats Naturally Infected with Feline Immunodeficiency Virus. *J Virol.* 76(19):10079–10083. doi:10.1128/jvi.76.19.10079-10083.2002.
- Grover S. 2005. Gastrointestinal lymphoma in cats. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 27(10):741–751.
- Gustafson TL, Villamil A, Taylor BE, Flory A. 2014. A retrospective study of feline gastric lymphoma in 16 chemotherapy-treated cats. *J Am Anim Hosp Assoc.* 50(1):46–52. doi:10.5326/JAAHA-MS-5989.
- Haney SM, Beaver L, Turrel J, Clifford CA, Klein MK, Crawford S, Poulson JM, Azuma C. 2009. Survival analysis of 97 cats with nasal lymphoma: A multi-institutional retrospective study (1986-2006). *J Vet Intern Med.* 23(2):287–294. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0243.x.
- Hardy WD, Hirshaut Y, Hess P. 1973. Detection of the Feline Leukemia Virus and other Mammalian Oncornaviruses by Immunofluorescence. *Bibl Haematol.* 39:778–799. doi:10.1159/000427906.
- Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, Lister TA, Bloomfield CD. 1999. The World Health Organization Classification of Neoplasms of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting - Airlie House, Virginia, November 1997. *Ann Oncol.* 17(12):3835–3849. doi:10.1038/sj.thj.6200013.
- Hartmann K. 2012a. Clinical Aspects of Feline Retroviruses: A Review. *Viruses.* 4(11):2684–2710. doi:10.3390/v4112684.
- Hartmann K. 2012b. Feline Leukemia Virus Infection. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat.* 4th ed. Missouri: Saunders, Elsevier. p. 108–136.
- Hartmann K, Levy JK. 2017. Feline Leukemia Virus Infection. In: *Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, editors. Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 8th ed. Missouri: Elsevier. p. 2442–2455.

- Hayes A. 2006a. Feline lymphoma 2. Specific disease presentations. *In Pract.* 28(10):578–585. doi:10.1136/inpract.28.10.578. <http://inpractice.bmj.com/cgi/doi/10.1136/inpract.28.9.516>.
- Hayes A. 2006b. Feline lymphoma 1. Principles of diagnosis and management. *In Pract.* 28(9):516–524. doi:10.1136/inpract.28.9.516. <http://inpractice.bmj.com/cgi/doi/10.1136/inpract.28.9.516>.
- Hayward WS, Neel BG, Astrin SM. 1981. Activation of a cellular onc gene by promoter insertion in ALV-induced lymphoid leukosis. *Nature.* 290(5806):475–480. doi:10.1038/290475a0.
- Hirabayashi M, Chambers JK, Sugawara M, Ohmi A, Tsujimoto H, Nakayama H, Uchida K. 2019. Blastic natural killer cell lymphoma/leukaemia in a cat. *J Feline Med Surg Open Reports.* 5(2):1–8. doi:10.1177/2055116919863080.
- Hsu PI, Lai KH, Hsu PN, Lo GH, Yu HC, Chen WC, Tsay FW, Lin HC, Tseng HH, Ger LP, et al. 2007. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric malignancy. *Am J Gastroenterol.* 102(4):725–730. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.01109.x.
- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Isaacson PG. 2008. Classification of lymphoid neoplasms: The microscope as a tool for disease discovery. *Blood.* 112(12):4384–4399. doi:10.1182/blood-2008-07-077982.
- Jarrett WFH, Crawford EM, Martin WB, Davie F. 1964. A Virus-like Particle associated with Leukaemia (Lymphosarcoma). *Nat Publ Gr.* 202:567–569. doi:10.1038/202567a0.
- Kiselow MA, Rassnick KM, Mcdonough SP, Goldstein RE, Simpson KW, Weinkle TK, Erb HN. 2008. Outcome of cats with low-grade lymphocytic lymphoma: 41 cases (1995–2005). *JAVMA.* 232(3):405–410. doi:10.2460/javma.232.3.405.
- Kiupel M, Smedley RC, Pfent C, Xie Y, Xue Y, Wise AG, DeVaul JM, Maes RK. 2011. Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. *Vet Pathol.* 48(1):212–222. doi:10.1177/0300985810389479.
- Kowal P, Peachey K. 2001. Indicators for the Minimum Data Set Project on Ageing : A Critical Review in sub-Saharan Africa. Dar es Salaam, United Republic of Tanzania.
- Krick EL, Little L, Patel R, Shofer FS, Sorenmo K, Clifford CA, Baez JL. 2008. Description of clinical and pathological findings, treatment and outcome of feline large granular lymphocyte lymphoma (1996 – 2004). *Vet Comp Oncol.* 6(2):102–110. doi:10.1111/j.1476-5829.2007.00146.x.
- Kristal S, Ogilvie G, Rand W, Cotter S, Moore A. 2001. Single Agent Chemotherapy with Doxorubicin for Feline Lymphoma: A Retrospective Study of 19 Cases (1994–1997). *J Vet Intern Med.* 15(2):125–130. doi:0891-6640/01/1502-0007/\$3.00/0.
- Lee KY, Jeon SY, Hong JW, Kim YH, Song KH, Kim KH. 2011. CD20 positive T cell lymphoma involvement of skin. *Ann Dermatol.* 23(4):529–535. doi:10.5021/ad.2011.23.4.529.

- Levesque KS, Bonham L, Levy LS. 1990. Flvi-1, a Common Integration Domain of Feline Leukemia Virus in Naturally Occurring Lymphomas of a Particular Type. *J Virol.* 64(7):3455–3462. doi:10.1128/jvi.64.7.3455-3462.1990.
- Levy J, Crawford C, Hartmann K, Hofmann-Lehmann R, Little S, Sundahl E, Thayer V. 2008. 2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines. *J Feline Med Surg.* 10(3):300–316. doi:10.1016/j.jfms.2008.03.002.
- Lingard AE, Hons B, Medicine MF, Briscoe K, Hons B, Medicine MF, Hons JAB, Medicine FF, Bvsc ASM, Oncology D, et al. 2009. Low-grade alimentary lymphoma: clinicopathological findings and response to treatment in 17 cases. *J Feline Med Surg.* 11(8):692–700. doi:10.1016/j.jfms.2009.05.021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2009.05.021>.
- Little L, Patel R, Goldschmidt M. 2007. Nasal and nasopharyngeal lymphoma in cats: 50 Cases (1989-2005). *Vet Pathol.* 44(6):885–892. doi:10.1354/vp.44-6-885.
- Louwerens M, London CA, Pedersen NC, Lyons LA. 2005. Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. *J Vet Intern Med.* 19(3):329–335. doi:10.1892/0891-6640(2005)19[329:FLITPL]2.0.CO;2.
- Machado I. 2016. Frequência de doenças infecciosas em carnívoros domésticos hospitalizados na Unidade de Isolamento do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa de outubro de 2013 a janeiro de 2016. Universidade de Lisboa.
- Madewell BR, Gieger TL, Pesavento PA, Kent MS. 2004. Vaccine site-associated sarcoma and malignant lymphoma in cats: A report of six cases (1997-2002). *J Am Anim Hosp Assoc.* 40(1):47–50. doi:10.5326/0400047.
- Malik R, Gabor LJ, Foster SF, McCorkell BE, Canfield PJ. 2001. Therapy for Australian cats with lymphosarcoma. *Aust Vet J.* 79(12):808–817. doi:10.1111/j.1751-0813.2001.tb10923.x.
- Marioni-Henry K, Vite CH, Newton AL, Van Winkle TJ. 2004. Prevalence of diseases of the spinal cord of cats. *J Vet Intern Med.* 18(6):851–858. doi:10.1892/0891-6640(2004)18<851:PODOTS>2.0.CO;2.
- Marioni-henry K, Winkle TJ Van, Smith SH, Vite CH. 2008. Tumors affecting the spinal cord of cats: 85 cases (1980-2005). *JAVMA.* 232(2):237–243. doi:10.2460/javma.232.2.237.
- Matter MS, Schwarz E, Marafioti T, Schraml P, Moch H. 2012. Immunohistochemical detection of CD3 in tcell lymphomas: Superior sensitivity of rabbit monoclonal 2GV6 antibody compared to mouse monoclonal F7.2.38 antibody. *J Histotechnol.* 35(4):175–179. doi:10.1179/2046023612Y.0000000017.
- Meeker RB. 2007. Feline immunodeficiency virus neuropathogenesis: From cats to calcium. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2(2):154–170. doi:10.1007/s11481-006-9045-z.

- Meichner K, von Bomhard W. 2016. Patient characteristics, histopathological findings and outcome in 97 cats with extranodal subcutaneous lymphoma (2007-2011). *Vet Comp Oncol.* 14(Suppl. 1):8–20. doi:10.1111/vco.12081.
- Meichner K, Kruse BD, Hirschberger J, Hartmann K. 2012. Changes in prevalence of progressive feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma in Germany. *Vet Rec.* 171(14):348–353. doi:10.1136/vr.100813.
- Mikkers H, Berns A. 2003. Retroviral insertional mutagenesis: Tagging cancer pathways. *Adv Cancer Res.* 88:53–99. doi:10.1016/S0065-230X(03)88255-6.
- Milner R, Peyton J, Cooke K, Fox L, Gallagher A, Gordon P, Hester J. 2005. Response rates and survival times for cats with lymphoma treated with the University of Wisconsin-Madison chemotherapy protocol: 38 cases (1996-2003). *JAVMA.* 227(7):1118–1122. doi:10.2460/javma.2005.227.1118. http://link.springer.com/10.1007/978-94-007-5064-7_19.
- Moore AS, Cotter SM, Frimberger AE, Wood CA, Rand WM, L'Heureux DA. 1996. A comparison of doxorubicin and COP for maintenance of remission in cats with lymphoma. *J Vet Intern Med.* 10(6):372–375. doi:10.1111/j.1939-1676.1996.tb02083.x.
- Moore PF, Rodriguez-Bertos A, Kass PH. 2012. Feline Gastrointestinal Lymphoma: Mucosal Architecture, Immunophenotype, and Molecular Clonality. *Vet Pathol.* 49(4):658–668. doi:10.1177/0300985811404712.
- Morrison W. 2004. *Lymphoma in Dogs and Cats*. Teton NewMedia, editor. Wyoming.
- Murphy B. 2017. Retroviridae. In: Maclachlan NJ, Dubovi EJ, editors. *Fenner's Veterinary Virology*. 5th ed. Elsevier Inc. p. 269–297.
- Nasr MR, Rosenthal N, Syrbu S. 2010. Expression profiling of transcription factors in B-or T-acute lymphoblastic leukemia/lymphoma and burkitt lymphoma: Usefulness of PAX5 immunostaining as pan-pre-B-cell marker. *Am J Clin Pathol.* 133(1):41–48. doi:10.1309/AJCPYP00JNUFWCCY.
- Neil JC, Fulton R, Rigby M, Stewart M. 1991. Feline leukaemia virus: Generation of pathogenic and oncogenic variants. *Curr Top Microbiol Immunol.* 171:67–93. doi:10.1007/978-3-642-76524-7_4.
- Neil JC, Hughes D, McFarlane R, Wilkie NM, Onions DE, Lees G, Jarrett O. 1984. Transduction and rearrangement of the myc gene by feline leukaemia virus in naturally occurring T-cell leukaemias. *Nature.* 308(5962):814–820. doi:10.1038/308814a0.
- Nerschbach V, Eule JC, Eberle N, Höinghaus R, Betz D. 2016. Ocular manifestation of lymphoma in newly diagnosed cats. *Vet Comp Oncol.* 14(1):58–66. doi:10.1111/vco.12061.
- Obert LA, Hoover EA. 2000. Relationship of Lymphoid Lesions to Disease Course in Mucosal Feline Immunodeficiency Virus Type C Infection. *Vet Pathol.* 37(5):386–401. doi:10.1354/vp.37-5-386.

- Overbaugh J, Bangham CRM, Overbaugh J, Bangham CRM. 2001. Selection Forces and Constraints on Retroviral Sequence Variation. *Science* (80-). 292(5519):1106–1109. doi:10.1126/science.1059128.
- Pandey R, Bechtel MK, Su YUN, Ghosh AK, Hayes KA, Mathes LE, Roy-burman P. 1995. Feline Leukemia Virus Variants in Experimentally Induced Thymic Lymphosarcomas. *Virology*. 214(2):584–592. doi:10.1006/viro.1995.0069.
- Parodi AL. 2001. Classification of Malignant Lymphoma in Domestic Animals: History and Conceptual Evolution. *Eur J Vet Pathol*. 7(2):43–50.
- Pedersen NC, Ho EW, Brown ML, Yamamoto JK. 1987. Isolation of a T-Lymphotropic Virus from Domestic Cats with an Immunodeficiency-Like Syndrome. *Science* (80-). 235(4790):790–793. doi:10.1126/science.3643650.
- Pedersen NC, Leutenegger CM, Woo J, Higgins J. 2001. Virulence differences between two field isolates of feline immunodeficiency virus (FIV-Apetaluma and FIV-Cpgammar) in young adult specific pathogen free cats. *Vet Immunol Immunopathol*. 79(1–2):53–67. doi:10.1016/s0165-2427(01)00252-5.
- Pohlman LM, Higginbotham ML, Welles EG, Johnson CM. 2009. Immunophenotypic and histologic classification of 50 cases of feline gastrointestinal lymphoma. *Vet Pathol*. 46(2):259–268. doi:10.1354/vp.46-2-259.
- Ragaini L, Aste G, Cavicchioli L, Boari A. 2003. Inflammatory Bowel Disease Mimicking Alimentary Lymphosarcoma in a Cat. *Vet Res Commun*. 27(Suppl. 1):791–793. doi:10.1023/B:VERC.0000014273.80853.c1.
- Rissetto K, Villamil JA, Selting KA, Tyler J, Henry CJ. 2011. Recent trends in feline intestinal neoplasia: An epidemiologic study of 1,129 cases in the veterinary medical database from 1964 to 2004. *J Am Anim Hosp Assoc*. 47(1):28–36. doi:10.5326/JAAHA-MS-5554.
- Russell KJ, Beatty JA, Dhand N, Gunew M, Lingard AE, Baral RM, Barrs VR. 2012. Feline low-grade alimentary lymphoma: How common is it? *J Feline Med Surg*. 14(12):910–912. doi:10.1177/1098612X12454861.
- Schmidt JM, North SM, Freeman KP, Ramiro-Ibañez F. 2010. Feline paediatric oncology: Retrospective assessment of 233 tumours from cats up to one year (1993 to 2008). *J Small Anim Pract*. 51(6):306–311. doi:10.1111/j.1748-5827.2010.00915.x.
- Sellon RK, Hartmann K. 2012. Feline Immunodeficiency Virus Infection. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Vol. 939. 4th ed. Missouri: Saunders, Elsevier. p. 136–149.
- Seo K, Choi U, Bae B, Park M, Hwang C, Kim D, Youn H. 2006. Mediastinal lymphoma in a young Turkish Angora cat. *J Vet Sci*. 7(2):199–201. doi:10.4142/jvs.2006.7.2.199.
- Stützer B, Simon K, Lutz H, Majzoub M, Hermanns W, Hirschberger J, Sauter-Louis C, Hartmann K. 2011. Incidence of persistent viraemia and latent feline leukaemia virus

- infection in cats with lymphoma. *J Feline Med Surg.* 13(2):81–87. doi:10.1016/j.jfms.2010.09.015.
- Tams TR. 1993. Feline Inflammatory Bowel Disease. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 23(3):569–586. doi:10.1016/S0195-5616(93)50306-6.
- Taylor SS, Goodfellow MR, Browne WJ, Walding B, Murphy S, Tzannes S, Gerou-Ferriani M, Schwartz A, Dobson JM. 2009. Feline extranodal lymphoma: Response to chemotherapy and survival in 110 cats. *J Small Anim Pract.* 50(11):584–592. doi:10.1111/j.1748-5827.2009.00813.x.
- Taylor SS, Harvey AM, Barr FJ, Moore AH, Day MJ. 2009. Laryngeal disease in cats: a retrospective study of 35 cases. *J Feline Med Surg.* 11(12):954–962. doi:10.1016/j.jfms.2009.04.007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2009.04.007>.
- Teske E, Van Straten G, Van Noort R, Rutteman GR. 2002. Chemotherapy with cyclophosphamide, vincristine, and prednisolone (COP) in cats with malignant lymphoma: New results with an old protocol. *J Vet Intern Med.* 16(2):179–186. doi:10.1111/j.1939-1676.2002.tb02352.x.
- Thangapandiyam M, Nivethitha R, Balachandran C, Jeyaraja K, Sridhar R. 2018. Feline multicentric T cell (CD3+) lymphoblastic lymphoma. *Indian Vet J.* 95(2):76–77.
- Theo Cuypers H, Selten G, Quint W, Zijlstra M, Maandag ER, Boelens W, van Wezenbeek P, Melief C, Berns A. 1984. Murine leukemia virus-induced T-cell lymphomagenesis: Integration of proviruses in a distinct chromosomal region. *Cell.* 37(1):141–150. doi:10.1016/0092-8674(84)90309-X.
- Tomek A, Cizinauskas S, Doherr M, Gandini G, Jaggy A. 2006. Intracranial neoplasia in 61 cats: localisation, tumour types and seizure patterns. *J Feline Med Surg.* 8(4):243–253. doi:10.1016/j.jfms.2006.01.005.
- Troxel MT, Vite CH, Winkle TJ, Newton AL, Tiches D, Dayrell-Hart B, Kapatkin AS, Shofer FS, Steinberg SA. 2003. Feline Intracranial Neoplasia: Retrospective Review of 160 Cases (1985-2001). *J Vet Intern Med.* 17(6):850–859. doi:10.1111/j.1939-1676.2003.tb02525.x.
- Troyer RM, Beatty JA, Stutzman-Rodriguez KR, Carver S, Lozano CC, Lee JS, Lappin MR, Riley SPD, Serieys LEK, Logan KA, et al. 2014. Novel Gammaherpesviruses in North American Domestic Cats, Bobcats, and Pumas: Identification, Prevalence, and Risk Factors. *J Virol.* 88(8):3914–3924. doi:10.1128/jvi.03405-13.
- Tsatsanis C, Fulton R, Nishigaki K, Tsujimoto H, Levy L, Terry A, Spandidos D, Onions D, Neil JC. 1994. Genetic determinants of feline leukemia virus-induced lymphoid tumors: patterns of proviral insertion and gene rearrangement. *J Virol.* 68(12):8296–8303. doi:10.1128/jvi.68.12.8296-8303.1994.
- Turras MCCD. 2014. Estudo da prevalência de FIV/FelLV numa população de 88 gatos errantes da região metropolitana de Lisboa. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

- Twomey LN, Alleman AR. 2005. Cytodiagnosis of feline lymphoma. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 27(1):17–32.
- Vail DM. 2013. Feline Lymphoma and Leukemia. In: Withrow S, editor. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 5th ed. Missouri: Saunders, Elsevier. p. 638–650.
- Vail DM. 2017. Hematopoietic Tumors. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 8th ed. Missouri: Elsevier. p. 5000–5032.
- Vail DM, Moore AS, Ogilvie GK, Volk LM. 1998. Feline lymphoma (145 cases): proliferation indices, cluster of differentiation 3 immunoreactivity, and their association with prognosis in 90 cats. *J Vet Intern Med.* 12(5):349–354. doi:10.1111/j.1939-1676.1998.tb02134.x.
- Vail DM, Pinkerton ME, Young KM. 2013. Canine Lymphoma and Lymphoid Leukemias. In: Withrow S, editor. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 5th ed. Missouri: Saunders, Elsevier. p. 608–638.
- Valli VE, Jacobs RM, Norris A, Couto CG, Morrison WB, McCaw D, Cotter S, Ogilvie G, Moore A. 2000. The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute working formulation. *J Vet Diagnostic Investig.* 12(4):295–306. doi:10.1177/104063870001200401.
- Valli VE, Myint MS, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F, Durham A, Ehrhart EJ, Johnson Y, Jones C, et al. 2011. Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. *Vet Pathol.* 48(1):198–211. doi:10.1177/0300985810379428.
- Verbeek S, van Lohuizen M, van der Valk M, Domen J, Kraal G, Berns A. 1991. Mice bearing the E mu-myc and E mu-pim-1 transgenes develop pre-B-cell leukemia prenatally. *Mol Cell Biol.* 11(2):1176–1179. doi:10.1128/mcb.11.2.1176.
- Vezzali E, Parodi AL, Marcato PS, Bettini G. 2010. Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. *Vet Comp Oncol.* 8(1):38–49. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00201.x.
- Vogt AH, Rodan I, Brown M, Brown S, Buffington CAT, Forman MJL, Neilson J, Sparkes A. 2010. AAFP-AAHA Feline Life Stage Guidelines. *J Feline Med Surg.* 46:70–85. doi:10.1016/j.jfms.2009.12.006. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1016/j.jfms.2009.12.006>.
- Waite AHK, Jackson K, Gregor TP, Krick EL. 2013. Lymphoma in cats treated with a weekly cyclophosphamide-, vincristine-, and prednisone-based protocol: 114 cases (1998–2008). *J Am Vet Med Assoc.* 242(8):1104–1109. doi:10.2460/javma.242.8.1104.
- Walton RM, Hendrick MJ. 2001. Feline Hodgkin's-like Lymphoma: 20 Cases (1992–1999). *Vet Pathol.* 38(5):504–511. doi:10.1354/vp.38-5-504.

- Wang J, Kyaw-Tanner M, Lee C, Robinson WF. 2001. Characterisation of lymphosarcomas in Australian cats using polymerase chain reaction and immunohistochemical examination. *Aust Vet J.* 79(1):41–46. doi:10.1111/j.1751-0813.2001.tb10639.x.
- Wang Z, Bhattacharya N, Weaver M, Petersen K, Meyer M, Gapter L, Magnuson NS. 2001. Pim-1: a serine/threonine kinase with a role in cell survival, proliferation, differentiation and tumorigenesis. *J Vet Sci.* 2(3):167–179. doi:10.4142/jvs.2001.2.3.167.
- Wolfesberger B, Skor O, Hammer SE, Flickinger I, Kleiter M, Rütgen BC, Schwendenwein I, Tichy A, Hittmair KM, Degasperi B, et al. 2016. Does categorisation of lymphoma subtypes according to the World Health Organization classification predict clinical outcome in cats? *J Feline Med Surg.* 19(8):1–10. doi:10.1177/1098612X16666119.

V – Anexos

Anexo 1: Classificação Histológica de Linfoma – “Working Formulation”, do National Cancer Institute. Adaptado de Morrison (2004).

Baixo Grau	Linfoma Maligno, células pequenas linfocíticas, consistente com Leucemia Linfocítica Crónica
	Linfoma Maligno, folicular, predominantemente composto por células pequenas clivadas
	Linfoma Maligno, folicular, com misto de células pequenas clivadas e células grandes
Grau Intermédio	Linfoma Maligno, folicular, predominantemente composto por células grandes
	Linfoma Maligno, difuso de células pequenas clivadas
	Linfoma Maligno, difuso, com misto de células pequenas e grandes
	Linfoma Maligno, difuso de células grandes
Alto Grau	Linfoma Maligno, de grandes células imunoblásticas
	Linfoma Maligno, linfoblástico
	Linfoma Maligno, de pequenas células não clivadas (Linfoma de <i>Burkitt</i> e não- <i>Burkitt</i>)

Anexo 2: Classificação Histopatológica de Linfomas Caninos e Felinos de acordo com a Organização Mundial de Saúde. Adaptado de Vezzali et al. (2010).

Neoplasias de Células B

Neoplasias de Células B Precursoras

Leucemia Linfoblástica Aguda de Células B
Linfoma Linfoblástico de Células B

Neoplasias de Células B Maduras

Leucemia Linfocítica Crônica de Células B
Linfoma Linfocítico de Pequenas Células B
Linfoma Linfocítico de Tipo Intermédio
Linfoma Linfoplasmocítico

Neoplasias Foliculares

Linfoma das Células do Manto
Linfoma das Células do Centro Folicular -I, -II e -III
Linfoma Nodal da Zona Marginal
Linfoma Esplênico da Zona Marginal
Linfoma Associado ao Tecido Linfóide das Mucosas

Neoplasias Plasmocíticas

Neoplasia Plasmocítica Indolente
Neoplasia Plasmocítica Anaplástica
Mieloma

Linfoma de Grandes Células B

Linfoma Difuso de Grandes Células B, Clivadas ou Não Clivadas
Linfoma Imunoblástico de Grandes Células
Linfoma de Grandes Células B Rico em Células T
Linfoma Tímico de Grandes Células B

Tipo Burkitt

Neoplasias de Células T

Neoplasias de Células T Precursoras

Leucemia Linfoblástica Aguda de Células T
Linfoma Linfoblástico de Células T

Neoplasias de Células T Maduras

Leucemia Linfocítica Crônica de Células T
Linfoma Linfocítico de Pequenas Células T
Linfoma/Leucemia de Linfócitos Grandes Granulares
Leucemia Linfocítica Crônica de Células *Natural Killer*

Neoplasias Cutâneas

Linfoma Cutâneo Epiteliotrópico
Linfoma Cutâneo Não-Epiteliotrópico

Linfomas de Células T Extranodais ou Periféricos

Linfoma Angiotrópico

Linfoma Angiocêntrico
Linfoma Angioimunoblástico

Linfoma Intestinal de Células T

Linfoma Anaplástico de Grandes Células

Anexo 3: Estadiamento Clínico para o Linfoma em Animais Domésticos, segundo a Organização Mundial de Saúde. Adaptado de Vail (2017).

Estadio	Critérios
I	Envolvimento de um único linfonodo
II	Envolvimento de múltiplos linfonodos numa área regional
III	Linfadenopatia generalizada
IV	Envolvimento do fígado e/ou do baço (com ou sem linfadenopatia generalizada)
V	Envolvimento da medula óssea, sangue, e/ou de órgãos não linfóides (com ou sem estadio I a IV)
Subestadio	
a	Sem sinais sistémicos
b	Com sinais sistémicos

Anexo 4: Protocolo Quimioterápico COP para Linfoma em Gatos. Adaptado de Vail (2013).

Fármaco	Frequência de Administração
Ciclofosfamida 300 mg/m² IV	Dar a cada 3 semanas, no dia a seguir à Vincristina Descontinuar se o animal estiver em remissão completa num ano
Vincristina 0.75 mg/m² IV	Dar semanalmente nas semanas 1, 2, 3 e 4, depois dar a cada 3 semanas, no dia anterior à Ciclofosfamida Descontinuar se o animal estiver em remissão completa num ano
Prednisolona 50 mg/m² PO	Dar diariamente durante 1 ano

Legenda: Um hemograma completo deve ser efetuado a cada tratamento. Se os neutrófilos apresentarem valores $<1.5 \times 10^9/L$, esperar 5 a 7 dias e então repetir o hemograma. Se os neutrófilos apresentarem valores $\geq 1.5 \times 10^9/L$, avançar com a sessão de quimioterapia.

Anexo 5: Protocolo Quimioterápico CHOP para Linfoma em Gatos. Adaptado de Vail (2013) e Vail (2017).

Semana de Tratamento	Fármaco, Dose e Via de Administração
1	Vincristina: 0.5-0.7 mg/m ² IV L-asparginase: 400 U/kg SC Prednisolona: 2 mg/kg PO q24h x 14 dias
2	Ciclofosfamida: 200 mg/m ² IV/PO Prednisolona: 2 mg/kg PO q24h (continuação)
3	Vincristina: 0.5-0.7 mg/m ² IV Prednisolona: 1 mg/kg PO q24h x 7 dias
4	Doxorrubicina: 25 mg/m ² IV Prednisolona: 1 mg/kg PO q48h ^a
6	Vincristina: 0.5-0.7 mg/m ² IV
7^b	Ciclofosfamida: 200 mg/m ² IV/PO
8	Vincristina: 0.5-0.7 mg/m ² IV
9^c	Doxorrubicina: 25 mg/m ² IV
11	Vincristina: 0.5-0.7 mg/m ² IV
13^b	Ciclofosfamida: 200 mg/m ² IV/PO
15	Vincristina: 0.5-0.7 mg/m ² IV
17	Doxorrubicina: 25 mg/m ² IV
19	Vincristina: 0.5-0.7 mg/m ² IV
21^b	Ciclofosfamida: 200 mg/m ² IV/PO
23	Vincristina: 0.5-0.7 mg/m ² IV
25^d	Doxorrubicina: 25 mg/m ² IV

Legenda: IV, endovenoso; PO, oral; SC, subcutâneo.

Um hemograma completo deve ser efetuado antes de cada sessão de quimioterapia. Se os neutrófilos apresentarem valores <1500 células/μL, esperar 5 a 7 dias e depois repetir o hemograma. Se os neutrófilos apresentarem valores >1500 células/μL, avançar com a sessão de quimioterapia.

^a A partir deste dia, a prednisolona (1 mg/kg PO) é administrada a cada 2 dias.

^b Se o linfoma se desenvolver no rim ou no SNC, substituir o fármaco pela citarabina (600 mg/m² SC q12h, durante 2 dias).

^c Se o gato apresentar remissão completa na semana 9, continuar o tratamento até à semana 11.

^d Se o gato apresentar remissão completa na semana 25, a terapia deve ser descontinuada, e o gato deve ser observado mensalmente, para detecção de reincidência.

Anexo 6: Classificação felina relativa à faixa etária. Adaptado de Vogt et al. (2010).

Faixa Etária	Idade do Gato	Idade Equivalente no Homem
Gatinho (nascimento até 6 meses)	0 – 1 meses	0 – 1 anos
	2 – 3 meses	2 – 4 anos
	4 meses	6 – 8 anos
	6 meses	10 anos
Júnior (7 meses até 2 anos)	7 meses	12 anos
	12 meses	15 anos
	18 meses	21 anos
	2 anos	24 anos
Jovem Adulto (3 a 6 anos)	3	28
	4	32
	5	36
	6	40
Adulto (7 a 10 anos)	7	44
	8	48
	9	52
	10	56
Sénior (11 a 14 anos)	11	60
	12	64
	13	68
	14	72
Geriátrico (≥ 15 anos)	15	76
	16	80
	17	84
	18	88
	19	92
	20	96
	21	100
	22	104
	23	108
	24	112
	25	116

Anexo 7: Resultados do GI – animais, fenótipo, localização anatômica, classificação NCI-WF e classificação OMS.

Amostra	Estatuto Retroviral	Sexo	Raça	Idade ao diagnóstico de linfoma (anos)	Localização anatômica	Classificação NCI-WF	Fenótipo	Classificação OMS
A	FeLV+	F	Ind	<11	Nodal	Alto	T	Linfoma T Periférico
B	Ambos	M	Ind	≥11	Extranodal	Alto	B	Linfoma Difuso de Grandes Células B
C	FIV+	M	Ind	<11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
D	FeLV+	F	S	<11	Gastrointestinal	Baixo	B	Linfoma Linfoplasmocítico
E	FIV+	F	Ind	≥11	Extranodal	Alto	B	Linfoma Difuso de Grandes Células B
F	FIV+	M	Ind	≥11	Extranodal	Intermédio	B	Linfoma B Linfocítico de Tipo Intermédio
G	Ambos	M	Ind	<11	Nodal	Alto	B	Linfoma Difuso de Grandes Células B
H	FIV+	M	S	<11	Sem Classificação	Baixo	B	Sem Classificação

Legenda: *F*, fêmea; *Ind*, raça indeterminada; *M*, macho; *OMS*, Organização Mundial de Saúde; *S*, Siamês; *NCI-WF*, *National Cancer Institute - Working Formulation*.

Anexo 8: Resultados do GNI – animais, fenótipo, localização anatómica, classificação NCI-WF e classificação OMS.

Amostra	Sexo	Raça	Idade ao diagnóstico (anos)	Localização anatómica	Classificação NCI-WF	Fenótipo	Classificação OMS
1	F	Ind	≥11	Gastrointestinal	Alto	T	Linfoma Intestinal de Células T
2	M	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	B	Linfoma Difuso de Grandes Células B
3	M	Ind	<11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
4	M	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
5	M	Ab	<11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
6	M	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
7	F	Ind	<11	Gastrointestinal	Alto	B	Linfoma Linfoblástico de Células B
8	F	Ind	<11	Gastrointestinal	Alto	B	Linfoma Associado ao Tecido Linfóide das Mucosas
9 ^a	M	Ind	<11	Gastrointestinal	Alto	B	Sem Classificação
10	F	Ind	≥11	Nodal	Intermédio	B	Sem Classificação
11	M	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
12	F	Ind	<11	Extranodal	Intermédio	B	Sem Classificação
13	M	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
14	F	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma T Periférico
15	F	Ind	<11	Extranodal	Baixo	B	Sem Classificação
16	F	Ind	<11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
17	F	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
18	M	Ind	≥11	Nodal	Baixo	B	Linfoma Linfocítico de Pequenas Células B

19	M	Ind	<11	Gastrointestinal	Alto	T	Linfoma Intestinal de Células T
20	M	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
21 ^b	M	Ind	<11	Nodal	Baixo	T	Linfoma Linfocítico de Pequenas Células T
22	M	Ind	≥11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
23	M	P	≥11	Extranodal	Alto	B	Linfoma Linfoblástico de Células B
24	M	Ind	≥11	Extranodal	Baixo	B	Linfoma Linfocítico de Pequenas Células T
25	M	Ind	<11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T
26	M	Ind	<11	Gastrointestinal	Baixo	T	Linfoma Intestinal de Células T

Legenda: *Ab*, Abissínio; *F*, Fêmea; *Ind*, raça indeterminada; *M*, Macho; *OMS*, Organização Mundial de Saúde; *P*, Persa; *NCI-WF*, *National Cancer Institute - Working Formulation*.

^a O gato tinha registo, no passado, de desenvolvimento de outros linfomas, noutras localizações anatómicas.

^b O gato tinha registo de linfadenopatia generalizada.

Anexo 9: Resultados das análises histopatológica e imunofenotípica dos gatos do GI.

Amostra HP	Relatório HP	Conclusão HP	Relatório Imuno.	Conclusão Imuno.
Gato A. FeLV+.				
Biópsia de linfonodo axilar	“Todos os fragmentos enviados correspondem a linfonodo intensamente infiltrado por células linfóides de grandes dimensões, de citoplasma escasso e núcleo de cromatina finamente dispersa, sem nucléolos visíveis. O mínimo de células em mitose é elevado, com 7 a 8 células em divisão por cada 10 campos. São frequentes as células reticulares, homogeneamente distribuídas.”	“Está em curso linfoma de alto grau de grandes células blásticas e elevado índice mitótico.”	T CD3 – 95%	“Está em curso linfoma de células T.”
Gato B. FIV+ e FeLV+.				
Fragmentos de massa maxilar	“O fragmento tecidual enviado corresponde a proliferação neoplásica linfóide, de grandes células, dispostas em toalha contínua. O índice mitótico é elevado.”	“O exame histopatológico é indicativo de linfoma maligno, de alto grau.”	B Pax-5 – 80%	“Linfoma de alto grau de células B.”
Gato C. FIV+.				
Biópsia de linfonodo e intestino	“Um dos fragmentos de biópsia da parede intestinal enviados corresponde a túnica muscular, identificando-se forte infiltração por células linfóides entre a camada interna e a camada externa. Este infiltrado linfóide é constituído por população muito monomórfica de pequenas células maduras. O 2º fragmento de biópsia da parede intestinal é difícil de orientar, identificando-se uma parte periférica correspondendo a tecido muscular liso com focos de infiltração linfóide perivasculare anexo a uma extensa área de necrose sobre a qual assentam 2 pequenos fragmentos de tecido fibroso com infiltração celular inflamatória. As biópsias de linfonodo exibem infiltração muito marcada da estrutura do linfonodo por células linfóides em população fortemente monomórfica de linfócitos maduros. As células dispõem-se de forma muito compacta, sem foliculos evidentes, não sendo claramente visíveis imagens de mitose.”	“Não sendo possível emitir diagnóstico seguro, não se exclui a possibilidade de estar em curso processo de linfoma afetando a parede intestinal e os linfonodos mesentéricos. É possível que este processo esteja associado a necrose da parede intestinal em particular caso tenha ocorrido bloqueio de aporte sanguíneo.”	T CD3 – 95%	“O linfoma intestinal em curso é de células T.”

Gato G. FeLV+.				
Biópsias endoscópicas de cólon e íleo	<p>Cólon – exibem exuberante infiltração da mucosa de células mononucleares de perfil linfóide e plasmocitóide. Há erosão da mucosa e áreas de exsudação.</p> <p>Íleo – exibem infiltração da mucosa e submucosa por células mononucleares nomeadamente linfócitos. As células passam a lâmina própria.”</p>	“O estudo das biópsias enviadas é compatível com eventual doença linfoproliferativa. Deverá agendar-se estudo imunohistoquímico.”	B CD20 – 70%	“O estudo imunohistoquímico favorece o diagnóstico de linfoma de células B na forma anatômica alimentar.”
Gato E. FIV+.				
Biópsia da massa na orofaringe	“A presente biópsia exhibe proliferação neoplásica difusa (tapete contínuo) de células redondas de perfil linfóide. As células são volumosas.”	“A presente biópsia é indicativa de lesão neoplásica linfoproliferativa/linfoma.”	B CD20 – 95%	“O estudo imunohistoquímico revela tratar-se de linfoma B, difuso de alto grau.”
Gato F. FIV+.				
Biópsia da massa na cavidade nasal	“Os fragmentos enviados correspondem a proliferação de células linfóides, volumosas, de citoplasma escasso e núcleo volumoso de cromatina finamente distribuída, sem nucléolo evidente. São frequentes as células necrosadas dispersas no tecido tumoral, sendo extensas as áreas de necrose em toalha. Identificam-se algumas pequenas placas de tecido ósseo inseridas na neoplasia. O número de vasos presente é variável entre as amostras recebidas, representados por alguns capilares muito distendidos e repletos de células sanguíneas. O nº de células em divisão é reduzido, com 1 a 2 mitoses por cada 10 campos em grande ampliação.”	“Está em curso processo de linfoma de grandes células, aparentemente de baixo índice mitótico.”	B Pax-5 – 90%	“Linfoma da cavidade nasal de células B.”

Gato G. FIV+ e FeLV+.

Biópsia do linfonodo poplíteo	“Observa-se infiltração multifocal do linfonodo por população de células redondas, que mascara a transição córtex/medula e se estende à atmosfera adiposa peri-nodal. Nesta população há predomínio de células redondas, mas associadas a importante população de megacarioblastos; as células apresentam núcleos vesiculares, citoplasma escasso e elevado índice mitótico (até 4 por campo em alta ampliação). Ocasionalmente observam-se células apoptóticas. Não se observam agentes microbianos.”	“Está em curso neoplasia de células redondas, devendo corresponder a leucemia megacarioblástica. Esta corresponde a variante de neoplasia hematopoiética frequentemente associada a infecção por FeLV.”	B CD79α – 70%	“Está em curso linfoma difuso de células B, o qual estará complicado por hematopoiese extramedular de linha mielóide.”
-------------------------------	--	---	-------------------------	--

Gato H. FIV+.

Biópsia de fígado (A), tecido peripancreático (B) e massa na zona do diafragma (C)	<p>“(A) – todos os fragmentos de fígado enviados apresentam nódulos bem delimitados, de contorno perfeitamente redondo, constituídos por células redondas de pequenas dimensões, citoplasma escasso e núcleo denso, com morfologia muito semelhante a pequenas células linfóides. Entre estas identificam-se células mais volumosas de citoplasma indistinto e núcleo de tipo macrofágico. Os nódulos apresentam diâmetro variável. O nº de células em mitose estima-se em 4 por cada 10 campos em grande ampliação. A vacuolização dos hepatócitos é discreta e difusa. Não se identificam agentes microbianos.</p> <p>(B) – o fragmento enviado corresponde a tecido adiposo peripancreático fortemente infiltrado por células idênticas às descritas nos nódulos hepáticos. Não se identificam agentes microbianos.</p> <p>(C) – o fragmento enviado é constituído por agregados densos de células idênticas às descritas nos nódulos hepáticos, não se identificando o tecido subjacente. Não se observam agentes microbianos.”</p>	“(A), (B) e (C) – Estará em curso processo envolvendo a proliferação de células linfóides e, em menor nº, de células histiocitárias. É possível que se trate de processo de natureza neoplásica, embora não sendo possível identificar a sua origem. A distribuição das células tumorais no fígado é pouco habitual para linfomas.”	B CD20 – 75%	“Deverá estar em curso processo de linfoma de células B rico em células T.”
--	---	---	------------------------	---

Legenda: FeLV, Vírus da Leucemia Felina; FIV – Vírus da Imunodeficiência Felina; HP – Histopatologia; NCI-WF, National Cancer Institute – Working Formulation; OMS – Organização Mundial de Saúde.

Anexo 10: Resultados das análises histopatológica e imunofenotípica dos gatos do GNI.

Amostra HP	Relatório HP	Conclusão HP	Relatório Imuno.	Conclusão Imuno.
Gato 1.				
Biópsia do duodeno, jejuno, íleo, pâncreas e linfonodo mesentérico	<p>“ID – infiltração dos quatro planos constituintes por células linfóides de natureza neoplásica de tipo blástico.</p> <p>Linfonodo – exhibe hiperplasia folicular e aparente infiltração dos seios medulares por células linfóides neoplásicas.”</p>	“Linfoma maligno, alimentar, difuso, que aparenta baixo índice mitótico.”	T CD3 – 98%	“Linfoma maligno, alimentar, difuso de células T, de aparente baixo índice mitótico.”
Gato 2.				
Biópsia de linfonodo mesentérico	“O linfonodo encontra-se difusamente infiltrado por linfócitos médios em população muito monomórfica de células médias dispostas de forma compacta. Regularmente dispostas entre as células linfóides observam-se núcleos volumosos e pálidos de macrófagos. O nº de células em mitose estima-se em 1 a 2 por cada 10 campos em grande ampliação.”	“Deverá estar em curso processo de linfoma intestinal com expressão nos linfonodos mesentéricos. Em alternativa poderá tratar-se de linfoma multicêntrico, em fase inicial. Recomenda-se a imunofenotipagem.”	B CD20 – 70%	“O estudo imunohistoquímico efetuado revela a presença de linfoma difuso de células B.”
Gato 3.				
Biópsia do jejuno e linfonodo mesentérico	<p>“Jejuno – infiltração densa e compacta de todas as túnicas do intestino por células linfóides de dimensão pequena a média. Estas apresentam citoplasma escasso e núcleo de cromatina geralmente densa com nucléolos pouco visíveis. O nº de células em divisão é reduzido com cerca de 1 a 2 mitoses por cada 10 campos em grande ampliação. É ocasional, em um dos fragmentos, a infiltração dispersa por neutrófilos.</p> <p>Linfonodo mesentérico – a estrutura do linfonodo apresenta-se fortemente infiltrada por células linfóides com as mesmas características já descritas no jejuno, em particular na zona para e subfolicular. Entre estas células linfóides observam-se alguns foliculos. Observa-se ainda população regularmente dispersa de macrófagos contendo material fagocitado (corpos tingíveis).</p>	“Está em curso processo de linfoma intestinal de células médias, aparentemente de baixo índice proliferativo. O linfoma intestinal encontra-se em fase de invasão dos linfonodos mesentéricos.”	T CD3 – 85%	“O linfoma intestinal em curso é de células T.”

Gato 4.

Biópsia de íleo e linfonodo mesentérico

“Íleo – os dois fragmentos enviados exibem vilosidades muito irregulares, com espessura e comprimento variáveis. Identifica-se forte infiltração da lâmina própria por células linfóides médias em população monomórfica e disposição compacta. O número de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação. As glândulas intestinais estão diminuídas em número, exibem distorção do perfil e ocasional distensão luminal com retenção de muco. Observa-se infiltração discreta a moderada do epitélio das glândulas por células linfóides. À superfície identifica-se material mucinoso envolvendo células epiteliais descamadas. As restantes túnicas intestinais não exibem alterações. Não se identificam agentes microbianos.

Linfonodo mesentérico – no fragmento enviado identifica-se infiltração moderada por eosinófilos. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação. Não se regista formação de folículos. Não se identificam agentes microbianos.”

“Íleo – está em curso enterite crónica linfocítica com severa atrofia glandular, não sendo clara a sua etiologia. Não se exclui a hipótese de linfoma em fase inicial de formação, com base no marcado monomorfismo das células linfóides infiltrando a mucosa.

Linfonodo mesentérico – está em curso linfadenite eosinofílica. O monomorfismo celular linfóide não permite excluir a hipótese de estar em curso infiltração do linfonodo por células com origem em linfoma intestinal.”

T
Íleo: CD3 – 80%
Linfonodo: 50:50

“Deverá estar em curso fase inicial de linfoma de células T, com infiltração moderada no linfonodo mesentérico. O linfoma poderá ser indolente de evolução crónica.”

Gato 5.

Biópsia endoscópica de esófago (A), estômago (B) e duodeno (C)

“(A) – os fragmentos de esófago correspondem à túnica mucosa, sendo visíveis diversos focos dispersos de calcificação da lâmina própria, envolvidos por reação inflamatória contendo células gigantes multinucleadas.

(B) – os fragmentos do corpo gástrico não apresentam alterações significativas. Os fragmentos do antro pilórico apresentaram irregularidade marcada da superfície com distensão das criptas. A lâmina própria apresenta infiltração inflamatória moderada por células mononucleadas (linfócitos e plasmócitos). A descamação é intensa, embora não se identifique descontinuidade do epitélio de revestimento. Não se observam agentes microbianos.

(C) – todos os fragmentos enviados correspondem à túnica mucosa. Na lâmina própria é visível a ausência de grande nº de glândulas intestinais substituídas por forte infiltrado por células linfóides em população monomórfica. Estas células infiltram marcadamente o epitélio superficial, chegando a formar pequenos agregados. Verifica-se deformação dos perfis das vilosidades, com espessamento e fusão em alguns campos. As células linfóides surgem geralmente de dimensão pequena a média, sendo reduzido o nº de células em divisão. Não se identificam agentes microbianos.”

“(A) – calcificação esofágica multifocal, eventualmente consequência de agressão frequente por refluxo gástrico com efeito corrosivo.

(B) – gastrite crónica linfoplasmocítica do antro pilórico.

(C) – é possível que esteja em curso processo de linfoma intestinal.”

T
CD3 – 99%

“Está em curso processo de linfoma intestinal de células T.”

Biópsia de estômago
(A), intestino delgado
(B), cólon (C), fígado
(D) e linfonodos
mesentéricos (E)

“(A) – o fragmento enviado corresponde à totalidade da espessura da parede. A mucosa revela a diminuição da espessura com atrofia glandular e erosão do epitélio superficial.

(B) – os fragmentos enviados correspondem à totalidade da espessura da parede. A mucosa apresenta atrofia das vilosidades, as quais se apresentam espessadas e curtas. Observa-se ainda hipoplasia glandular. A lâmina própria da mucosa apresenta infiltração compacta por células inflamatórias mononucleadas, em especial linfócitos, os quais infiltram a submucosa e infiltram o epitélio de revestimento.

(C) – o fragmento enviado corresponde à totalidade da espessura da parede. Na mucosa observa-se desorganização glandular e distensão do lúmen de algumas glândulas retendo material mucinoso. Na submucosa observa-se alguns folículos linfóides. O mesmo material mucinoso identifica-se à superfície da mucosa.

(D) – o fragmento enviado exhibe vacuolização discreta de alguns hepatócitos dispersos. Os hepatócitos em posição centrolobular apresentam grânulos de lipofuscina no citoplasma. Observa-se ainda depósitos de material hialino de coloração levemente basófila na parede dos vasos sanguíneos, por vezes em posição subíntima e em licalização intralobular rodeando algumas células em forma quase individual. Depósitos do mesmo material assumem forma de grânulos volumosos. Num espaço porta identifica-se infiltração por células linfóides maduras.

(E) – regista-se infiltração compacta por células linfóides maduras entre as quais se destacam células reticulares. São evidentes alguns folículos.”

“(A) – gastrite crónica atrofica.

(B) – enterite crónica linfocítica com infiltração da submucosa. Não se exclui a hipótese de linfoma intestinal de pequenas células.

(C) – colite catarral crónica.
(D) – lipofuscinese hepática. Está ainda em curso patologia associada ao armazenamento de material não identificado, com predileção pelos endotélios.

(E) – hiperplasia linfóide. Não se exclui a hipótese de linfoma de pequenas células.”

T
CD3 – 95%

“Está em curso linfoma intestinal de células T, com repercussão no linfonodo mesentérico.”

Gato 7.

Biópsia de intestino	<p>“O fragmento de intestino enviado exhibe zona delimitada, embora extensa, de infiltração de todas as túnicas por células neoplásicas redondas de tipo linfóide, volumosas, de citoplasma escasso e núcleo frequentemente vesiculoso e deformado. São muito numerosas as células tumorais em apoptose, para além de zonas de necrose extensa. Identifica-se infiltração regular por neutrófilos. A mucosa exhibe grau de destruição variável, com zonas em que se identifica necrose total. O nº de células em divisão é de cerca de 4 mitoses por cada 10 campos em grande ampliação. Os topos de excisão do fragmento enviado apresentam-se, num dos casos, sem alterações e, no lúmen mais distendido, com infiltração inflamatória moderada da lâmina própria por linfócitos maduros e plasmócitos. O epitélio exhibe infiltração moderada por linfócitos maduros.</p>	“Linfoma intestinal de células blásticas e de reduzida capacidade proliferativa.”	B CD79α – 80%	“O linfoma intestinal em curso é de células B.”
----------------------	--	---	-------------------------	---

Gato 8.

Biópsia da parede gástrica (A), e do linfonodo mesentérico (B)	<p>“(A) – os fragmentos revelam forte infiltração da mucosa (em um fragmento), submucosa e muscular (em um fragmento) por células tumorais volumosas, de perfil arredondado, citoplasma de limites mal definidos e núcleo volumoso de cromatina ponteadada. O núcleo surge frequentemente deformado, com chanfraduras pouco pronunciadas. É muito frequente a presença de células linfóides maduras dispostas entre as células tumorais ou formando agregados do tipo folicular. O nº de mitoses estima-se em 1 por cada campo em grande ampliação.</p> <p>(B) – o fragmento apresenta infiltração pelo mesmo tipo de células redondas e volumosas que se dispõem entre as células linfóides maduras. Não se identificam agente microbianos.”</p>	“Está em curso processo neoplásico de células redondas de marcada capacidade infiltrativa e elevada malignidade, podendo corresponder a linfoma de grandes células ou sarcoma histiocítico em fase de invasão do linfonodo mesentérico.”	B CD79α – 80%	“A neoplasia em curso corresponde a linfoma B de grandes células invadindo as túnicas intestinais. Simultaneamente haverá resposta inflamatória rica em células T.”
--	---	--	-------------------------	---

Gato 9.

Biópsia de intestino com espessamento do íleo e ceco (A) e linfonodo (B)	<p>“(A) – o espessamento do íleo corresponde a infiltração da totalidade da espessura da parede por células linfóides pequenas a médias, dispostas, em geral, de forma compacta. A mucosa surge extensamente necrosada, com presença de numerosos agregados microbianos junto à superfície livre. Um setor limitado do perímetro surge discretamente atrofiado, com as túnicas substituídas por tecido conjuntivo fibroso. As células linfóides apresentam citoplasma escasso e núcleo de cromatina grosseira. O nº de células em divisão é reduzido, com menos de 1 mitose por cada 10 campos em grande ampliação. O espessamento da parede do ceco corresponde a infiltração sectorial de todas as túnicas por células linfóides de pequena a média dimensão, exibindo as mesmas características descritas no cólon. Entre as células linfóides identificam-se neutrófilos, embora em nº reduzido. A infiltração deforma externamente a serosa do setor afetado. O topo livre do íleo apresenta-se livre de infiltração linfóide. O topo do cólon exhibe volumosos folículos linfóides, com amplo centro germinativo. O nº de células em divisão nos folículos estima-se em 4 a 5 mitoses por cada 10 campos em grande ampliação.</p> <p>(B) – o fragmento de linfonodo enviado exhibe folículos bem evidentes e infiltração interfolicular por células linfóides idênticas às descritas no cólon.”</p>	“(A) e (B) – estará em curso processo de linfoma intestinal de pequenas células e reduzido índice proliferativo.”	B CD20 – 80%	“A marcação no linfonodo foi a seguinte: CD3-20% e CD20-80%. O linfoma em curso é de células B, com discreto infiltrado.”
--	---	---	------------------------	---

Gato 10.

Biópsia linfonodo pré-escapular	<p>“O fragmento de linfonodo enviado revela total infiltração da estrutura por células linfóides médias (núcleo com dimensão equivalente a 2 hemácias), em população homogénea, dispostas em toalha contínua. As células exibem citoplasma escasso e núcleo de cromatina grosseiramente dispersa com nucléolos pouco evidentes. Identifica-se cerca de 10 mitoses por cada 10 campos em grande ampliação. São evidentes alguns focos de células linfóides maduras regularmente distribuídos. Entre as células linfóides dispõem-se macrófagos conferindo ao tecido a aparência de céu estrelado. O tecido adiposo periférico presente em parte do perímetro apresenta-se discretamente infiltrado pelas células linfóides médias.”</p>	“Está em curso linfoma difuso de células médias e reduzido índice proliferativo.”	B CD79α – 85%	“Está em curso linfoma difuso de pequenas e médias células B.”
---------------------------------	--	---	-------------------------	--

Gato 11.

Biópsia de intestino delgado (A) e linfonodo mesentérico (B)

(A) – os fragmentos enviados evidenciam marcada infiltração da parede intestinal por células linfóides em população monomórfica de células pequenas de núcleo denso. Estas invadem totalmente a mucosa, com esbatimento severo das vilosidades e diminuição igualmente severa das glândulas. A submucosa surge igualmente fortemente infiltrada nos três fragmentos. A infiltração tumoral atinge a muscular e a serosa em dois fragmentos. O nº de células linfóides em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação.

(B) – identifica-se infiltração particularmente intensa na zona subcortical por células linfóides em disposição compacta. Estão preservados diversos folículos contendo centro germinativo. O nº de células linfóides em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação.”

(A) – está em curso linfoma intestinal de pequenas células e reduzida capacidade proliferativa.

(B) – regista-se infiltração moderada do linfonodo mesentérico pelas células do linfoma intestinal.”

T
CD3 – 90%

“O linfoma intestinal é de células T.”

Gato 12.

Biópsia de lesão gengival (canino superior direito)

“Identificam-se fragmentos de mucosa parcialmente revestidos por epitélio severamente erodido. A lâmina própria surge completamente ocupada por neoplasia de células redondas, com elevada densidade celular, padrão sólico, dispostas em toalha contínua e com escassez de estroma de suporte. As células são redondas, com grandes núcleos redondos a ovais de cromatina reticulada, com nucléolo pouco evidente, e o citoplasma é claro, granular, escasso e de limites indefinidos. O pleomorfismo nuclear é moderado e o índice mitótico elevado (até 3 por campo em alta ampliação). A apoptose é moderada, com pequenos focos de necrose dispersos. Numa área restrita de margem da neoplasia observa-se infiltração linfoplasmocitária discreta e edema.”

“Neoplasias de células redondas. Para as características citomorfológicas aqui observadas deve ser considerada a possibilidade de linfoma (B ou T), não sendo de excluir a hipótese de melanoma amelanótico. A imunohistoquímica é essencial para a emissão de diagnóstico definitivo.”

B
CD79α – 95%

“O linfoma gengival em curso é de células B.”

Gato 13.

Biópsia de intestino delgado (A) e linfonodo mesentérico (B)	<p>“(A) – os segmentos de intestino delgado enviados apresentam forte infiltração das túnicas mucosa, submucosa e muscular por população homogênea de células linfóides pequenas a médias, de núcleo denso, sendo evidente a deformação das poucas vilosidades remanescentes e a quase total ausência de glândulas. A infiltração afeta igualmente o tecido adiposo do mesentério. O nº de células linfóides em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação.</p> <p>(B) – os fragmentos de linfonodo apresentam folículos na cortical com centro germinativo rico em macrófagos e ainda infiltração sub e paracortical pelo mesmo tipo de pequenas células linfóides identificadas no intestino. A medular não apresenta sinais de infiltração.”</p>	<p>“(A) – está em curso linfoma intestinal de pequenas células com baixo índice proliferativo.</p> <p>(B) – a infiltração dos linfonodos mesentéricos pelas células do linfoma intestinal encontra-se em fase inicial.”</p>	<p>T CD3 – 70%</p>	<p>“O estudo imunohistoquímico efetuado revela linfoma intestinal de linfócitos T. A infiltração nodal é insipiente.”</p>
--	---	---	-------------------------------	---

Gato 14.

Biópsia <i>trucut</i> parede gástrica (A) e pinça laparoscópica (B)	<p>“(A) – todos os fragmentos enviados revelam marcada infiltração de todas as túnicas por células linfóides médias em população monomórfica em disposição compacta. Estas células dispõem-se entre as faixas de células musculares e preenchem totalmente a espessura da mucosa, sem que se identifiquem vestígios de glândulas. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação,</p> <p>(B) – o fragmento enviado corresponde a tecido adiposo do omento com pequeno nódulo constituído por células linfóides idênticas às descritas na parede do estômago. São ainda evidentes numerosos focos de infiltração perivascular por células linfóides.”</p>	<p>“(A) e (B) – está em curso linfoma gástrico de células médias de reduzido índice proliferativo, com infiltração do omento anexo ao estômago.”</p>	<p>T CD3 – 90%</p>	<p>“O linfoma gástrico em curso é de células T.”</p>
---	---	--	-------------------------------	--

Gato 15.

Biópsia de rim
esquerdo

“Os dois fragmentos de rim enviados correspondem à zona cortical e apresentam estrutura renal bem preservada, com moderada vacuolização do epitélio tubular (comum na espécie). Alguns dos tubos surgem distendidos retendo secreção e outros apresentam material acidófilo correspondendo a cilindros granulares. São evidentes muito raros tubos contendo cristais de oxalatos. Nos dois fragmentos são evidentes diversos focos densos de infiltração linfóide subcapsulares e ainda alguns focos de menor dimensão no seio cortical. Os linfócitos infiltrados são de pequena dimensão e constituem população homogênea. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação. Não se identificam agentes microbianos.”

“A infiltração linfóide do rim pode indicar fase inicial de processo de linfoma de pequenas células. Contudo, não pode ser excluída a hipótese de nefrite intersticial linfocítica multifocal, como poderia estar presente na forma arrastada de PIF. A homogeneidade celular do infiltrado celular contraria, mas não exclui, esta hipótese. Por outro lado, a distensão tubular indica eventual fibrose medular complicando o escoamento da urina primitiva, mais compatível com nefrite intersticial. A relevância da presença de oxalatos deverá ser estimada de acordo com o exame de sedimento urinário.”

B
CD20 – 80%

“É possível que as lesões em curso correspondam a linfoma renal de células B.”

Gato 16.

Biópsia de intestino
delgado (com
espessamento central
ao longo de 4cm)

“A massa intestinal descrita corresponde a zona de forte infiltração das túnicas mucosa, submucosa e muscular por população homogênea de células linfóides médias. Entre estas identificam-se macrófagos (corpos tingíveis) regularmente dispostos. Verifica-se ausência total das vilosidades, estando presentes algumas glândulas intestinais dispersas. O nº de células linfóides em mitose estima-se em 1 por cada campo em grande ampliação. Nas extremidades dos dois segmentos a montante e jusante verifica-se espessamento da mucosa devido a forte infiltração da lâmina própria por células inflamatórias, em particular linfócitos, plasmócitos e ocasionais eosinófilos. Não se identificam agentes microbianos.”

“Foi extirpada massa correspondendo a linfoma intestinal de células médias, de reduzido índice proliferativo. No intestino lesado está ainda em curso enterite linfoplasmocítica. Não se exclui que o espessamento da mucosa dos topos intestinais avaliados possa ser devido a infiltração por células linfóides neoplásicas.”

T
CD3 – 80%

“O linfoma intestinal em curso é de células T, sendo que os topos de excisão incluem população muito elevada de células T, sugerindo que a neoplasia afeta os topos logo, muito possivelmente, o intestino remanescente.”

Gato 17.

Biópsias de íleo (A), linfonodo mesentérico (B) e baço (C)	<p>“(A) – o fragmento enviado exhibe marcado espessamento das vilosidades por infiltração compacta por pequenos linfócitos de citoplasma muito escasso e núcleo denso. Estes linfócitos estão igualmente presentes de forma compacta na restante mucosa com perda de estruturas glandulares. As glândulas remanescentes, em nº muito escasso, surgem deformadas. A infiltração linfóide prolonga-se para a submucosa e para a muscular, em particular entre as túnicas interna e externa, e nos espaços interfibrilares na túnica externa. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação. Não se identificam agentes microbianos.</p> <p>“(B) – os fragmentos em análise apresentam numerosos folículos volumosos, frequentemente contendo centro germinativo. É muito intensa a infiltração linfóide subcapsular e interfolicular e subcortical predominantemente por pequenos linfócitos. Estes infiltram ainda o tecido adiposo perinodal. Numa das amostras está presente foco de necrose fibrinosa com detritos nucleares. Não se identificam agentes microbianos.</p> <p>“(C) – todos os fragmentos em análise exibem polpa moderadamente congestionada envolvendo diversos folículos de dimensão média, ocasionalmente volumosos. São muito frequentes e extensos os focos de necrose fibrinosa, predominando os localizados sob a cápsula. Esta apresenta infiltração linfóide na face livre. Não se identificam agentes microbianos.”</p>	<p>“(A) – linfoma intestinal de pequenas células, aparentemente crônico e indolente.</p> <p>“(B) – hiperplasia linfóide e ainda infiltração por células do linfoma intestinal de pequenas células.</p> <p>“(C) – congestão e discreta hiperplasia linfóide da polpa branca. Necrose fibrinosa multifocal, possivelmente devido a acidentes vasculares de tipo trombótico.”</p>	T CD3 – 70%	“Está em curso linfoma intestinal de células T, com invasão dos linfonodos mesentéricos. Não se identificam sinais evidentes de invasão do baço.”
--	--	--	----------------	---

Gato 18.

Biópsia <i>trucut</i> de linfonodo renal	<p>“Todos os fragmentos enviados são formados por células linfóides em população homogênea e disposição compacta, sem evidência de formação de folículos. As células são pequenas de núcleo hiper cromático. Entre elas identificam-se finas granações escuras, compatíveis com detritos nucleares. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação.”</p>	<p>“É possível que esteja em curso processo de linfoma de pequenas células de baixo índice mitótico.”</p>	B CD20 – 70%	“É possível que o linfoma renal em curso seja de células B.”
---	---	---	-----------------	--

Gato 19.

Biópsia de intestino e linfonodos mesentéricos	<p>“Observa-se infiltração transmural severa e difusa da parede do intestino por população monomórfica de células redondas, tipo linfoblasto, associada a erosão e necrose severas da mucosa, com destruição total das criptas. Esta população celular infiltra e destrói a camada muscular e estende-se à camada serosa e mesentério. As células neoplásicas surgem dispostas em toalha contínua com densidade celular muito elevada e escassez de estroma de suporte. Apresentam dimensões grandes, com núcleos pleomórficos, redondos ou chanfrados, de cromatina densa a reticulada. O citoplasma é muito escasso e o índice mitótico é elevado (até 6 mitoses por campo em alta ampliação). Os topos/margens cirúrgicas não apresentam infiltração por células neoplásicas. Os restantes fragmentos tecidulares enviados correspondem a mesentério cujo tecido adiposo surge infiltrado por células neoplásicas, anexo ao qual se observa foco denso de células neoplásicas semelhantes às descritas anteriormente, com densidade celular muito elevada e associadas a necrose multifocal severa. Poderá de facto corresponder a linfonodo, mas já com obliteração total da arquitetura típica deste órgão.”</p>	“Linfoma intestinal com metastização nodal e no omento.”	T Intestino: CD3 – 90% Omento/linf.: CD3 – 70%	“O linfoma intestinal em curso é de células T.”
--	---	--	---	---

Gato 20.

Biópsia intestino delgado (A) e linfonodo mesentérico (B)	<p>“(A) – o segmento de intestino em análise revela forte infiltração de todas as túnicas, incluindo a serosa, por células linfóides de pequena dimensão em população muito homogénea, dispostas de forma muito compacta. A infiltração da lâmina própria deforma fortemente o perfil das vilosidades. As células linfóides organizam-se ainda em estruturas foliculares inseridas em particular na submucosa, na serosa e no tecido adiposo anexo ao intestino que está igualmente invadido por células linfóides. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação. As margens de excisão do intestino apresentam-se igualmente infiltradas por células linfóides, estando particularmente afetadas a mucosa e submucosa. Na margem a montante a infiltração da muscular é discreta e focal.</p> <p>(B) – o fragmento de linfonodo apresenta forte infiltração compacta do linfonodo por pequenas células linfóides idênticas às descritas no intestino em população altamente homogénea. Na cortical identificam-se alguns folículos dispersos.”</p>	<p>“(A) – está em curso linfoma intestinal de pequenas células e reduzido índice mitótico, possivelmente linfoma indolente. A presença de tricobezoares será decorrente de estenose do intestino.</p> <p>(B) – no linfonodo biopsado estará em curso invasão pelas células do linfoma intestinal de pequenas células, persistindo a reduzida capacidade infiltrativa.”</p>	T CD3 – 70%	“O linfoma intestinal em curso é de células T.”
---	--	--	-----------------------	---

Gato 21.

Biópsia de linfonodo poplíteo esquerdo	<p>“O linfonodo enviado revela infiltração total da estrutura por células linfóides pequenas a médias (núcleo com dimensão equivalente a 1 a 2 hemácias), em população homogênea, dispostas em toalha contínua, preenchendo a totalidade da cortical, muito espessada, e a medular. As células macrofágicas regularmente dispostas entre os linfócitos (corpos tingíveis). Identifica-se menos de 1 mitose por cada 10 campos em grande ampliação. O tecido adiposo periférico apresenta-se marcadamente infiltrado pelas células linfóides atrás descritas.”</p>	<p>“Está em curso linfoma multicêntrico de pequenas células e de baixo índice proliferativo.”</p>	<p>T CD3 – 90%</p>	<p>“O linfoma em curso é de células T.”</p>
--	---	---	-------------------------------	---

Gato 22.

Biópsias de estômago (A), duodeno (B), jejuno (C), íleo (D) e linfonodos mesentéricos (E)	<p>“(A) – a amostra enviada não apresenta alterações. (B) – o fragmento enviado apresenta atrofia da mucosa com vilosidades curtas levemente espessadas com moderado festonamento superficial. A lâmina própria surge com infiltração moderada por células inflamatórias mononucleadas, em particular plasmócitos e linfócitos. As glândulas intestinais surgem com moderada distorção do perfil. Não se identificam agentes microbianos. (C) – o fragmento enviado apresenta as mesmas alterações descritas no duodeno. (D) – o fragmento enviado apresenta espessamento muito evidente das vilosidades que apresentam em conjunto com a lâmina própria marcada infiltração por linfócitos médios em população monomórfica. Estes infiltram densamente o epitélio de revestimento. As glândulas intestinais surgem em nº reduzido e com distorção de perfil. Não se identificam agentes microbianos. (E) – os fragmentos em análise exibem total infiltração da estrutura por células linfóides médias (núcleo com dimensão equivalente a 2 a 3 hemácias), em população homogênea, dispostas em toalha contínua. As células exibem citoplasma escasso e núcleo de cromatina homogênea com nucléolos pouco evidentes. Observam-se raras células macrofágicas regularmente dispostas entre os linfócitos (corpos tingíveis). Identificam-se cerca de 1 a 2 mitoses por cada campo em grande ampliação.”</p>	<p>“(A) – estômago sem alterações. (B) e (C) – enterite linfoplasmocítica de expressão moderada, não sendo possível identificar a sua etiologia. (D) – está em curso processo de linfoma intestinal de células médias de baixo índice proliferativo, com infiltração dos linfonodos mesentéricos (E).”</p>	<p>T CD3 – 90%</p>	<p>“O linfoma intestinal é de células T.”</p>
---	--	--	-------------------------------	---

Gato 23.

Biópsia lesão do MPE	“Todos os fragmentos enviados exibem infiltração compacta da derme por células neoplásicas redondas de citoplasma amplo e pálido e núcleo volumoso e eucromático com pequeno nucléolo. Observa-se infiltração moderada por linfócitos e neutrófilos dispostos entre as células tumorais. O nº de células em mitose estima-se em 8 por cada 10 campos em grande ampliação. São evidentes focos de necrose profunda e superficial. Alguns fragmentos exibem revestimento por epitélio pavimentoso estratificado, embora predominem as zonas de erosão. Estas estão recobertas por fibrina integrando neutrófilos.”	“Está em curso neoplasia maligna de células redondas, muito possivelmente com origem em células dendríticas da pele, ou seja, células histiocíticas – sarcoma histiocítico. Não se exclui a hipótese de se tratar de linfoma de grandes células.”	B CD20 – 80%	“A marcação obtida indica que a neoplasia em curso corresponde a linfoma de células B.”
----------------------	--	---	------------------------	---

Gato 24.

Globo ocular direito completo	“O globo ocular enviado exhibe infiltração da úvea, maioritariamente afetando a face posterior, e a totalidade dos corpos ciliares por células pequenas de perfil redondo, compatíveis com pequenos linfócitos. Estas células invadem circunferencialmente a câmara posterior, invadindo a coróide e a retina. Esta está totalmente substituída por tecido tumoral. É frequente a disposição perivascular das células neoplásicas. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação. Em particular na zona correspondente aos corpos ciliares identifica-se matriz mucinosa envolvendo as células de tipo linfóide. A câmara anterior apresenta conteúdo hialino acidófilo em continuidade com a câmara posterior. O cristalino não apresenta alterações dignas de registo.”	“No globo ocular direito estava em desenvolvimento sarcoma pós-traumático na variante de linfoma. Os sarcomas oculares pós-traumáticos em felinos têm períodos de incubação muito variáveis após o acidente que estará na sua origem, variando de alguns meses a vários anos, estando a média calculada em 6 anos. Em alternativa poderá estar em curso linfoma ocular de pequenas células.”	B 1º CD20 – 5% 2º CD79α – 80%	“Confirma-se que a lesão intraocular corresponde a linfoma de células B CD79α positivo, o que está de acordo com a possibilidade de se tratar de tumor pós-traumático.”
-------------------------------	---	--	--	---

Biópsia de intestino
(A) e linfonodo
mesentérico trucut (B)

(A) – o fragmento intestinal analisado exibe infiltração massiva por população homogênea de células linfóides pequenas a médias organizadas em toalha contínua e em folículos, que ocupam e expandem a mucosa, submucosa, muscular e serosa, sendo evidente a infiltração e deformação das vilosidades intestinais, que se apresentam espessadas e fundidas. São observadas duas zonas, na serosa, onde se observa formação de massa exofítica, constituída pela mesma população de linfócitos neoplásicos, organizados em folículos. Os linfócitos neoplásicos apresentam escasso citoplasma e núcleos redondos, com cromatina finamente granular e um nucléolo evidente. O grau de anisocitose e anisocariose, tal como o pleomorfismo nuclear, é moderado e o nº de células em mitose estima-se em menos de 1 figura mitótica por cada 10 campos de grande ampliação. As margens cirúrgicas da peça de enterectomia surgem infiltradas por células neoplásicas.

(B) – os fragmentos de linfonodo mesentérico encontram-se infiltrados por linfócitos pequenos a médios, organizados em folículos de densidade celular variável.”

“Linfoma intestinal, de pequenas a médias células, do tipo folicular, com baixo índice proliferativo.”

T

“CD3 80% dos linfócitos de periferia dos folículos, de cerca de 30% dos linfócitos nos centros germinativos e de 40% dos linfócitos na lâmina própria das vilosidades. CD20 20% dos linfócitos na periferia dos folículos, cerca de 70% dos linfócitos dos centros germinativos e 60% dos linfócitos na lâmina própria das vilosidades.”

“A grande variabilidade obtida na marcação das células linfóides tanto no intestino como no linfonodo dificulta a interpretação dos resultados da imunohistoquímica. Contudo, considerando o predomínio da infiltração interfolicular no intestino por linfócitos T, e o mesmo padrão de distribuição obtido no linfonodo mesentérico, o diagnóstico é de linfoma de células T em intestino delgado, com forte hiperplasia linfóide. O mesmo grau de hiperplasia folicular estará em curso no linfonodo mesentérico a par da infiltração tumoral.”

<p>Biópsia de rim (A), fígado (B), intestino (C) e linfonodo mesentérico (D)</p>	<p>“(A) – estrutura bem preservada com o epitélio tubular fortemente vacuolizado. Os glomérulos exibem discreto espessamento hialino do mesângio. (B) – marcada infiltração periportal por população abundante de células linfóides pequenas a médias. São diversos os casos de união dos infiltrados linfóides entre espaços porta vizinhos. Ainda nos espaços porta identifica-se proliferação de ductos biliares. Entre as células linfóides identificam-se frequentes macrófagos. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação. Os hepatócitos surgem vacuolizados com presença discreta de lipopigmentos no citoplasma. É regular a presença de vestígios de pigmento biliar entre os hepatócitos. Não se identificam agentes microbianos. (C) – o fragmento enviado corresponde ao ceco ou cólon, registrando-se discreta infiltração da lâmina própria por pequenas células linfóides, sem deformação das glândulas. Observam-se ainda alguns focos de hemorragia na submucosa. (D) – infiltração difusa de células linfóides pequenas a médias, idênticas às descritas no fígado, no seio das quais se identificam alguns folículos dispersos. O nº de células em mitose é inferior a 1 por cada 10 campos em grande ampliação. É evidente a infiltração do tecido adiposo envolvente pelas células linfóides atrás descritas. Não se identificam agentes microbianos.”</p>	<p>“(A) – discreta glomerulite membranosa, possivelmente sem repercussões funcionais nesta fase. A vacuolização do epitélio tubular por retenção de gordura é fisiológica em felinos. (B) – infiltração linfóide em espaços porta com hiperplasia dos ductos biliares, indicando estar em curso processo de linfoma de células médias e reduzido índice proliferativo, em estadio de invasão hepática (estadio IVa). (C) – colite crônica linfocítica de expressão discreta. Não se exclui que a infiltração linfóide esteja relacionada com o linfoma em curso. (D) – linfoma difuso de células médias e reduzido índice proliferativo.”</p>	<p>T CD3 – 80%</p>	<p>“O linfoma em curso é de células T, confirmando-se a invasão hepática.”</p>
--	--	---	-------------------------------	--

Legenda: HP, Histopatologia; ID – Intestino Delgado; MPE – Membro Posterior Esquerdo; NCI-WF – National Cancer Institute – Working Formulation; OMS – Organização Mundial de Saúde.