



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CAMPUS II – AREIA-PB  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**BÁRBARA GOMES ALVES**

**LINFOMA CONJUNTIVAL LINFOCÍTICO DE IMUNOFENÓTIPO T EM UM  
FELINO – RELATO DE CASO**

**AREIA  
2018**

**BÁRBARA GOMES ALVES**

**LINFOMA CONJUNTIVAL LINFOCÍTICO DE IMUNOFENÓTIPO T EM UM  
FELINO – RELATO DE CASO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba.

**Orientador:** Profa. Dra. Gisele Castro Menezes.

**AREIA  
2018**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

A4741 Alves, Barbara Gomes.

Linfoma conjuntival linfocítico de imunofenótipo T em um felino- relato de caso / Barbara Gomes Alves. - Areia, 2018.  
45 f.

Orientação: Gisele Castro Menezes.  
Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Neoplasia. 2. Oncologia. 3. Extranodal. 4. Células T. 5. Conjuntiva. 6. Baixo-grau. I. Castro Menezes, Gisele. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

BÁRBARA GOMES ALVES

LINFOMA CONJUNTIVAL LINFOCÍTICO DE IMUNOFENÓTIPO T EM UM FELINO –  
RELATO DE CASO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como requisito parcial à obtenção do título de  
Bacharel em Medicina Veterinária pela  
Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em: 26/11/2018.

BANCA EXAMINADORA



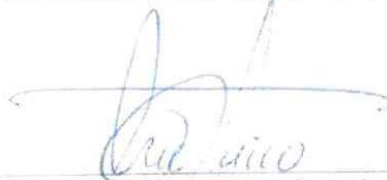
---

Profa. Dra. Gisele Castro Menezes (Orientadora)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



---

Mestre José Ferreira da Silva Neto  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



---

Médico veterinário Tolentino Alcântara  
Clínica veterinária Cytus

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que com sua Graça e misericórdia me proporcionou chegar até aqui.

Aos meus pais, que desde o início me incentivaram, apoiaram e batalharam todos os dias para eu estar aqui. Amo vocês!

À minha irmã, Natália, por todo apoio e companheirismo.

Às minhas tias Tânia e Auxiliadora por todo cuidado, atenção e suporte.

Ao meu namorado Gabriel, que sempre se fez presente me ajudando, me incentivando e sendo companheiro nos momentos difíceis.

À minha família de coração, minha sogra dona Nedja, meu sogro Gutemberg e meu cunhado Matheus por todo carinho e acolhimento.

À minha orientadora Profa. Dra Gisele Castro pela paciência e auxílio durante a realização deste trabalho.

Aos demais professores do curso de medicina veterinária da UFPB por todo ensinamento que me foi dado contribuindo ricamente com meu conhecimento.

Ao médico veterinário Tolentino, Neto Ferreira e Telma por toda disposição e atenção me dando suporte durante a produção deste trabalho.

Aos meus amigos: Roberta, Bel, Letícia, Jocy, Yathiaia, Lidia, Carminha, Maria de Fátima, Cibely, Fernando Melo e Walisson. Obrigada por todo momento especial que passamos juntos, com vocês a jornada desses 5 anos se tornou mais leve. Guardarei sempre vocês no coração!

À minhas amigas: Ângela, Adriana, Allany e a querida vizinha Tatiane por todo carinho e ajuda nesses 5 anos morando distante, através das nossas conversas, conselhos e paciência nos momentos de desabafo.

Aos meus colegas de curso por terem proporcionado momentos de alegria e descontração durante esse tempo.

## RESUMO

O linfoma é a neoplasia mais comum do sistema hematopoiético em gatos, de or multifatorial que pode envolver diferentes sistemas do organismo podendo se classificar de acordo com o local anatômico de surgimento (nodal e extranodal), grau de malignidade (baixo, intermédio e alto grau) e imunofenótipo (células B ou T). O diagnóstico deste tipo de neoplasia pode ser obtido através do uso de exames complementares que envolvem desde técnicas imaginológicas como raio-X e ultrassom, até técnicas laboratoriais o que envolve a citologia, histopatologia e imunohistoquímica. O presente trabalho tem como objetivo relatar um caso de linfoma conjuntival em um gato evidenciando os meios utilizados para chegar ao diagnóstico assim como descrever o protocolo escolhido para tratamento quimioterápico. Um felino, sem raça definida (SRD), macho, de 6 anos de idade apresentou um nódulo de crescimento lento na região da conjuntiva dorsal do olho direito com aproximadamente 2,0 cm de diâmetro, consistência firme, superfície irregular, ulcerado e coloração avermelhada. Após a realização de uma avaliação clínica acurada e com auxílio de exames complementares como a punção aspirativa com agulha fina (PAAF) e exame histopatológico chegou-se ao diagnóstico definitivo de linfoma de baixo grau. E por meio do exame imunohistoquímico constatou-se que a origem desta neoplasia é de células T. Através deste trabalho é possível confirmar a importância de tais exames no paciente oncológico como forma de obtenção de diagnóstico e conseqüentemente escolha do protocolo quimioterápico adequado e eficaz promovendo aumento da expectativa de vida e bem estar do animal.

**Palavras-Chave:** neoplasia, oncologia, extranodal, células T, conjuntiva

## **ABSTRACT**

Lymphoma is the most common neoplasm of the hematopoietic system in cats, with a multifactorial origin that can involve different organ systems and can be classified according to the anatomical site of onset (nodal and extranodal), degree of malignancy (low, intermediate and high degree ) and immunophenotype (B or T cells). The diagnosis of this type of neoplasia can be obtained through the use of complementary exams that range from imaging techniques such as x-ray and ultrasound, to laboratory techniques involving cytology, histopathology and immunohistochemistry. The present study aims to report a case of conjunctival lymphoma in a cat showing the means used to reach the diagnosis as well as describe the protocol chosen for chemotherapy treatment. A 6-year-old male, mongrel race feline exhibited a slow growing nodule in the region of the dorsal conjunctiva of the right eye approximately 2.0 cm in diameter, firm consistency, irregular surface, ulcerated and reddish color. After an accurate clinical evaluation and with the aid of complementary tests such as fine needle aspiration (FNA) and histopathological examination, a definitive diagnosis of low grade lymphoma was reached. And through the immunohistochemical examination it was verified that the origin of this neoplasia is of T cells. Through this work it is possible to confirm the importance of such examinations in the oncologic patient as a way of obtaining diagnosis and consequently choice of the appropriate and effective chemotherapeutic protocol promoting increase the life expectancy and welfare of the animal.

**Keywords:** neoplasia, oncology, extranodal, T cells, conjunctiva

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALT	Alanina aminotransferase
ALL	Leucemia linfoblástica aguda
AML	Leucemia mieloide aguda
APF1	Fator 1 ativador de protease poptótico
BCL6	B-cell lymphoma 6
BCRs	Receptor de células B
CGL	Leucemia granulocítica crônica
CLL	Leucemia linfocítica crônica
COP	Ciclofosfamida/Vincristina/Prednisolona
COPLOW	Comparative Ocular Pathology Laboratory of Winconsin
CHOP	Ciclofosfamida/Vincristina/Prednisolona/ Doxorubicina
FA	Fosfatase alcalina
FC	Citometria de fluxo
FeLV	Leucemia viral felina
FIV	Vírus da imunodeficiência felina
IHC	Imunohistoquímica
MALT	Tecido linfoide associado à mucosa
NCIW	National Cancer Institute working Formulation
PAAF	Punção aspirativa com agulha fina
PARR	Rearranjos de receptor antigênicos
PCR	Reação em cadeia polimerase
QT	Quimioterapia
SNC	Sistema nervoso central
TCR	Receptor de células T
TNF	Fator de necrose tumoral
TNM	Tumor-node-metastasis
UICC	International Union for Cancer Control
RMD	Resistência à múltiplas drogas

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1	Neoplasia em felinos.....	11
2.2	Linfoma em felinos.....	14
2.2.1	Diagnóstico.....	15
2.2.1.1	Classificação anatômica.....	15
2.2.1.2	Exames de imagem e laboratoriais.....	18
2.2.1.3	Diagnóstico histopatológico do linfoma.....	19
2.2.1.4	Classificação imunofenotípica.....	22
2.2.2	Tratamento prognóstico.....	24
3	RELATO DE CASO.....	26
3.1	Identificação, exame físico e exames complementares.....	26
3.1.1	Punção aspirativa com agulha fina (PAAF).....	27
3.1.2	Exame histopatológico.....	28
3.1.3	Marcadores imunohistoquímicos.....	29
3.1.4	Avaliação hematológica e perfil bioquímico.....	30
3.2	Tratamento.....	30
4	DISCUSSÃO.....	33
5	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS.....	40

## 1. INTRODUÇÃO

A oncologia trata-se de uma especialidade médica responsável pelo estudo das neoplasias buscando conhecer, diagnosticar e tratar adequadamente os pacientes e com isso, proporcionar qualidade de vida.

O índice de animais domésticos com câncer tem crescido consideravelmente nos últimos anos devido ao aumento da longevidade destes, causando grande repercussão por ser a principal causa de morte de cães e gatos idosos porque os viabiliza a ter uma maior exposição a agentes cancerígenos. O aumento da expectativa de vida está estreitamente ligado ao avanço da medicina veterinária em suas áreas de atuação, pois tem proporcionado aos animais de companhia melhores cuidados veterinários através da prevenção e controle de doenças, alimentação balanceada e avanços tecnológicos que possibilita precisão diagnóstica (JERICÓ et al., 2017; DALECK et al., 2008).

Vários fatores podem estar relacionados com a etiologia das neoplasias abrangendo desde eventos genéticos até estímulos externos como microrganismos, hormônios, traumas e radiações. Os locais de surgimento dos tumores são diversos, pois podem se originar dos mais variados tecidos dos sistemas, apresentar morfologias diferentes, e se classificar de formas distintas de acordo com suas características (DALECK et al., 2008; SALVADO, 2010).

Dentre as neoplasias mais encontradas nos animais domésticos está o linfoma (linfoma maligno ou linfossarcoma). Oriundo do sistema hematopoiético o que inclui órgãos linfoides, como medula óssea, baço e linfonodos, é um tipo de neoplasia que ocorre quando há proliferação clonal de linfócitos malignos correspondendo a uma neoplasia mais comum em gatos (30 a 50% de todas as neoplasias) do que em cães (DALECK et al., 2008).

Diante disso, é importante ressaltar a importância de uma correta atuação do médico veterinário frente a um paciente oncológico, assim como as medidas tomadas pelo mesmo para obtenção da cura que vai desde a anamnese e realização de exames, até o tratamento do tumor identificado (JERICÓ et al., 2017).

O objetivo deste trabalho é relatar um caso de linfoma conjuntival diagnosticado em um felino, SRD, macho, de 6 anos de idade, abordando desde a lesão macroscópica, achados citológicos, diagnóstico histopatológico e imunohistoquímico até a sua evolução frente ao tratamento descrevendo os protocolos quimioterápicos utilizados.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Neoplasias em felinos

O termo neoplasia (do grego *neo*= novo e *plasis*= crescimento), se caracteriza pela proliferação celular anormal e mais rápida de algum tecido do organismo quando comparado ao tecido normal, podendo ser posteriormente definida como maligna ou benigna e assim serem distinguidas de acordo com a diferenciação, ritmo de crescimento, invasão local e metástase. Na neoplasia maligna observam-se células com grau variável de diferenciação, alto índice mitótico e característica invasiva comprometendo tecidos adjacentes. Enquanto que a neoplasia benigna apresenta células bem diferenciadas, crescimento lento, não infiltra-se para outros tecidos ou realizam metástase continuando em seu local de origem (MORRIS & DOBSON, 2007).

A etiologia primária do câncer não é bem entendida, porém acredita-se que ocorrem devido a mutações genéticas que podem ser tanto espontâneas quanto ocorrerem sob a ação de agentes patogênicos tais como agentes extrínsecos o que incluem fatores biológicos, fatores químicos ou físicos e fatores intrínsecos como exemplo faixa etária, fatores nutricionais, ações endócrinas e predisposição genética (DALECK et al., 2008; JERICÓ et al., 2017; MORRIS & DOBSON, 2007).

Para que ocorra a formação da neoplasia é necessário um processo de múltiplas fases denominado carcinogênese. Aqui, as células vão adquirindo potencial maligno através de sucessivas alterações genéticas que se acumulam no genoma resultando em desequilíbrio e ausência de controle na proliferação, diferenciação e apoptose celular. Trata-se de um processo complexo e o modelo mais aceito atualmente para explicar como ocorre é o de iniciação/promoção/progressão. Na fase de iniciação, também chamada de conversão neoplásica, uma célula sofrerá mudanças no genótipo através de estímulos. Estas mudanças podem causar mutações, rearranjos cromossômicos, inserir, deletar ou amplificar genes e assim ativar oncogenes, comprometer os genes supressores de tumores e os meios que regulam crescimento e desenvolvimento celular. Na fase de promoção, ocorre a multiplicação das células iniciadas através de uma expansão clonal e assim há expressão de alteração no fenótipo das células filhas e estas adquirem autonomia. Em seguida, na fase de progressão, os clones irão manifestar capacidade de invasão de tecidos e metástase caracterizando-se um

episódio sistêmico (DALECK et al., 2008; JERICÓ et al., 2017; MORRIS & DOBSON, 2007).

Apesar de a carcinogênese ser multifatorial, destacam-se os eventos genéticos e ambientais que cooperam para o aparecimento das neoplasias. Os cânceres em sua maioria resultam de processos genéticos que podem advir posteriormente a alterações cromossômicas ou moleculares. Para que suceda o seu desenvolvimento é necessário que ocorra diversas etapas relacionadas à falha ou mudanças no DNA resultando em alterações genéticas como exemplo ativação dos oncogenes, inativação dos genes supressores de tumor, relacionados a neoplasias hereditárias, ou modificação nos níveis de expressão destes e então há perda dos mecanismos regulatórios e o acúmulo de tais mutações resultarão em proliferação descontrolada e desenvolvimento do câncer gerando assim metástase, formação de novos vasos sanguíneos e altas taxas de mutação (DALECK et al., 2008; JERICÓ et al., 2017; MORRIS & DOBSON, 2007; CARNEIRO et al., 1997).

Referindo-se a fatores ambientais, constituem-se estímulos extrínsecos que podem provocar alterações genéticas celulares. Dentre os mais citados estão os vírus que integram seu genoma ao DNA da célula do hospedeiro. Quando o genoma viral se trata de um DNA, alberga consigo um oncogene, já quando é um genoma RNA, não há capacidade de integração direta ao DNA do hospedeiro ele deve então ser convertido em uma cópia de RNA denominado provírus, este que agora sim se integra ao material genético e se replica. Cita-se também a participação de parasitas e bactérias como agentes indutores de neoplasias, onde o primeiro desencadeia um processo crônico até a fase cancerígena, método que ainda é pouco entendido, porém já houve relatos como de carcinoma biliar em cães e gatos associado a presença do trematódeo hepático *Clonorchis sinensis*. E no que se refere às bactérias, a *Helicobacter spp* foi a causa do desenvolvimento de carcinoma hepatocelular em ratos (MORRIS & DOBSON, 2007; DALECK et al., 2008).

Carcinógenos físicos também se constituem fatores importantes, sendo os principais as radiações ionizantes e ultravioletas, vistas como iniciadoras dos processos mutagênicos e que provocam lesão direta no DNA, radiação solar que é vista como determinante de lesões pré-neoplásicas podendo desenvolver o carcinoma de células escamosas, inflamações e traumas, em que já foi mencionado a colocação de implantes em fraturas ósseas ou pequenas contusões constantes em um mesmo local, geralmente na metáfise de ossos longos predispondo ao aparecimento de osteossarcoma (MORRIS & DOBSON, 2007; DALECK et al., 2008).

A carcinogênese química baseia-se no modelo de iniciação, promoção e progressão proporcionando alterações genéticas e/ou epigenéticas devido a mudanças morfológicas e bioquímicas que ocorrem. Na fase de iniciação ocorre a exposição do animal ao agente químico, quanto maior a dose carcinogênica, maior a incidência e o poder de multiplicação das células. É um mecanismo rápido, causa lesão no DNA e leva a uma mutação irreversível, pois ocorre a divisão celular antes que o reparo possa agir. Quando ocorre a promoção não há interação direta com o DNA caracterizando-se uma lesão reversível, porque se o agente promotor se ausenta pode suceder a regressão da proliferação celular. Na progressão, ocorre o agravamento da neoplasia caracterizado por malignidade, infiltração e disseminação, como também pode-se observar lesão irreversível, alterações cromossômicas, alterações morfológicas, bioquímicas e metabólicas das células (MORRIS & DOBSON, 2007; DALECK et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2007).

Diante disso, muitos são os fatores que suscetibilizam os animais ao desenvolvimento de câncer e especialmente em felinos domésticos é importante destacar as neoplasias linfoides que incluem principalmente a leucemia e o linfoma.

A leucemia é um tumor hematopoiético advindo da medula óssea podendo ter origem linfóide ou não como também ser caracterizada em aguda quando há multiplicação de células hematopoiéticas em seu estado inicial levando ao estancamento da diferenciação de células normais e de rápida evolução, ou crônica quando a mutação de células para neoplasia advém de precursores celulares tardios onde há presença de células diferenciadas de forma moderada. A leucemia pode ser subdividida em leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemia mieloide aguda (AML) e leucemia granulocítica crônica (CGL). O tipo de leucemia mais comum em gatos é a leucemia linfóide podendo ainda estar associado a massas tumorais. De acordo com Daleck et al. (2016), cerca de 60 a 80% dos felinos com ALL são positivos para leucemia viral felina (FeLV) (MORRIS & DOBSON, 2007; DALECK et al., 2008).

Originado do tecido linfóide e especificamente dos linfócitos, que podem estar em várias fases de desenvolvimento, o linfoma é uma neoplasia maligna de origem multifatorial tendo a suscetibilidade genética e os fatores ambientais como importantes causas de seu aparecimento. Geralmente é classificado de acordo com o tipo de linfócito afetado (linfócitos B ou T), índice de crescimento e características clínicas. Também pode ser subdividido em tipo Hodgkin quando identifica-se a presença de células gigantes com vários núcleos (células de Reed-Sternberg) ou do tipo não-Hodgkin no qual suas características epidemiológicas,

fenotípicas e morfológicas se assemelham às dos humanos representando aproximadamente 90% dos tumores hematopoiéticos em cães e gatos. Variam de indolente à agressivo manifestando-se principalmente como linfadenopatia ou massas tumorais sólidas (OKIKIOLU & MCNAMARA, 2015; ZANDVLIET, 2016; DALEK et al., 2008; ARMITAGE et al., 2017; AL-NAEED et al., 2018).

## **2.2 Linfoma em felinos**

O linfoma é uma das neoplasias mais comuns em gatos (50-90% de todas as neoplasias hematopoiéticas) correspondendo a cerca de um terço de todos os tumores e tendo a incidência de 200 casos para cada 100 000 gatos em risco. Este tipo de câncer tem afetado não apenas gatos da faixa etária de 8 a 10 anos, mas também animais mais jovens. Em um estudo realizado em 233 tumores, de 1993 a 2008, para determinar quais tipos de tumor ocorrem em gatos até 12 meses de idade, baseado em biópsias, relatou que o grupo de tumores mais comumente encontrados foram os hematopoiéticos, onde 51 destes animais apresentaram o linfoma representado pela porcentagem de 22% (SCHMIDT et al., 2010).

O linfoma comumente pode abranger estruturas internas como exemplo o trato alimentar, timo e mediastino o que o torna seu diagnóstico mais dificultoso comparando-se com os cães que quando acometidos geralmente apresentam distribuição multicêntrica e linfadenopatia generalizada (GIONFRIDDO, 2008).

Atualmente o linfoma felino pode ser classificado em dois tipos: os associados e os não-associados ao retrovírus. Sendo a imunossupressão um fator predisponente a essa neoplasia, gatos acometidos por imunodeficiência viral felina (FIV) e por leucemia viral felina (FeLV) possuem 77 vezes maior risco de desenvolver linfoma. Quando positivos para FIV, a idade geralmente afetada é de 7 anos, e quando positivos para FeLV varia de 2-3 anos, no qual o primeiro se integra ao DNA da célula hospedeira modificando o crescimento celular e assim acarretando numa transformação maligna, e o segundo contribui indiretamente com a oncogênese, pois “compromete a habilidade do sistema imune em destruir células malignas” (LOUWERENS et al., 2005; NELSON & COUTO, 2010; MORRIS & DOBSON, 2001; DALECK et al., 2008, p.482).

Advindos da linhagem de células B ou T e ainda não completamente compreendidos, os linfomas não associados a retrovírus representam o maior grupo de cânceres linfocíticos em gatos atualmente, sendo propensos a serem órgãos-específicos. Dentre os linfomas mais

comuns pode-se citar o linfoma intestinal e renal e menos incomuns, os linfomas de cabeça e pescoço, outros órgãos internos, olhos e sistema nervoso central (SNC) (RIBEIRO et al., 2003).

Merece destaque os linfomas não associados a retrovírus advindos de fatores ambientais que devido à introdução de agentes químicos provenientes de atividades industriais, hábitos ou costumes socioculturais, como exemplo o cigarro, expõe os gatos a agentes mutagênicos que possuem atividades iniciadoras e promotoras assim como em humanos. Diversos estudos já sugeriram que há uma conexão entre a exposição frequente do animal a fumo de tabaco com o desenvolvimento de linfoma (LOUWERENS et al., 2005). Para avaliar a possibilidade e o risco de desenvolvimento de linfoma em felinos domésticos expostos à fumaça de cigarro, foi realizada uma pesquisa no hospital de Massachusetts com 80 gatos diagnosticados com linfoma onde os proprietários foram questionados acerca do nível de tabagismo nos últimos dois anos antes do diagnóstico. Após a organização dos dados, constatou-se que o risco aumentou em 2,4 vezes, e para aqueles que tinham 5 anos ou mais de exposição à fumaça de cigarro, teve um aumento de 3,4 vezes em relação às moradias de não-fumantes (BERTONE et al., 2002)

Segundo Louwerens et al. (2005), o linfoma felino pode manifestar-se também em órgãos ou locais acometidos por inflamação crônica assim como aqueles que desenvolveram fibrossarcoma em decorrência da inflamação crônica desencadeada por adjuvantes de vacinas. Esta análise propõe que o linfoma em gatos necessita de uma predisposição e estímulos complementares.

## **2.2.1 Diagnóstico**

### **2.2.1.1 Classificação anatômica**

O linfoma pode também ser designado anatomicamente e com isso ser identificado como: gastrointestinal ou alimentar, mediastinal, multicêntrico (nodal), cutâneo e extranodal, sendo este último oriundo de tecidos diferentes dos linfonodos e por isso assim classificado (DALECK et al., 2008).

O linfoma gastrointestinal constitui-se a forma mais comum em gatos, comumente idosos e de diagnóstico negativo para FeLV e pouco associado à FIV, mas, de acordo com um estudo realizado com 100 gatos infectados associando-os ao linfoma, obteve-se o resultado de que

21% dos gatos positivos para FIV diagnosticados com linfoma o trato gastrointestinal foi local mais comum de acometimento. Pode ser visto em baço, fígado, intestino delgado, intestino grosso, estômago, esôfago, pâncreas, linfonodos mesentéricos, entre outros (DALECK et al., 2008; FEDER & HURVITZ, 1990; RICHTER, 2003).

O linfoma mediastinal engloba os linfonodos mediastinais ou timo e tem sido associado a animais jovens, positivos para FeLV (DALECK et al., 2008). Em sua maioria, o prognóstico é desfavorável conferindo ao animal um tempo curto de vida. Fabrizio et al. (2014), em uma pesquisa realizada com gatos diagnosticados com linfoma mediastinal felino, documentou 24% dos gatos com envolvimento além do mediastino onde pode ser visto também comprometimento linfonodal mesentérico e periférico, renal e hepático.

A respeito da forma multicêntrica do linfoma, é mais comum em cães do que em gatos e uma de suas apresentações clínicas envolve linfadenomegalia regional ou generalizada, além de hepatoesplenomegalia, comprometimento da medula óssea e outros órgãos (DALECK et al., 2008; MORRIS & DOBSON, 2007).

O linfoma cutâneo na espécie felina acomete animais geriátricos e FeLV negativos. Quando em cães há dificuldade de resposta ao tratamento. Em ambas as espécies, pode ser classificado como epiteliotrópico ou não-epiteliotrópico de acordo com a avaliação histopatológica. O primeiro é considerado uma doença de linfócitos T e o segundo pode ser tanto de células T quanto B. Aqui, pode-se observar acometimento de mucosa oral, linfonodos, baço, fígado e medula óssea e de acordo com diversos relatos podem ser descritos como aparência de massa no subcutâneo (DALECK et al. 2008; BURR et al., 2014).

As formas extranodais de linfoma referem-se à doença confinada a locais diferentes dos citados acima, podendo ser vistos em cavidade nasal, olhos e anexos oculares, espaço retrobulbar, sistema nervoso central, rins, pele, e outros. Devido a isto, a sugestão de tratamento, baseado em artigos que avaliaram um grupo de gatos afetados por linfoma nodal, mediastinal ou alimentar, pode não se aplicar a gatos com linfoma extranodal, pois são enigmáticos e apresentam características clinicopatológicas distintas dependentes de sua localização (TOMÉ, 2010; NELSON & COUTO, 2010; TAYLOR, 2009)

De acordo com uma pesquisa realizada no departamento de patologia do hospital geral de Massachusetts sobre linfomas que são encontrados com mais frequência em locais extranodais em humanos, relata que a presença deste tipo de neoplasia pode estar relacionada a uma síndrome de imunodeficiência subjacente, doença autoimune, processo infeccioso ou algum distúrbio imunológico (FERRY, 2008).

Dentre os linfomas extranodais pode-se citar o linfoma conjuntival que tem sido descrito em humanos, cães, cavalos e também em animais de laboratório como em coelhos inoculados por *Herpesvirus saimiri*. Quanto em gatos, raramente é retratado sendo o carcinoma de células escamosas, melanoma maligno, fibrossarcoma e hemangiossarcoma diferenciais para neoplasias conjuntivais nesta espécie. A coleção da *Comparative Ocular Pathology Laboratory of Wisconsin* (COPLOW), que fornece serviços de patologia para oftalmologistas clínicos veterinários em todos os países, contém 10 casos de linfoma conjuntival felino, o que representa 0,4% das submissões sobre tumores felinos (DUBIELZIG et al., 2010).

A conjuntiva possui vasos linfáticos, células linfóides e faz parte do tecido linfóide associado à mucosa podendo ser esta uma das causas de aparecimento deste tipo de neoplasia. O local anatômico do tumor é um importante preditor para ocorrência de linfoma sistêmico e também para o prognóstico. Baseado em uma análise clínica de 117 casos de linfoma conjuntival em humanos e sua relação com linfoma sistêmico, concluiu-se que pacientes que apresentaram infiltração na conjuntiva obtiveram menor ocorrência de linfoma sistêmico (somente 20% dos pacientes), e estes constantemente são do tipo celular de baixo grau e consequentemente apresentam o melhor prognóstico, em contraste ao envolvimento da órbita onde foi correlacionado com 35% dos casos e a pálpebra, com 70% do desenvolvimento de linfomas sistêmicos (SHIELDS et al, 2001; GIONFRIDDO et al, 2008).

Características imunohistoquímicas e histopatológicas detalhadas em animais domésticos são escassas, pois os linfomas oculares e anexiais primários são esporadicamente relatados na medicina veterinária, e seu comportamento é mal definido diferentemente dos seres humanos onde este tipo de caso já foi relatado e se encontra bem conhecido (RADI et al., 2004; HOLT et al., 2006; NERSCHBACH et al., 2013; OLBERTZ et al., 2012; WIGGANS, 2014). Quanto a característica expressada pela imunofenotipagem em linfoma conjuntival, de acordo com McCowan et al. (2013), que realizou um estudo com cinco cães e três gatos diagnosticados, levando em consideração o imunofenótipo destes, constatou-se que tumores de células T aparentam ser mais comuns na conjuntiva canina do que células B, ao contrário dos gatos onde os de células B são mais comuns. Ressalta-se também que os tumores conjuntivais de células B em felinos podem ser mais predispostos a serem indolentes do que os de células T em caninos (MCCOWAN et al., 2013).

Para descrever a extensão anatômica da doença, a *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) e a *International Union for Cancer Control* (UICC) criaram o sistema de estadiamento de tumor TNM (*tumor–node–metastasis*) com o intuito de classificar a clínica

do animal antes do tratamento, definir a conduta a ser tomada e avaliar a probabilidade de obter êxito. Este sistema tem a capacidade de codificar a abrangência do tumor primário (T), envolvimento dos linfonodos regionais (N) e a taxa de metástases a distância (M). A anatomia é um elemento importante para ser incluído quando feito o estadiamento e consequentemente para o prognóstico (EDGE & COMPTON, 2010).

#### 2.2.1.2 Exames de imagem e laboratoriais

Para que o diagnóstico e acompanhamento do animal com suspeita de linfoma sejam feitos, torna-se importante a realização de exames que forneçam informações importantes e auxiliem na conduta a ser tomada pelo médico veterinário. Dentre eles, a radiografia é citada como um meio que permite a identificação do local acometido pela neoplasia em algumas de suas formas anatômicas podendo indicar mudança na forma ou aumento no tamanho de algum órgão. A radiografia contrastada também pode ser requerida. Porém, quando se trata de exames de imagem, a ultrassonografia parece ser mais precisa pois, aponta infiltração e perda da arquitetura além de sugerir o estágio do linfoma. Pode também ser útil na orientação durante punção aspirativa ou biópsia (MORRIS & DOBSON, 2007).

Comumente, animais diagnosticados com linfoma podem apresentar uma série de alterações hematológicas devido a distúrbios causados pela presença do tumor podendo tanto diretamente quanto indiretamente afetar a produção de células sanguíneas, causar destruição imunomediada das células ou até mesmo sequestro pelo baço sendo mais comum observar anemia, trombocitopenia, neutropenia, linfocitose ou presença de linfócitos atípicos indicando acometimento da medula óssea. Para que estes parâmetros hematológicos sejam mantidos sob controle deve-se realizar um hemograma e assim avaliar o animal oferecendo, se necessário, tratamento suporte adequado. Vale ressaltar que durante a quimioterapia a análise hematológica é também imprescindível, pois os antineoplásicos podem exercer alteração no tecido hematopoiético podendo causar mielossupressão e assim dificultar a produção sanguínea (DALECK et al., 2008; MORRIS & DOBSON, 2007; JERICÓ et al., 2017)

Nos exames bioquímicos devem ser avaliadas as função hepática e renal sendo na primeira requerida as enzimas alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) e na segunda nitrogênio da uréia sanguínea ou creatinina, além dos eletrólitos que indiquem hipercalcemia, isto com o intuito de detectar disfunção e o grau de comprometimento em tais

órgãos e contribuir na seleção do quimioterápico apropriado para cada situação (DALECK et al., 2008; MORRIS & DOBSON, 2007).

### 2.2.1.3 Diagnóstico histopatológico do linfoma

Para que o surgimento de neoplasias seja suprimido, é necessária uma estabilidade entre proliferação e morte celular. Caso haja o desequilíbrio entre estes dois fatores, que pode ocorrer tanto por atividade proliferativa aumentada quanto por inibição da apoptose, haverá como resultado uma sobrevivência celular prolongada. Diante disso, o linfoma pode ainda ser classificado em dois diferentes grupos: linfomas de baixo-grau e linfoma de alto-grau (SÁNCHEZ-BEATO et al. 2003).

O linfoma de baixo-grau é decorrente da interdição dos genes que controlam a apoptose esta que é ativada por duas vias: extrínseca e intrínseca. A primeira compreende aos receptores de morte que pode ser o fator de necrose tumoral (TNF) ou FAS, este último responsável pela seleção negativa de células B ainda no centro germinativo sugerindo que ele age como supressor de tumor. A segunda, também chamada de via mitocondrial, inicia-se pela translocação dos membros da família BCL2 (codifica uma proteína de 26 kDa que inibe a indução de apoptose através da via mitocondrial) para as mitocôndrias decorrendo em alteração na sua permeabilidade e tendo como consequência a liberação do citocromo c que quando se associa com o fator 1 ativador de protease apoptótica (APAF1), ativa as proteínas apoptóticas denominadas de caspases 8 e 9 (iniciadoras) e em seguida as caspases 3, 6 e 7 (executoras) culminando em clivagem dos substratos relacionados com a morte celular. O linfoma de baixo-grau se caracteriza por um índice baixo de proliferação celular, tamanho reduzido das células podendo originar massas aumentadas nos linfonodos como também envolver a medula óssea e locais extranodais, acomete geralmente animais maior que 10 anos. É válido ressaltar que este tipo de linfoma define-se como sendo indolente e com longa sobrevida levando a acumulação de células (SÁNCHEZ-BEATO et al. 2003; ARAÚJO et al., 2008).

No tocante ao linfoma de alto grau, onde se caracteriza por possuir um alto crescimento, sugere-se que as translocações cromossômicas que ocorrem afetam os genes envolvidos no controle proliferativo: B-cell lymphoma 6 (BCL6) ou c-Myc. O BCL6 é expresso por células B e T no centro germinativo, células isoladas na área interfolicular dos linfonodos e tímócitos corticais e devido a isso seus atributos oncogênicos são estudados no sistema linfoide. Sua

principal função é o agir como regulador do ciclo e funções celulares, a saber, a diferenciação de linfócitos e resposta imunológica. Quando há alteração na expressão neste gene ocorre a interrupção dos genes envolvidos na apoptose e por conseguinte desenvolvimento de neoplasias (SÁNCHEZ-BEATO et al., 2003).

Assim como o BCL6, o c-Myc atua em diversas funções celulares regulando o ciclo, a diferenciação e apoptose além de agir nos processos de adesão, crescimento e metabolismo das células. Segundo Sánchez-Beato et al. (2003), são as alterações neste gene que consistem em um dos principais eventos na transformação maligna em linfoma de Burkitt, uma neoplasia de células B que representa 50 a 70% das doenças que acomete crianças africanas (SIMETTE et al., 2007).

Os linfomas de alto-grau são definidos por um aumento na atividade proliferativa, células de tamanho maiores, aumento nos linfonodos, elevada agressividade e estão associados a animais novos, no entanto respondem melhor à quimioterapia, mas, diferente do linfoma de baixo grau, o animal possui uma sobrevida menor, de semanas a meses caso não seja tratado. Além dessas alterações citadas, ambas as classificações são aptas para causar outras alterações na regulação do ciclo celular abrangendo ainda genes supressores de tumor como exemplo, p53 (SÁNCHEZ-BEATO et al., 2003; IGNEY et al., 2002; ARAÚJO et al., 2008).

SATO et al. (2014) realizou um estudo com 163 gatos diagnosticados com linfoma e analisou-os tanto anatomicamente quanto citomorfologicamente. Na análise anatômica, 52% dos gatos foram diagnosticados com linfoma alimentar, 15% com linfoma nasal, 12% com linfoma mediastinal, 9% classificados como sendo acometidos por linfoma multicêntrico e 12% como tendo outras formas de linfoma. Dentre estes, 65% dos casos foram diagnosticados como sendo linfoma de alto-grau e 35% dos casos classificados como linfoma de baixo-grau. Na análise da sobrevida do animal, os linfomas de alto grau de cada forma anatômica foram comparados estatisticamente com os linfomas de baixo grau, este que careceu de poder estatístico. Pode-se observar que houve diferença significativa na graduação do linfoma com suas respectivas formas anatômicas. No tipo linfoma de alto grau houve diferença na sobrevida entre gatos com linfoma alimentar e linfoma nasal, diferente daqueles com linfoma alimentar e mediastinal onde não houve diferença significativa. Os linfomas de baixo grau mostraram um resultado melhor do que os linfomas de alto grau em gatos e a partir daí pode-se depreender que, além do local onde a neoplasia esteja situada, a avaliação dos graus citomorfológicos são pertinentes para o prognóstico do linfoma felino.

Para que haja uma padronização nos Estados Unidos e em outros locais, tem sido utilizado para especificar o linfoma as classificações de Rappaport, Lukes e Collins, Kiel e a *National Cancer Institute Working Formulation (NCIWF)*. Embora que não exista um padrão escolhido, em felinos a NCIWF tem sido mais utilizado (LU, 2005).

A NCIWF foi descrito após um estudo realizado com 1175 casos linfoma não-Hodgkin para avaliar 6 classificações concorrentes e se baseia nos aspectos clínicos, morfologia, classifica os linfomas em baixo, intermediário e alto grau levando em consideração o histórico, a reação ao tratamento e a progressão nos pacientes envolvidos. Em um estudo realizado a respeito da classificação histológica de 602 casos de doença linfoproliferativa felina usando a NCIWF, relatou que 11% eram de baixo grau, 35% eram de grau intermediário e 54%, alto grau (LU, 2005; VALLI et al., 2000).

Em contrapartida, o sistema de Kiel, amplamente aceito na Europa e em diversos lugares, dividem os linfomas classificando-os de acordo com a imunofenotipagem (células B ou T) e assim como na NCIWF, em graus de malignidade (baixo ou alto) de acordo com sua morfologia. (TOMÉ, 2010; LU, 2005). Aspectos da morfologia celular assim como o padrão arquitetural para a classificação do linfoma conforme cada sistema estão descritos no quadro 1.

**Quadro 1** - Classificação histológica do linfoma não-Hodgkin pelos parâmetros da *Working formulation* e pelo sistema *Kiel* modificado (modificado de De Moura e Sequeira, 2000).

<b>GRAU DE MALIGNIDADE</b>	<b>WORKING FORMULATION</b>	<b>SISTEMA KIEL</b>
<b>BAIXO GRAU</b>	Linfocítico, pequenas células.	Linfocítico Linfoplasmocítico
	Folicular, com predomínio de células clivadas e pequenas.	Centrocítico (Folicular)
	Folicular, misto de células pequenas e grandes clivadas.	Centrocítico/Centroblastico (Folicular)
<b>GRAU INTERMEDIÁRIO</b>	Folicular, com predomínio de grandes células.	Centrocítico/Centroblastico
	Difuso, células pequenas e clivadas.	Centrocítico (difuso)
	Difuso, misto de pequenas e grandes células.	Centrocítico/Centroblastico
	Difuso, grandes células.	Centroblastico
<b>ALTO GRAU</b>	Imunoblástico	Imunoblastico
	Linfoblástico Células não clivadas pequenas	Linfoblástico B Linfoblástico T

#### 2.2.1.4 Classificação imunofenotípica

O estadiamento e o manejo adequado dos linfomas dependem, em sua maioria, de um diagnóstico e classificação patológicos precisos, por isso, além da classificação anatômica, a citologia e a histopatologia fazem parte da rotina do atendimento dos pacientes com câncer e

são frequentemente complementadas no diagnóstico clínico de linfoma através da imunohistoquímica (IHC), citometria de fluxo (FC) e reação em cadeia polimerase (PCR) para rearranjos do receptor antigênico (PARR) estes que são úteis na determinação do imunofenótipo permitindo saber a sua procedência, que pode ser de linfócitos B, T ou células natural killer, e fornecer informações acerca do prognóstico. (LU, 2005; THALHEIM, 2013; GIONFRIDDO, 2008).

Apesar de que a histopatologia e a IHC ofereçam ricas informações arquitetônicas e imunofenotípicas, respectivamente, segundo Thalheim et. al. (2013), a FC tem sido mais comumente utilizada para a designação de linhagens nos últimos anos com a crescente disponibilidade de anticorpos contra antígenos hematológicos de cães e PARR também tem sido frequentemente utilizado na clínica para designação de linhagens, este, se trata de um ensaio que examina a clonalidade em uma população de células linfoides por meio da amplificação do DNA que codifica as regiões variáveis dos receptores das células B e T.

Através de testes moleculares utilizados para identificar as populações clonais de células T e células B, foi afirmado que imunoglobulinas são receptores de células B (BCRs) advindas de linfócitos B e capazes de se ligar a antígenos com alta especificidade. Em nível de proteína, cada imunoglobulina (anticorpo) é formada por cadeias pesadas e leves. Quanto aos receptores de células T (TCR), consistem em duas cadeias diferentes acopladas, a TCRA e TCRb, presentes em aproximadamente 95% do TCR, e o restante formado por cadeias TCRg e TCRd. As células T-neoplásicas e as células B têm a mesma região variável rearranjada do TCR ou da cadeia pesada e da cadeia leve. A maioria das neoplasias de células T e células B tem rearranjo clonal da região variável no qual pode ser identificada por diversos métodos, incluindo o ensaio de hibridização de Southern blot e o ensaio PCR (RAMCHANDREN et al, 2018). Para que o linfoma seja classificado imunofenotipicamente pode-se ser utilizado os marcadores celulares para células T e B, onde no primeiro utiliza-se o CD3 e no segundo uma associação de CD79 e BLA 36 (TOMÉ, 2010).

A respeito da importância da imunofenotipagem, baseado em um estudo feito com veterinários conduzido na conferência da Veterinary Cancer Society em 2009, solicitando informações demográficas, diagnósticos de estadiamento inicial e recomendações de tratamento para linfoma canino, 76% dos oncologistas veterinários requereram a atribuição de linhagem após o alcance de um diagnóstico de linfoma e 31% deles afirmaram tratar os casos de células B e T de forma distinta. Além do mais, a imunofenotipagem mostrou que o diagnóstico pode ser alterado em até 20% dos casos com linfoma indolente o que permite

também modificar o prognóstico e as recomendações de tratamento, dado que certas formas (como o linfoma da zona T) poderiam ser tratadas de forma mais conservadora (REGAN, 2012; THALHEIM et al, 2013).

### **2.2.2. Tratamento e prognóstico**

Para que seja feita a escolha do tratamento adequado a ser realizado deve-se levar em consideração alguns fatores como: localização do tumor, classificação histológica, classificação imunofenotípica e estadiamento, pois cada um destes guardam informações relevantes acerca da neoplasia e sua gravidade. É também dividido em várias fases: indução, intensificação, manutenção e resgate. Na fase de indução serão administradas as doses mais altas com intervalos menores, além disso, é necessário o comparecimento do animal ao veterinário semanalmente para avaliação da neoplasia e dos valores hematológicos. A etapa de intensificação acontece se ao final da fase de indução não houver completa remissão do tumor e assim, recomenda-se a aplicação de L-asparaginase antes de iniciar a fase de manutenção. Na hipótese de o paciente obtenha remissão completa, a fase de manutenção é, em seguida, iniciada, sendo caracterizada pelo uso de doses menores e intervalo maior entre as sessões tendo como objetivo continuar com a melhora clínica. Em casos de não remissão da massa neoplásica, a estratégia de resgate é adotada. Aqui, há o uso agressivo de quimioterapia antineoplásica com o intuito de tentar, outra vez, a remissão (COUTO, 2000; COLLETTE et al, 2015).

Dentre os métodos de tratamento mais utilizados para o linfoma está a quimioterapia. Diversos protocolos são citados para o tratamento apresentando diferentes resultados, porém os mais utilizados são os baseados em quimioterapia combinada como a ciclofosfamida, vincristina, prednisolona/prednisona (COP) que é bem aceito em gatos onde, segundo Daleck et al. (2016), é esperado que 75% dos animais submetidos obtenham completa remissão da neoplasia, ou ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona/prednisona (CHOP), pois acredita-se que acrescentando doxorubicina melhora a chance de cura porém o período de remissão se torna mais longo em gatos. Ambos os protocolos são considerados de baixo custo e baixa toxicidade (DALECK et al., 2008, MORRIS & DOBSON, 2007). De acordo com Couto (2000), gatos tratados com múltiplos agentes devem viver de 6-9 meses, sendo que cerca de 20% destes animais vivem mais de um ano.

Outros meios de tratamento que podem ser utilizados são a cirurgia e a radioterapia, estes que podem ser realizados antes ou durante o tratamento quimioterápico geralmente para linfomas localizados (DALECK et al., 2008; MORRIS & DOBSON, 2007)

A radioterapia pode ser utilizada no tratamento de pacientes com nódulos isolados e não serve em casos de linfoma sistêmico, pois quando utilizado em uma vasta área corpórea pode levar a mielossupressão (MELEO, 1997; DALECK et al., 2008).

Outra alternativa a ser usada com fim terapêutico é a cirurgia. Este tipo de procedimento é realizado somente nos casos de linfoma classificados clinicamente no estágio I e II ou então em massas isoladas extranodais e geralmente ao final do tratamento quimioterápico. Além disso, é indicado para fins de caracterização morfológica, por exemplo, em alguns casos de linfoma mediastinal onde se precisa fazer coleta de material através da toracotomia para diagnosticar e posteriormente fazer exérese do tumor (DALECK et al., 2008; MORRIS & DOBSON, 2007).

A presença da neoplasia é capaz de gerar complicações distantes do tumor que podem envolver diversos sistemas do organismo podendo-se observar manifestação de sinais clínicos e alterações metabólicas ou endócrinas, trata-se da síndrome paraneoplásica. Geralmente está associada a um caráter maligno ou então indicam a presença de certo tipo de tumor. No linfoma, alguns sinais de síndrome paraneoplásica são identificados a saber: hipercalcemia, hipergamaglobulinemia, dor, desconforto, apatia e febre. Para isto, é importante a identificação destes sinais e assim intervenha com tratamento suporte imediato buscando a homeostasia. A hipercalcemia pode ocasionar lesão renal permanente e pode ser corrigido através da administração de fluidoterapia com cloreto de sódio (0,9%) em associação a diuréticos para que o animal elimine o cálcio pela urina como também a utilização de glicocorticoides. Medicamentos como analgésicos e antitérmicos também podem ser acrescentados (DALECK et al., 2008; MORRIS & DOBSON, 2007; WITHROW et al., 2013).

O prognóstico do linfoma está relacionado a fatores como: localização, classificação imunofenotípica, grau histológico, estadiamento, presença de distúrbios concomitantes relacionados à síndrome paraneoplásica e resposta à quimioterapia. De acordo com Daleck et al. (2008), o tempo de sobrevivência de gatos com linfoma vai até cerca de 8 meses, para os que obtêm remissão completa do tumor há aumento considerável na expectativa de vida, porém, devido as afecções causadas pela doença, animais soropositivos para FIV e FeLV possuem

prognóstico desfavorável mesmo obtendo inicialmente resposta eficaz à quimioterapia (DALECK et al., 2008; MORRIS & DOBSON, 2007).

### **3. RELATO DO CASO**

#### **3.1. Identificação, exame físico e exames complementares.**

Um felino, sem raça definida, macho, não castrado, com sete anos de idade, foi encaminhado para o atendimento oncológico na Clínica veterinária Cytus LTDA, medicina veterinária avançada, em João Pessoa- PB.

O tutor do animal notou um nódulo de crescimento lento na região da conjuntiva dorsal do olho direito. A partir daí realizou-se anamnese, exame físico (avaliação das mucosas, temperatura, ausculta cardíaca e respiratória, todos dentro da normalidade) e os exames complementares (hemograma, perfil bioquímico e citologia PAAF, no primeiro momento).

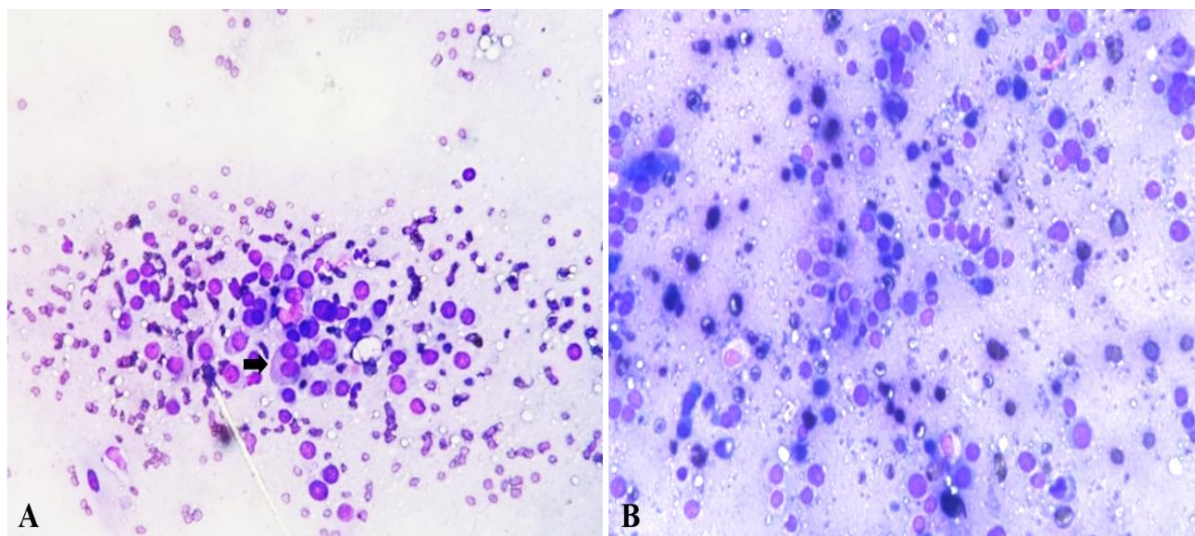
Na avaliação específica do olho, pode-se observar que este nódulo se apresentava com aproximadamente 2,0 cm de diâmetro, consistência firme, superfície irregular, ulcerado e coloração avermelhada (Figura 1). Importante ressaltar que na avaliação oftálmica não foi observada alterações corneanas. Nesse momento foi realizado estadiamento, através de exames de sangue, perfis bioquímicos, ultrassom abdominal, palpação dos linfonodos regionais e PAAF.



**Figura 1.** Figura 1. Linfoma conjuntival em felino. Notar nódulo avermelhado, firme e ulcerado na região da conjuntiva dorsal direita. Dia 1, durante atendimento clínico.

### 3.1.1 Punção aspirativa por agulha fina (PAAF)

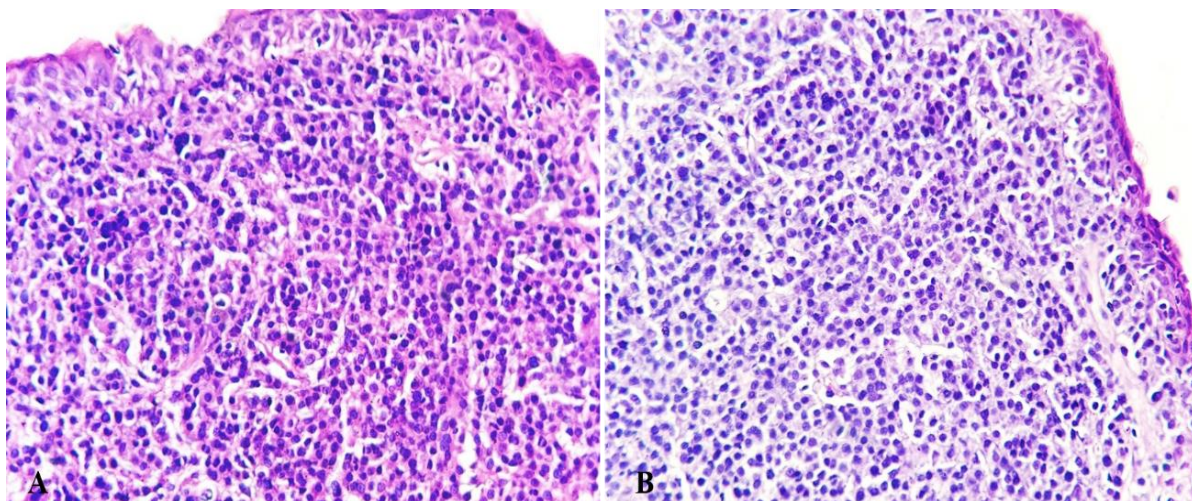
A Punção aspirativa por agulha fina evidenciou uma monotonia de células redondas de médio a pequeno porte com citoplasma escasso, núcleos com cromatina predominantemente condensada, excêntricos, raros nucléolos evidentes, moderada anisocitose, anisocariose e algumas células multinucleadas. Poucas figuras de mitoses foram observadas (1:3 campos de 40x). A partir desses achados, foi sugerida a possibilidade de uma neoplasia de células redondas a diferenciar de linfoma de baixo grau por meio da análise histopatológica (figura 2).



**Figura 2.** Linfoma conjuntival em felino. **A.** Verifica-se mostra moderadamente celular constituída por linfócitos atípicos, evidenciando-se multinucleação (seta) e anisocariose moderada. **B.** População de células redondas exibindo citoplasma escasso e núcleos excêntricos de cromatina condensada. Panótico rápido, Objetiva de 20x.

### 3.1.2 Exame histopatológico

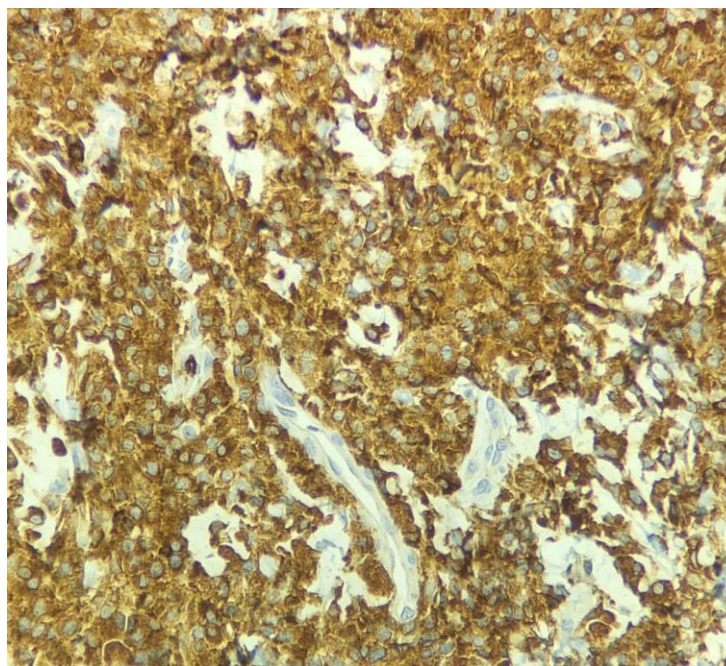
Neste exame observou-se epitélio de revestimento mucoso dentro dos padrões de normalidade. Em região subjacente foi possível ver severo infiltrado de linfócitos formando lençóis em alguns campos entremeados a tecido conjuntivo com discreta quantidade de colágeno subdividindo a neoplasia em nódulos. As células apresentam citoplasmas escassos. Os núcleos são arredondados, normocromáticos com nucléolos não evidentes. Figuras de mitoses são observadas com rara frequência. Em alguns campos observaram-se raras células multinucleadas sugerindo assim, linfoma linfocítico de baixo grau/ pequenas células (figura 3).



**Figura 3.** Linfoma conjuntival em felino, conjuntiva dorsal direita. A e B. Observa-se massa infiltrativa expansiva constituída por células monomórficas cujo citoplasma é escasso, núcleo arredondado e normocromático, com nucléolos não evidentes. Notar o delicado tecido conjuntivo dissecando as células neoplásicas, formando discretos lóbulos. Hematoxilina e Eosina, Objetiva 10x.

### 3.1.3 Marcadores imunohistoquímicos

Quanto ao exame imunohistoquímico, o resultado obtido foi de que as células neoplásicas imunoexpressaram CD3 e o perfil e morfologia favoreceram o diagnóstico de linfoma de imunofenótipo T. Não expressaram: CD79a; MUM1; C-Kit; Triptase e PAX5 (figura 4).



**Figura 4.** Núcleos basofílicos corados com hematoxilina de Harris; Células marcadas em castanho; indicando ligação do antígeno CD3 com o receptor TCR.

### 3.1.4 Avaliação hematológica e perfil bioquímico

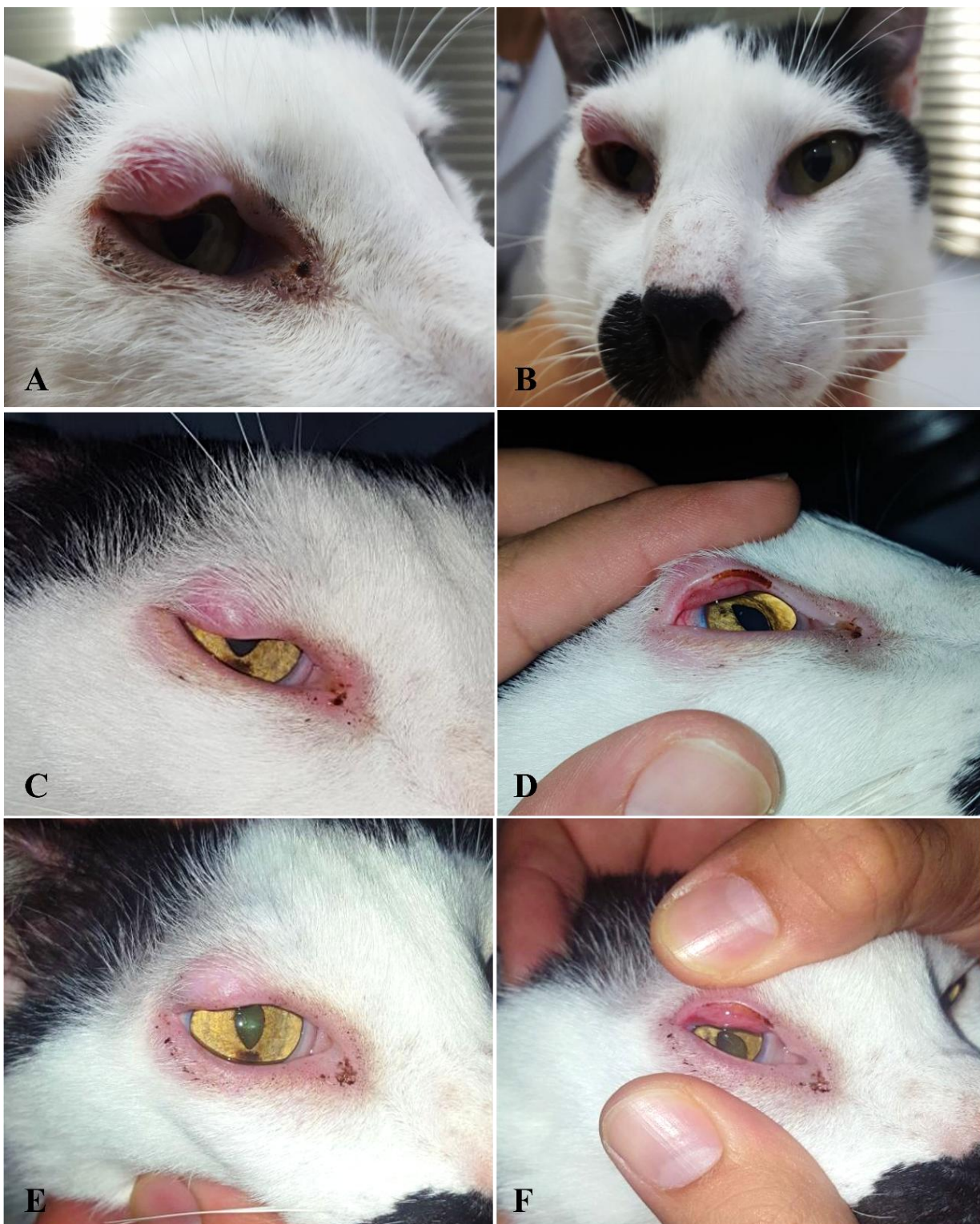
Para avaliação hematológica do paciente e devido ao caráter mielossupressivo dos quimioterápicos, antes de cada quimioterapia (QT) era realizado hemograma, assim como também, nas próximas sessões para acompanhamento quali-quantitativo dos padrões celulares sanguíneos, visto que a leucopenia é fator restritivo durante tratamento.

### 3.2. Tratamento

A partir do diagnóstico obtido foi instituída a terapia com o protocolo COP (quadro 2), por ser bem aceito na espécie felina e no intuito de tentar reduzir o tamanho do tumor ou até levar a sua remissão de forma mais rápida e a partir de um segundo momento manter o paciente em um tratamento de manutenção com Clorambucil (2mg/gato a cada 4 dias por VO) e Prednisolona (1-2 mg/kg a cada 48 horas realizando redução gradual da dose) por se tratar de um tratamento não agressivo, doses ponderadas, baixo risco de efeitos colaterais, acreditando ser também mais eficaz e adequado para linfomas de baixo grau como sugere o estudo de BARRS & BEATTY (2012) e ainda mais tolerado pelos felinos apesar de apresentar um curso longo se tratados apenas com estes dois medicamentos (figura 5).

**Quadro 2:** Protocolo COP (Ciclofosfamida, Vincristina, Prednisona). Baseado em: DALECK et al. (2016).  
\*Gatos: iniciar na dose de 2mg/kg. VO= via oral; IV= via intravenosa.

Semana de administração	Ciclofosfamid a 300mg/m <sup>2</sup> , VO ou IV	Vincristina 0,75 mg/m <sup>2</sup> , IV	Prednisona* 1 a 2 mg/kg, VO
<b>Indução</b>			
1°	X	X	X
2°		X	X
3°		X	X
4°	X	X	X



**Figura 5.** Quimioterapia à base de COP para linfoma em felino. **A e B.** Paciente após primeira sessão. Observa-se discreta regressão no volume tumoral. **C e D.** Paciente após terceira sessão. Verifica-se redução tanto do volume quanto do aspecto ulcerativo. **E e F.** Paciente após quarta sessão. Nota-se considerável redução da ulceração, volume tumoral e avermelhamento.

Para monitoramento laboratorial do paciente, durante todo o tratamento foram realizados hemogramas. Um primeiro hemograma foi feito antes do início da quimioterapia para avaliar os valores hematológicos, estes que se apresentaram dentro da normalidade.

O segundo hemograma (25/07/2018: após primeira sessão de QT) apresentou série vermelha e branca dentro da normalidade. Na hematoscopia as células se apresentaram morfológicamente normais, porém observou-se anisocitose acentuada em hemácias e plaquetas. O animal estava com hipeproteïnemia = 9 g/dl (6,0 – 8,0 g/dl).

Nos terceiro hemograma (01/08/2018: após segunda sessão de QT), no eritrograma, os níveis de hemoglobina, hematócrito e volume corpuscular médio (VCM), estavam acima dos valores esperados. Os leucócitos totais estavam dentro dos valores de referência. Foi realizado, também, o exame de bioquímica sérica, neste, a ureia, creatinina e alanina aminotransferase (ALT), estavam dentro dos valores de referência, porém a fosfatase alcalina estava acima: 87,6 UI/L (7,0 – 80,0 UI/L).

No quarto hemograma (08/08/2018: após a terceira sessão de QT) os valores do eritrograma estavam dentro dos valores de referência, porém, no leucograma observaram-se leucócitos totais abaixo dos valores de referência: 3.000  $\mu$ L (5.500 – 19.500  $\mu$ L) e devido a isto, foi necessário uma pausa na quimioterapia até que estes valores se normalizassem.

Após sete dias (15/08/2018), foi realizado um hemograma para avaliar se o leucograma havia sido regularizado. Nisto, observou-se um retorno para dentro dos valores de referência.

No dia 03 de setembro, outro hemograma foi requerido, e novamente houve leucopenia onde os leucócitos totais estavam de 3.800  $\mu$ L (5.500 – 19.500  $\mu$ L).

Devido à leucopenias subsequentes, apatia, discreta anorexia do paciente e questão financeira do tutor foi instituída a terapia de manutenção antes mesmo da remissão completa da neoplasia. Nesse momento o paciente ficou 25 dias sem quimioterapia aguardando a medicação, além disso, a tutora relatou que a medicação não chegou ao acondicionamento adequado. No primeiro retorno após o início da terapia de manutenção (30 dias após o início da primeira administração do Clorambucil e Prednisolona) foi observado aumento considerável do tamanho do tumor (Progressão tumoral).

A partir daí foi novamente instituído a terapia com o COP, tendo em vista que o aumento do tumor poder estar associado ao tempo que o paciente ficou sem quimioterapia, a medicação não ter tido o efeito desejado devido à falta do acondicionamento adequado e a resposta inicial ao protocolo COP ter sido parcialmente efetiva. Os resultados obtidos

mediante o retorno ao protocolo COP ainda estão em andamento, visto que o paciente passou pela 3ª sessão de quimioterapia com a Vincristina no dia 07.11.2018 (figura 6)



**Figura 6.** Resposta à quimioterapia para linfoma em felino. **A.** Retorno 30 dias após quimioterapia de manutenção com Clorambucil e Prednisolona. Notar retorno da ulceração, avermelhamento e aumento de volume da massa. **B-D.** Avaliação do tumor após retorno ao protocolo COP.

#### 4. DISCUSSÃO

O linfoma é uma neoplasia caracterizada pela proliferação de células linfocíticas malignas e é considerada uma das mais frequentes em felinos. Neste relato, foi abordado um caso de linfoma conjuntival de baixo grau em um gato definido clinicamente como sendo extranodal por ter origem em um local que não são os linfonodos. Linfomas conjuntivais raramente são descritos em gatos, uma possível causa para o aparecimento de neoplasias em tal local pode ser devido à presença de capilares do sistema linfático, células linfoides, além de se constituir um tecido linfoide associado à mucosa (MALT) (DALECK et al., 2008; TAYLOR et al., 2009; SHIELDS et al, 2001; GIONFRIDDO et al, 2008). Neste paciente, observou-se que não houve envolvimento sistêmico posterior ao tumor na conjuntiva, pois, através da histopatologia, foi diagnosticado como sendo de baixo grau que possui uma taxa reduzida de proliferação celular, e células de tamanho menor, além de ser caracterizado como indolente (ARAÚJO et al., 2008). É importante ressaltar também que o local onde uma neoplasia se

encontra fornece um importante indicativo para ocorrência de linfoma sistêmico, onde, segundo Shields et al. (2001), em seu estudo com linfoma conjuntival em humanos, afirmou que em 80% dos casos no seu resultado, tais pacientes não obtiveram envolvimento sistêmico sendo estes também em sua maioria do tipo celular de baixo grau.

Para que seja feita a avaliação individual microscópica destas células da neoplasia, torna-se necessária a coleta de amostra do tumor através de exames citológicos e histopatológicos sendo um dos meios mais eficazes para obter tais informações a PAAF que além de ser pouco invasiva, permite caracterização da morfologia celular e do seu núcleo, distribuição dos nucléolos, fornece um diagnóstico rápido e usualmente suficiente por causa da identificação da presença de células monomórficas sem polimorfismo em uma determinada população reativa e assim apresenta poucas chances de resultados falso-negativo (DALECK et al., 2008; JERICÓ, et al., 2017; MORRIS & DOBSON, 2007; BARROS et al, 2013; PAVEL et al, 2016; COWELL et al, 2009). De acordo com Cowell (2009) e com Stockham (2016), citologicamente a neoplasia linfoide maligna pode ser diagnosticada quando há presença de uma única população de linfócitos que substituem as células normais, se apresentando como atípicos estes que quando compõem >50% da população das células asseguram um diagnóstico seguro. Comumente, na microscopia, os linfócitos neoplásicos apresentam-se em tamanhos maiores que os neutrófilos com cromatina finamente granular dispersa, nucléolos e relação núcleo-citoplasma menor e citoplasma basofílico, além disso, pode-se observar, eventualmente, linfócitos pequenos bem diferenciados sendo as figuras de mitose muito raras.

Em Linfoma linfocítico de acordo com um estudo realizado com o intuito de classificar citologicamente linfomas caninos, foi observado na microscopia células pequenas com núcleos redondos e pequenos onde a cromatina se apresentava com um denso padrão, não se observava nucléolos e o citoplasma, escasso (COWELL et al., 2009; SUZANO, 2010). Neste relato, foram encontradas uma monotonia de células redondas de médio a pequeno porte, células com citoplasmas escassos, núcleos arredondados com cromatina condensada e excêntricos, normocromáticos com nucléolos não evidentes assim como figuras de mitose com rara frequência e em alguns campos observou-se raras células multinucleadas. Tais alterações são símeis com as alterações propostas acima tanto pela literatura (COWELL et al, 2009) quanto pelo estudo abordado realizado por Suzano (2010) e assim há proposição de uma neoplasia de células redondas com características morfológicas que sugerem linfoma de pequenas células tumorais. É importante salientar que nem todos os linfomas são idênticos, pois podem variar de acordo com a sua origem e local de desenvolvimento onde sucedeu a

sua expansão clonal resultando em características citomorfológicas distintas (COWELL et al, 2009).

Diferente da classificação citológica que se baseia em sua maioria nos aspectos do núcleo como tamanho, forma e padrão da cromatina e tamanho do nucléolo, a classificação histológica é definida de acordo com a arquitetura da amostra tecidual, forma celular e taxa de mitose (PAVEL et al., 2016). Porém, assim como na preparação citológica, o linfoma é caracterizado por população monomórfica de linfócitos morfológicamente atípicos que substitui uma parcela ou totalmente o arcabouço tecidual normal, estes que quando observados células bem pequenas, bem diferenciadas e com taxas mitóticas baixas são definidos como sendo de baixo grau, (MCGAVIN et al., 2009) como pode ser observado em um estudo no qual se fundamentou na revisão da histologia de 602 felinos com linfoma, onde nos casos semelhantes ao deste relato, os linfomas de baixo grau apresentaram menor frequência de mitoses e uma menor incidência de necrose e mais especificamente, os linfomas linfocíticos de células pequenas (segundo a NCIWF), como ocorreu também com o gato do presente caso, observaram-se citoplasma escasso, cromatina compacta, cromocentros grandes e densos, sem nucléolos e pouquíssimas mitoses (VALLI et al., 2000). Para obter o diagnóstico absoluto de linfoma de pequenas células geralmente requisita histopatologia (TWOMEY & ALLEMAN, 2005). O resultado enviado pelo laboratório constatou que, no exame histológico do paciente deste relato, observou-se severo infiltrado de linfócitos formando lençóis em alguns campos entremeados a tecido conjuntivo, o que indica que houve mudança na arquitetura tecidual, os citoplasmas celulares se mostraram escassos. Os núcleos são arredondados, normocromáticos com nucléolos não evidentes e figuras de mitoses observadas com rara frequência além de raras células multinucleadas em alguns campos, sendo estas alterações análogas com as citadas pela literatura e pelo estudo citados.

Além dos exames citológicos e histopatológicos, para fornecer informações prognósticas, o médico veterinário pode requerer o exame de imunohistoquímica que se utiliza de anticorpos para marcar antígenos (CD) presentes na superfície das células onde o CD3 marca as células T e CD79, células B, indicando de onde tal tumor linfoide é advindo (GIONFRIDDO et al., 2008; TWOMEY & ALLEMAN, 2005). Neste relato, o perfil imunohistoquímico e morfológico favoreceram o diagnóstico de linfoma conjuntival linfocítico de imunofenótipo T, pois as células neoplásicas imunoexpressaram o antígeno CD3, e se mostraram negativos para CD79a, MUM1, C-Kit, Triptase e PAX5. O linfoma de imunofenótipo B é o mais comum entre os cães e gatos e o prognóstico para imunofenótipo T

é desfavorável com tempo de remissão e sobrevidas menores. No entanto, em gatos, a imunofenotipagem não possui um poder prognóstico significativo como observado em cães ou humanos, sendo o estado retroviral, localização anatômica e resposta inicial ao tratamento, indicadores mais seguros (DALECK et al., 2008; TWOMEY & ALLEMAN, 2005; GIONFRIDDO et al., 2008).

Embora diversos autores cite que em pacientes com diagnóstico de linfoma podem ser observadas alterações no hemograma em decorrência de disfunções causadas pelo tumor como destruição imunomediada das células, sequestro esplênico e assim, anemia, trombocitopenia, neutropenia, linfocitose ou presença de linfócitos atípicos, neste caso no primeiro hemograma realizado não houve anormalidades. Uma hipótese para isto é que neste animal ainda não havia comprometimento da medula óssea devido ao linfoma como pode ocorrer em pacientes em estágio V, a hematopoiese estava estável (DALECK et al., 2008; MORRIS & DOBSON, 2007; JERICÓ et al., 2017).

O aumento observado de proteína total em um hemograma pode resultar aumento nas concentrações de albumina ou de globulinas. No linfoma, a hiperproteïnemia é uma disfunção paraneoplásica observada devido ao aumento de gamaglobulinas produzidos em sua maioria por células linfoides neoplásicas B que sintetizam excessivamente imunoglobulina monoclonal ou subunidade da imunoglobulina. No segundo hemograma realizado no paciente, foi possível observar que as proteínas plasmáticas totais estiveram no valor de 9,0 g/dL (6,0 – 8,0 g/dl) indicando hiperproteïnemia. Não é possível saber ao certo se a causa deste aumento de proteína é devido ao acontecimento de uma síndrome paraneoplásica, pois este aumento não é tão significativo e o linfoma do caso se trata de uma neoplasia de células T, o que diminui a chance, já que primordialmente são células B que promovem tal distúrbio. Uma possível causa para tal alteração pode ser a presença da inflamação no local da neoplasia que também estimula a síntese de certas globulinas (STOCKHAM et al., 2016; THRALL et al., 2006; DALECK et al., 2008).

Durante episódios de dor, estresse ou exercício intenso, ocorre contração do baço em decorrência da liberação de epinefrina e, por conseguinte, hemácias são liberadas para circulação levando a hemoconcentração e aumento dos valores sanguíneos. Este evento denomina-se eritrocitose relativa (JERICÓ et al., 2017; THRALL et al., 2006). Devido à dor ou a maior suscetibilidade de estresse no qual os felinos são predispostos durante uma coleta de sangue, o animal deste caso apresentou, no terceiro hemograma, valores sanguíneos aumentados. Aponta-se para que seja uma eritrocitose relativa a causa desta alteração, pois,

pelo contrário, como citado anteriormente, o linfoma pode desenvolver anemia (DALECK et al., 2008).

Os medicamentos quimioterápicos intervêm na síntese do material genético ou multiplicação celular. No entanto esta ação não se dá somente nas células neoplásicas, mas também, nas células normais do organismo onde há maior predisposição a sofrer este efeito aquelas que estão em constante mitose como as da medula óssea que possui células denominadas de “stem cell” encarregadas pela produção dos componentes sanguíneos (eritrócitos, plaquetas, monócitos, granulócitos e linfócitos). Neste relato, dois hemogramas (dos dias 15/08 e 03/09) apresentaram baixa de leucócitos. O paciente estava sendo submetido ao tratamento COP e quando se trata de uma poliquimioterapia, há efeitos tóxicos maiores sobre a medula óssea exigindo do médico veterinário atenção especial ao paciente oncológico submetido a tal tratamento, pois a leucopenia é um fator secundário importante e limitante na terapia antineoplásica. A vincristina tem o poder de agir na formação do fuso mitótico especificamente nos microtúbulos e proteínas do fuso, com isso a metáfase não é concluída, já a ciclofosfamida possui efeitos tóxicos à célula, o que inclui leucopenia devido ao seu poder citostático inespecífico e a prednisona se liga a receptores no citoplasma impedindo a síntese de DNA. De acordo com um estudo experimental realizado com pacientes submetidos ao tratamento COP, a dose, tempo entre as sessões e de exposição ao agente antineoplásico se constituem causas significativas de citopenias indesejáveis, refletindo na produção dos elementos sanguíneos (FARO et al., 2009; ALLEMAN & HARVEY, 1993).

Além dos fatores citados acima acerca dos quimioterápicos, outro desafio com tais medicamentos é quanto à resistência que diversos tumores podem expressar a eles ocorrendo eventualmente na maioria das neoplasias hematológicas e se constitui um problema significativo que tem limitado criticamente o resultado dos tratamentos contra o câncer. Vários fatores podem ser responsáveis por este evento como alterações genéticas, alterações no metabolismo das drogas, expressão de genes reguladores da apoptose, entre outros (SUI et al., 2013; MARIE et al., 2001; POMMIER, et al., 2004; DALECK et al., 2008). Neste caso, inicialmente o paciente foi submetido ao tratamento com COP, no entanto, obteve-se baixa resposta à terapia. Um indício para não obtenção de êxito no decorrer do tratamento pode ser devido a resistência à múltiplas drogas (RMD) como já foi observado em linfomas em humanos e animais (YUEN & SIKIC, 1994; MOORE et al., 1995) caracterizada pela expressão ativa da glicoproteína-P (ou superexpressão do gene MDR1), proteína transmembrana que proporciona resistência a drogas em células neoplásicas de mamíferos e

assim ausência de resposta aos quimioterápicos. Vários fatores estão relacionados ao mecanismo de ação do RMD como transporte da droga pela membrana celular, alteração nas enzimas-alvo, aumento no reparo do DNA como também promove inabilidade de apoptose (HUBER et al., 2010; DALECK et al., 2008).

Posteriormente, o protocolo quimioterápico foi alternado para a fase de manutenção com Clorambucil e Prednisolona. Porém ao retorno após 30 dias de tratamento para avaliação pelo médico veterinário observou-se aumento tumoral. Esta progressão pode ter ocorrido pelo tempo sem quimioterapia que o animal ficou sujeito pelo fato do proprietário não ter encontrado o medicamento e o paciente ter ficado cerca de 25 dias sem a terapia, ou também pelo mau acondicionamento do Clorambucil contribuindo para inefetividade da terapia antineoplásica. A terapia com o COP foi retomada e está em avaliação visto que se constituem quimioterápicos eficazes. Espera-se permanecer com este protocolo para tentar regredir o tumor parcial ou completamente, e possivelmente submeter o animal a cirurgia. Conforme GIONFRIDDO et al. (2008), em seu relato com um linfoma conjuntival em um gato recomendou-se realizar também radioterapia, uma vez que as células do linfoma são sensíveis à radiação e a radioterapia pode ser um método eficaz para formas localizadas.

## 5. CONCLUSÃO

O linfoma é uma neoplasia frequentemente diagnosticada em felinos, no entanto, a forma conjuntival é rara. Devido a isto, o presente trabalho retrata a importância do estudo da oncologia e dos meios utilizados por esta área para se chegar ao diagnóstico precoce e definitivo destacando-se aqui a citologia por aspiração com agulha fina, exame histopatológico através de biópsia e exame imunohistoquímico. Conseqüentemente um tratamento correto e eficaz é realizado tendo como resultado melhoria do prognóstico e garantindo o bem estar do paciente com linfoma.

## REFERÊNCIAS

- ALLEMAN, A. R., & HARVEY, J. W. (1993). The morphologic effects of vincristine sulfate on canine bone marrow cells. **Veterinary clinical pathology**, 22(2), 36-41.
- AL-NAEEB, A. B., AJITHKUMAR, T., BEHAN, S., & HODSON, D. J. (2018). **Non-Hodgkin lymphoma**. *BMJ*, 362, k3204.
- ARAÚJO, L. H. L., VCTORINO, A. P. O. S, MELO, A. C., ASSAD, D. X., LIMA, D. S.,ALENCAR, D. R., ... & PEREIRA, B. D. S. V.. (2008). Linfoma não-Hodgkin de alto grau-Revisão da literatura. **Revista brasileira de cancerologia**, v. 54, n. 2, p. 175-183.
- ARMITAGE, J. O., GASCOYNE, R. D., LUNNING, M. A., & CAVALLI, F. (2017). **Non-hodgkin lymphoma**. *The Lancet*, 390(10091), 298-310.
- BARRS, V., & BEATTY, J. (2012). Feline alimentary lymphoma: 2. Further diagnostics, therapy and prognosis. **Journal of feline medicine and surgery**, 14(3), 191-201.
- BERTONE, E. R.; SNYDER, L. A.; MOORE, A. S. (2002) Environmental tobacco smoke and risk of malignant lymphoma in pet cats. **American journal of epidemiology**, v. 156, n. 3, p. 268-273.
- BURR, H. D., KEATING, J. H., CLIFFORD, C. A., & BURGESS, K. E. (2014). Cutaneous lymphoma of the tarsus in cats: 23 cases (2000–2012). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 244(12), 1429-1434.
- COLLETTE, S. A., ALLSTADT, S. D., CHON, E. M., VERNAU, W., SMITH A. N., GARRETT, L. D., ... & SKORUPKI, K. A. (2016). Treatment of feline intermediate- to high- grade lymphoma with a modified university of Wisconsin–Madison protocol: 119 cases (2004–2012). **Veterinary and comparative oncology**, 14, 136-146.
- COUTO, C. G., & NELSON, R. W. (2010). **Medicina interna de pequenos animais**. Elsevier.
- COUTO, C. G. (2000). Advances in the treatment of the cat with lymphoma in practice. **Journal of feline medicine and surgery**, 2(2), 95-100.
- COWELL, R. L., TYLER, R. D., MEINKOTH, J. H., & DENICOLA, D. B. (2009). Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos. *São Paulo: Med Vet*.

DAGLI, M. L. Z. Oncologia veterinária. In: JERICÓ, M. M., KOGIKA, M. M., & DE ANDRADE NETO, J. P. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Local: Rio de Janeiro, Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2015. p. 478-525.

DALECK, R. C., CALAZANS G. S., NARDI, A. B. Linfomas. In: DALECK, C. R., NARDI, A. D., RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo, Roca, 2008. cap 31, p 481-502.

DUBIELZIG, R. R., KETRING, K. L., McLELLAN, G. J., & ALBERT, D. M. (2010). **Veterinary Ocular Pathology E-Book: A Comparative Review**. Elsevier Health Sciences.

EDGE, S. B., & COMPTON, C. C. (2010). The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. **Annals of surgical oncology**, 17(6), 1471-1474.

FABRIZIO, F., CALAM, A. E., DOBSON, J. M., MIDDLETON, S. A., MURPHY, S., TAYLOR, S. S., ... & STELL, A. J. (2014). Feline mediastinal lymphoma: a retrospective study of signalment, retroviral status, response to chemotherapy and prognostic indicators. **Journal of feline medicine and surgery**, 16(8), 637-644.

FARO, A. M., DALECK, C. R., SANTANA, A. E., NARDI, A. B., MOTTA, F. R., & EURIDES, D. (2009). Avaliação hematológica em cães submetidos ao tratamento quimioterápico com sulfato de vincristina, prednisona e ciclofosfamida. Estudo experimental. **Ars Veterinaria**, 24(1), 01-08.

FEDER, B. M., & HURVITZ, A. I. (1990) Feline immunodeficiency virus infection in 100 cats and association with lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 4, n. 2.

FERRY, J. A. (2008) Extranodal lymphoma. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 132, n. 4, p. 565-578.

FRY, M. M., MCGAVIN, M. D. Medula óssea, células sanguíneas e sistema linfático. In: MCGAVIN, M. D., ZACHARY, M. D. **Bases da patologia e veterinária**. Rio de Janeiro, Elsevier, 2009. cap.13, p 798-802.

GERARDI, G. D. Mecanismo de resistência aos quimioterápicos. In: DALECK, C. R., NARDI, A. D., RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo, Roca, 2008. cap 10, p 180-190.

GIONFRIDDO, J. R., TANCREDI-BALLUGERA, F., GARDINER, D., & EHRHART, E. J. (2008) challenging case: Conjunctival lymphoma in a cat. **Veterinary medicine**.

GOMES, S. G. R. Hematologia e doenças imunomediadas. In: JERICÓ, M.M., NETO, J. P. A., KOGICA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2017. Cap.20, p. 1842-1869.

HOLT, E.; GOLDSCHMIDT, M. H.; SKORUPSKI, K. (2006) Extranodal conjunctival Hodgkin's- like lymphoma in a cat. **Veterinary ophthalmology**, v. 9, n. 3, p. 141-144.

HUBER, P. C., MARUIAMA, C. H., & ALMEIDA, W. P. (2010). Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química Nova**.

IGNEY, F. H.; KRAMMER, P. H. (2002) Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 4, p. 277.

LASSEN, E. D. Avaliação laboratorial das proteínas do plasma. In: THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo, Roca, 2006. cap. 26, p 376-390.

LOUWERENS, M., LONDON, C. A., PEDERSEN, N. C., & LYONS, L. A. (2005). Feline lymphoma in the Post—Feline leukemia virus era. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 19(3), 329-335.

LU, P. Staging and classification of lymphoma. In: **Seminars in nuclear medicine**. WB Saunders. (2005). p. 160-164.

MARIE, J. P. (2001). Drug resistance in hematologic malignancies. **Current opinion in oncology**, 13(6), 463-469.

MCCOWAN, C., MALCOLM, J., HURN, S., O'RAILLY, A., HARDMAN, C., & STANLEY, R. (2014) Conjunctival lymphoma: immunophenotype and outcome in five dogs and three cats. **Veterinary ophthalmology**, v. 17, n. 5, p. 351-357.

MELEO, K. A. (1997). The role of radiotherapy in the treatment of lymphoma and thymoma. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, 27(1), 115-129.

MOURA, V. M. B. D. D. (2000). Classificação citohistológica e imunofenotipagem dos linfomas caninos (Doctoral dissertation, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Campus de Botucatu. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia).

MOORE, A. S., LEVEILLE, C. R., REIMANN, K. A., SHU, H., & ARIAS, I. M. (1995). The expression of P-glycoprotein in canine lymphoma and its association with multidrug resistance. **Cancer investigation**, 13(5), 475-479.

MORRIS, J., DOBSON, J. (2007). **Oncologia em pequenos animais**. Editora Roca.

NERSCHBACH, V., EULE, J. C., EBERLE, N., HÖINGHAUS, R., & BETZ, D. (2016). Ocular manifestation of lymphoma in newly diagnosed cats. **Veterinary and comparative oncology**, *14*(1), 58-66.

OKIKIOLU, J., & McNAMARA, C. (2015). Lymphoid neoplasms. **Hematology (Amsterdam, Netherlands)**, *20*(3), 182.

OLBERTZ, L., LIMA, L., LANGOHR, I., WERNER, J., TEIXEIRA, L., & MONTIANI-FERREIRA, F. (2013). Supposed primary conjunctival lymphoma in a dog. **Veterinary ophthalmology**, *16*, 100-104.

OLIVEIRA, P. A., COLAÇO, A., CHAVES, R., GUEDES-PINTO, H., DE-LA-CRUZ, P., LUIS, F., & LOPES, C. (2007). Chemical carcinogenesis. **Anais da academia brasileira de ciências**, *79*(4), 593-616.

PAVEL, G., MĂLĂNCUȘ, R., & CONDREA, M. (2016). Fine Needle Aspiration Cytology (FNAC) of Neoplasms in Dogs and Cats, with Emphasis on Differential Diagnosis-A Retrospective Study. **Bulletin UASVM Veterinary Medicine**, *73*, 1.

POMMIER, Y., SORDET, O., ANTONY, S., HAYWARD, R. L., & KOHN, K. W. (2004). Apoptosis defects and chemotherapy resistance: molecular interaction maps and networks. **Oncogene**, *23*(16), 2934.

RADI, Z. A.; MILLER, D.L.; HINES, M. E. (2004). B- cell conjunctival lymphoma in a cat. **Veterinary ophthalmology**, v. 7, n. 6, p. 413-415.

RAMCHANDREN, R., Jazaerly, T., BLUTH, M. H., & GABALI, A. M. (2018). Molecular Diagnosis of Hematopoietic Neoplasms: 2018 Update. **Clinics in laboratory medicine**, v. 38, n. 2, p. 293-310.

RIBEIRO, L. R., SALVADORI, D. M. F., & MARQUES, E. K. (2003). **Mutagênese ambiental**. Canoas: ed. ULBRA.

RICHTER, K. P. (2003) Feline gastrointestinal lymphoma. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 33, n. 5, p. 1083-98, vii.

RODASKI, S. PIEKARZ, C. H. Epidemiologia e etiologia do câncer. In: DALECK, C. R., NARDI, A. D., RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo, Roca, 2008. cap 1, p 1-21.

RODASKI, S. PIEKARZ, C. H. Biologia do câncer. In: DALECK, C. R., NARDI, A. D., RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo, Roca, 2008. cap.2, p 1-21.

SALVADO, I. S. D. S. (2010). Estudo retrospectivo das neoplasias em canídeos e felídeos domésticos, analisadas pelo laboratório de anatomia patológica da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, no período compreendido entre 2000 e 2009 (Bachelor's thesis, Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária).

SÁNCHEZ-BEATO, M.; SÁNCHEZ-AGUILERA, A.; PIRIS, M. A. (2003) Cell cycle deregulation in B-cell lymphomas. **Blood**, v. 101, n. 4, p. 1220-1235.

SATO, H., FUJINO, Y., CHINO, J., TAKAHASHI, M., FUKUSHIMA, K., GOTO-KOSHINO, Y., ... & TSUJIMOTO, H. (2014). Prognostic analyses on anatomical and morphological classification of feline lymphoma. **Journal of Veterinary Medical Science**, 76(6), 807-811.

SCHMIDT J. M., NORTH, S. M., FREEMAN, K. P., & RAMIRO-ILBAÑEZ, F. (2010). Feline paediatric oncology: retrospective assessment of 233 tumours from cats up to one year (1993 to 2008). **Journal of Small Animal Practice**, 51(6), 306-311.

SHIELDS, C. L., SHIELDS, J. A., CARVALHO, C., RUNDLE, P., & SMITH, A. F. (2001) Conjunctival lymphoid tumors: clinical analysis of 117 cases and relationship to systemic lymphoma. **Ophthalmology**, v. 108, n. 5, p. 979-984.

SIMETTE, R. L., SASSI, L. M., MACHADO, R. A., GUEBUR, M. I., DISSENHA, J.

L., CERVANTES, O., ... & ABRÃO, D. (2007). Linfoma de Burkitt. **Rev. bras. cir. cabeça pescoço (Impr.)**, 36(1), 53-55.

STOCKHAM, S.L., & SCOTT, M.A. (2016). Fundamentos de patologia clínica veterinária. *Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap, 6, 300.*

SUI, X., CHEN, R., WANG, Z., HUANG, Z., KONG, N., ZHANG, M., ... & WANG, X. (2013). Autophagy and chemotherapy resistance: a promising therapeutic target for cancer treatment. **Cell death & disease**, 4(10), e838.

SUZANO, S. M. D. C., SEQUEIRA, J. L., ROCHA, N. S., & PESSOA, A. W. D. P. (2010). Classificação citológica dos linfomas caninos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 47-54.

TAYLOR, S. S., GOODFELLOW, M. R., BROWNE, W. J., WALDING, B., MURPHY, S., TZANNES, S., ... & DOBSON, J. M. (2009). Feline extranodal lymphoma: response to chemotherapy and survival in 110 cats. **Journal of Small Animal Practice**, 50(11), 584-592.

TERRA, J. P., COSTA, M. M. D., LOBO, M. H. D. S., BONFIM, L. S., & MIGUEL M. P. (2015). Diagnóstico anatomopatológico de linfoma mediastínico, aelurostrongilose e platinosomose em um felino.

THALHEIM, L., WILLIAMS, L. E., BORST, L. B., FOGLE, J. E., & SUTER, S. E. (2013). Lymphoma immunophenotype of dogs determined by immunohistochemistry, flow cytometry, and polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangements. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 27, n. 6, p. 1509-1516.

THRALL, M. A., (2007). **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Editora Roca.

TOMÉ, T. L. S. (2010). Linfoma em felinos domésticos. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária.

TWOMEY, L. N., & ALLEMAN, A. R. (2005). Cytodiagnosis of feline lymphoma. **Compendium**, 27, 17-32.

VALLI, V. E., JACOBS, R. M., NORRIS, A., COUTO, C. G., MORRISON, W. B., MCCAWE, D., ... & MOORE, A. (2000). The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute working formulation. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 12(4), 295-306.

WEISER, G., THRALL, M. A. Considerações sobre leucócitos e leucograma. In: THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo, Roca, 2006. cap. 10, p 118-139.

WITHROW S. J., PAGE, R., & VAIL, D. M. (2013). **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology-E-Book**. Elsevier Health Sciences.

YUEN, A. R., & SIKIC, B. I. (1994). Multidrug resistance in lymphomas. **Journal of clinical oncology**, 12(11), 2453-2459.

ZANDVLIET, M. (2016) Canine lymphoma: a review. **Veterinary Quarterly**, v. 36, n. 2, p. 76-104.