VIVIANA MOLERO BARRIGA

Avaliação citológica, histológica e imunoistoquímica do
linfoma alimentar em felinos domésticos

São Paulo

2013

VIVIANA MOLERO BARRIGA

**Avaliação citológica, histológica e imunoistoquímica do
linfoma alimentar em felinos domésticos**

São Paulo

2013

VIVIANA MOLERO BARRIGA

Avaliação citológica, histológica e imunoistoquímica do linfoma alimentar em felinos domésticos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de Concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Archivaldo Reche Junior

São Paulo

2013

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2822
FMVZ

Barriga, Viviana Molero
Avaliação citológica, histológica e imunistoquímica do linfoma alimentar em felinos
domésticos / Viviana Molero Barriga. – 2013.
87 f. : IL

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2013.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Archivaldo Reche Júnior.

1. Gatos. 2. Linfoma alimentar felino. 3. Imunistoquímica. I. Título.

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação cito, histológica e imunoistoquímica do linfoma alimentar em gatos.", protocolado sob o nº 2406, utilizando 40 (quarenta) gatos, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Archivaldo Reche Júnior, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 21/9/2011.

We certify that the Research "Cytological, histopathological and immunohistochemical evaluation of feline alimentary lymphoma", protocol number 2406, utilizing 40 (forty) cats, under the responsibility Prof. Dr. Archivaldo Reche Júnior, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 9/21/2011.

São Paulo, 21 de setembro de 2011.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: BARRIGA, Viviana Molero

Título: Avaliação citológica, histológica e imunoistoquímica do linfoma alimentar em felinos domésticos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: __/__/2013

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

A Deus por tornar possível a realização de mais esse objetivo em minha vida.

Aos meus pais Neusa e Mário, com gratidão pelo exemplo de força, trabalho e sucesso; por sempre acreditarem em mim; e por todo apoio, considerado por mim imprescindível para a concretização desse objetivo.

À minha irmã Tatiana, com gratidão pelo exemplo, incentivo e pela confiança e valorização de meu trabalho.

Ao meu noivo Anderson, com carinho e gratidão, pela companhia, paciência e apoio ao longo do período de elaboração desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado para que fosse possível minha dedicação a essa pesquisa.

Ao meu orientador professor Archivaldo pela oportunidade de realização desse trabalho, pela orientação, paciência, e por todos conhecimentos transmitidos sobre a espécie felina.

A todo corpo de médicos veterinários e funcionários da clínica Vetmaster pela atenção e paciência durante os dias de coleta de dados necessários para esse trabalho, em especial a Mariana, Maria Carolina, Lilia, Deriana, Militão e Luana.

A todos os professores e funcionários tanto do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo pelo convívio e aprendizagem durante o decorrer desse curso de mestrado.

A todos meus amigos, em especial à Adriana e Fernanda pela companhia, apoio, auxílio, incentivo e motivação em todos os momentos no decorrer dessa nossa jornada.

Aos amigos Hélio e Carolina (CVAP) por se mostrarem prontamente solícitos em me auxiliar em pontos críticos no desenvolvimento desse trabalho.

Aos nossos amigos animais que tornam nossa vida mais leve e bonita; aos nossos mascotes pelo companheirismo e aos pacientes felinos e caninos pelo aprendizado que nos proporcionam sempre.

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado” - *Roberto Shinyashiki*

“De todas as criaturas de Deus, somente uma não pode ser castigada. Essa é o gato. Se fosse possível cruzar o homem com o gato, melhoraria o homem, mas pioraria o gato.”
Mark Twain

RESUMO

BARRIGA, V. M. **Avaliação citológica, histológica e imunoistoquímica do linfoma alimentar em felinos domésticos**. [Cytological, histopathological and immunohistochemical evaluation of feline alimentary lymphoma]. 2013. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

O linfoma alimentar é a forma anatômica mais frequente nos felinos e é o tipo de neoplasia que mais acomete o intestino delgado nessa espécie. É caracterizado pela infiltração de células linfóides neoplásicas em órgãos do trato gastrointestinal, com ou sem comprometimento de linfonodos mesentéricos. Seu diagnóstico pode ser considerado desafiador em muitos casos, devido às manifestações clínicas muitas vezes inespecíficas e às limitações da citologia e histopatologia. A imunoistoquímica, embora ainda pouco difundida, pode ser utilizada para confirmar o diagnóstico de linfoma alimentar, bem como determinar o tipo celular predominante. Objetivando-se caracterizar o linfoma alimentar felino, foi realizado estudo utilizando-se 40 casos de gatos com diagnóstico de linfoma alimentar (grupo 1), confirmados por meio da imunoistoquímica, no qual se avaliou os aspectos epidemiológicos, clínicos, citológicos, histológicos e imunoistoquímicos. Também foram avaliados 20 casos de felinos com doença inflamatória intestinal (grupo 2), confirmados segundo exame imunoistoquímico, quanto aos aspectos epidemiológicos e clínicos. E com o intuito de verificar a acurácia diagnóstica relativa dos exames de citologia, histologia e imunoistoquímica, foram utilizados os resultados dessas análises de ambos os grupos. Foi observado entre os felinos com linfoma alimentar estudados uma média de idade de 10,8 anos e as manifestações clínicas de maior ocorrência foram emagrecimento (55%), êmese (40%) e alterações nas fezes (40%). Entre as alterações ultrassonográficas observadas, as mais prevalentes foram linfonodomegalia mesentérica (86,11%) e espessamento de alças intestinais (80,55%). A maioria dos felinos estudados apresentou sorologia negativa tanto para FIV quanto para FeLV e apenas 14,28% e 8,57% foram positivos para FIV e FeLV, respectivamente. A correlação entre citologia e imunoistoquímica apontou sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e razão de

verossimilhança positiva e negativa de 93,3%, 65%, 66,6%, 92,85%, 2,65 e 0,10, respectivamente. O coeficiente de concordância Kappa de Cohen e a acurácia diagnóstica relativa foram de 0,55 e 77,14%, respectivamente. A correlação entre histopatologia e imunoistoquímica revelou sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e razão de verossimilhança positiva e negativa de 89,74%, 60%, 81,39%, 75%, 2,22 e 0,18, respectivamente. O coeficiente de concordância Kappa de Cohen e a acurácia diagnóstica relativa foram de 0,52 e 79,66%, respectivamente. A associação entre sorologia para FIV e FeLV e tipo celular do linfoma alimentar não pode ser observada. O presente estudo permitiu concluir que a combinação de citologia, histopatologia e imunoistoquímica é necessária para o correto diagnóstico de linfoma alimentar, e o tipo celular de maior ocorrência foi o de células T.

Palavras - chave: Gatos. Linfoma alimentar felino. Imunoistoquímica

ABSTRACT

BARRIGA, V. M. **Cytological, histopathological and immunohistochemical evaluation of feline alimentary lymphoma.** [Avaliação citológica, histológica e imunoistoquímica do linfoma alimentar em felinos domésticos]. 2013. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Alimentary lymphoma is the most common anatomical form of feline lymphoma and is the neoplasm which more affects small intestine of this specie. It is characterized by infiltration of the gastrointestinal tract with neoplastic lymphocytes, with or without mesenteric lymph nodes involvement. The diagnosis of this illness can be challenger in several cases because of unspecific clinical signs and cytological and histopathological limitations. Immunohistochemistry is required where these evaluations were not definitive in addition to establish the cell phenotype – T or B lymphocyte. The aim of this study was to characterize feline alimentary lymphoma. For these purpose, 40 cats with a diagnosis of alimentary lymphoma (Group 1) by immunohistochemistry were evaluated clinical, epidemiological, cytological and histologically, in addition to immunophenotype of the neoplasm tissues. Relative accuracy was performed using the results of cytology, histopathology and immunohistochemistry evaluation of 20 cats with inflammatory bowel disease diagnosis. The average age of the cats with alimentary lymphoma was 10.8 years and weight loss (55%), vomiting (40%) and fecal alteration (40%) were the most common clinical signs. The most prevalent ultrasonography abnormalities were mesenteric lymph nodes enlargement (86.11%) and intestinal wall thickening (80.55%). The majority of alimentary lymphoma cats were FIV and FeLV negative and 14.28% and 8.57% were FIV and FeLV positives, respectively. The cytology and immunohistochemistry correlation presents sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, positive and negative likelihood ratio tests of 93.3%, 65%, 66.6%, 92.85%, 2.65 and 0.10, respectively. The Cohen´s kappa test and the relative accuracy were 0.55 and 77.14%, respectively. The histopathology and immunohistochemistry correlation presents sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, positive and negative likelihood ratio tests of 89.74%, 60%, 81.39%, 75%, 2.22 and 0.18, respectively. The Cohen´s kappa test and the

relative accuracy were 0.52 and 79.66%, respectively. Association of FIV and FeLV result tests and alimentary lymphoma phenotype was not observed. In conclusion, the results of the present study suggest that cytology, histology and immunohistochemistry combination is necessary for a correct diagnosis, and T cell alimentary lymphoma is the most common phenotype.

Key words: Cats. Feline alimentary lymphoma. Immunohistochemistry.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Estadiamento clínico do linfoma.....	12
Quadro 2-	Anticorpos utilizados para marcação celular e sua representação	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Idade média, mediana, idades mínima, máxima e desvio padrão dos felinos diagnosticados com linfoma alimentar (grupo 1) e com doença inflamatória intestinal (grupo 2)	40
Tabela 2-	Distribuição das manifestações clínicas dos felinos com linfoma alimentar	41
Tabela 3-	Distribuição das manifestações clínicas dos 20 felinos com doença intestinal inflamatória (grupo 2)	42
Tabela 4-	Distribuição dos resultados de sorologia para FIV e FeLV de 35 felinos com linfoma alimentar (grupo 1)	43
Tabela 5-	Distribuição das alterações ultrassonográficas de 35 felinos com linfoma alimentar (grupo 1).....	44
Tabela 6-	Distribuição das alterações ultrassonográficas de 15 felinos com doença intestinal inflamatória, submetidos ao exame	44
Tabela 7-	Distribuição dos resultados da avaliação citológica dos felinos com linfoma alimentar	45
Tabela 8-	Distribuição dos resultados de avaliação histopatológica dos felinos com linfoma alimentar	46
Tabela 9-	Distribuição dos resultados da imunofenotipagem dos felinos com linfoma alimentar	52
Tabela 10-	Distribuição dos resultados da sorologia para FIV e FeLV, segundo o imunofenótipo (células T ou B)	53
Tabela 11-	Estimativas de sensibilidade, especificidade, valores preditivo positivo e negativo relativos, razão de verossimilhança positivo e negativo, concordância diagnóstica e acurácia relativa dos exames de citologia e histopatologia em relação à imunoistoquímica	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfocítico.	46
Figura 2-	Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfocítico.	47
Figura 3-	Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico.	47
Figura 4-	Corte histológico de linfonodo de felino acometido por linfoma linfoblástico.	48
Figura 5-	Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico.	48
Figura 6-	Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico.	49
Figura 7-	Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico.	49
Figura 8-	Corte histológico com marcação imunoistoquímica de intestino de felino acometido por linfoma linfocítico de imunofenótipo T com marcador CD3 positivo.	50
Figura 9-	Corte histológico com marcação imunoistoquímica de intestino de felino acometido por linfoma de baixo grau epiteliotrófico de imunofenótipo T com marcador de taxa de proliferação celular Ki67.	51
Figura 10A-	Corte histológico com marcação imunoistoquímica de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico de imunofenótipo B com marcação CD79a positiva e infiltração transmural por células neoplásicas marcadas.	43
Figura 10B-	Corte histológico com marcação imunoistoquímica de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico de imunofenótipo B com marcação CD79a positiva.	43

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A-	Identificação individual dos felinos com linfoma alimentar segundo idade, raça e sexo	73
Apêndice B-	Identificação individual dos felinos com doença inflamatória intestinal segundo idade, raça e sexo	74
Apêndice C-	Manifestações clínicas dos pacientes com linfoma alimentar estudados	75
Apêndice D-	Manifestações clínicas dos pacientes com doença inflamatória intestinal	76
Apêndice E-	Resultados de sorologia para Imunodeficiência felina (FIV) e Leucemia felina (FeLV) dos pacientes com linfoma alimentar estudados	77
Apêndice F-	Alterações ultrassonográficas dos pacientes com linfoma alimentar estudados.....	78
Apêndice G-	Alterações ultrassonográficas dos felinos com doença inflamatória intestinal (grupo 2).....	79
Apêndice H-	Resultado da avaliação citológica dos pacientes com linfoma alimentar estudados.....	80
Apêndice I-	Resultado da avaliação histológica dos pacientes com linfoma alimentar estudados	81
Apêndice J-	Resultado da avaliação imunoistoquímica dos pacientes com linfoma alimentar estudados 1 – Marcadores	83
Apêndice K-	Resultado da avaliação imunoistoquímica dos pacientes com linfoma alimentar estudados 2 – Imunofenótipo.....	85
Apêndice L-	Resumo dos resultados das avaliações citológica, histológica e imunoistoquímica dos felinos com doença inflamatória intestinal.....	86

Apêndice M-	Protocolo utilizado para o exame imunoistoquímico – Método	
	Avidina – Biotina	87

LISTA DE ABREVIATURAS

AGNOR	<i>Argyrophilic Nucleolar Organizer Region</i> – Região de organização nucleolar argirofílica
CD	<i>Cluster of differentiation</i> – Grupo de diferenciação
CHOP	(Ciclofosfamida, Hydroxydaunarubicin® - doxorubicina, Oncovin® - Vincristina e Prednisona ou Prednisolona
COP	Ciclofosfamida, Oncovin® - vincristina e Prednisona ou Prednisolona
DNA	<i>(Deoxyribonucleic acid)</i> – Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima
FELV	Vírus da leucemia felina
FIV	Vírus da imunodeficiência felina
fPLI	<i>feline Pancreatic Lipase Immunoreactivity</i> - Imunoreatividade da lipase pancreática
MALT	<i>Mucosa- Associated Lymphoid Tissue</i> – Tecido linfóide associado à mucosa
NCIWF	<i>National Cancer Institute Working Formulation</i> - força tarefa do instituto nacional do câncer
PCNA	<i>Proliferating cell nuclear antigen</i> – Antígeno nuclear de proliferação celular
PCR	Reação de Cadeia de Polimerase
PAAF	Punção Aspirativa por Agulha Fina
REAL	<i>Revised European-American Lymphoma</i> - consenso europeu e americano sobre o linfoma
WHO	<i>World Health Organization</i> - organização mundial da saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	Classificação do linfoma	3
2.1.1	Classificação anatômica	3
2.1.2	Classificação histopatológica	4
2.1.3	Classificação imunoistoquímica	5
2.2	Epidemiologia do linfoma alimentar em gatos	5
2.3	Etiologia e fatores de risco do linfoma felino	6
2.3.1	Vírus da Leucemia Felina (FeLV)	7
2.3.2	Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV)	8
2.3.3	Infecção por <i>Helicobacter</i> spp.	9
2.3.4	Exposição à fumaça de tabaco	10
2.3.5	Inflamação crônica	10
2.3.6	Imunossupressão	11
2.3.7	Dieta	12
2.3.8	Componente genético	12
2.4	Manifestações clínicas	13
2.4.1	Complicações clínicas	15
2.5	Abordagem diagnóstica e diagnósticos diferenciais	16
2.5.1	Patologia clínica	17
2.5.2	Exame radiográfico	18
2.5.3	Ultrassonografia abdominal	18
2.5.4	Citologia	19
2.5.5	Biópsia endoscópica e biópsia por laparoscopia ou biópsia incisional por laparotomia	20
2.5.6	Histopatologia	21
2.5.7	Imunoistoquímica e marcadores de proliferação celular	23
2.5.8	PCR	26
2.6	Tratamento	27
2.6.1	Cirúrgico	27
2.6.2	Quimioterapia antineoplásica	28
2.6.3	Radioterapia	29

2.6.4 Tratamento de suporte	30
2.7 Prognóstico	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Critérios de inclusão e exclusão dos casos.....	33
3.2 Rotina de atendimento clínico dos casos.....	34
3.3 Rotina de exames complementares dos casos.....	35
3.3 Levantamento dos casos e dos dados relativos aos pacientes	35
3.4 Análise estatística	38
4 RESULTADOS	40
5. DISCUSSÃO	55
6 CONCLUSÕES.....	62
REFERÊNCIAS	63
APÊNDICES	73

1. INTRODUÇÃO

O linfoma é neoplasia hematopoiética mais comum nos gatos domésticos, sendo que o linfoma alimentar é a forma anatômica mais frequente desta afecção, correspondendo até 72% de todos os casos de linfoma na espécie felina (WILSON, 2008; BARRS; BEATTY, 2012a).

Nos últimos quinze anos têm-se observado um aumento na incidência dos casos de linfoma alimentar na população felina (LOUWERENS et al., 2005; WILSON, 2008). As manifestações clínicas dessa afecção, muitas vezes inespecíficas, tornam o diagnóstico do linfoma alimentar desafiador em muitos casos, os quais podem, inclusive, mimetizar outras afecções gastrointestinais como, por exemplo, doença inflamatória intestinal idiopática e intolerância alimentar (WASMER et al., 1995; RAGAINI et al., 2003; WILSON, 2008; KIUPEL et al., 2011)

As técnicas diagnósticas atualmente empregadas, como citologia por punção aspirativa por agulha fina (PAAF) guiada por ultrassom, ou avaliação histopatológica após biópsia endoscópica ou por meio de laparotomia são extremamente úteis, mas nem sempre são suficientes para concluir o diagnóstico. (GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; WILSON, 2008; KIUPEL et al., 2011).

A imunoistoquímica também pode ser utilizada para fenotipagem do linfoma em células B ou T, mostrando-se um aliado importante à histopatologia, para a confirmação da suspeita de linfoma alimentar, além da perspectiva de se utilizá-la como ferramenta no prognóstico (PATTERSON-KANE; KUGLER; FRANCIS, 2004; AMORIM, 2008; KIUPEL et al., 2011). A maioria dos estudos sobre a caracterização do tipo de linfoma alimentar aponta para o fenótipo de células B como o mais prevalente (PATTERSON-KANE; KUGLER; FRANCIS, 2004; WALY et al., 2005; POHLMAN et al., 2009). Entretanto, uma pesquisa realizada por Zwahlen et al. (1998) revelou uma prevalência maior do tipo celular T. No Brasil, Reche Jr. et al., em 2010, relataram dez casos de linfoma alimentar felino, os quais foram

submetidos à biópsia incisional para análises histopatológica e também imunoistoquímica.

O presente estudo teve por objetivo a avaliação retrospectiva dos aspectos epidemiológicos, clínicos, citológicos, histológicos e imunoistoquímicos de gatos com diagnóstico de linfoma alimentar, bem como avaliar a correlação entre os exames citológicos, histopatológicos e imunoistoquímicos dos mesmos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O linfoma é a neoplasia mais comum em gatos e corresponde a cerca de 50 a 90 % de todos os neoplasmas hematopoiéticos na espécie. Caracteriza-se pela proliferação de linfócitos malignos em órgãos linfoides, ou em qualquer outro órgão devido à migração fisiológica dessas células através dos tecidos do organismo (VAIL; YOUNG, 2007; WILSON, 2008).

O linfoma alimentar é a forma anatômica de maior ocorrência nos felinos domésticos, representando de 32 a 72% dos casos de linfoma, no qual a infiltração de células linfoides neoplásicas ocorre em órgãos do trato gastrointestinal com ou sem comprometimento dos linfonodos mesentéricos adjacentes (WILSON, 2008; LINGARD et al., 2009; RECHE JR et al., 2010).

2.1 Classificação do Linfoma

O linfoma pode ser classificado anatomicamente, histologicamente e imunofenotipicamente.

2.1.1 Classificação anatômica

Tradicionalmente os linfomas são anatomicamente classificados como mediastinal, multicêntrico, extranododal e alimentar (COUTO, 2001).

Conforme citado anteriormente, o linfoma alimentar caracteriza-se pelo acometimento de órgãos do trato gastrointestinal, podendo ter ou não envolvimento

de linfonodos mesentéricos. Alguns autores incluem nessa classificação órgãos como pâncreas, fígado e baço, enquanto outros agrupam esses dois últimos órgãos como multicêntrico. As regiões do trato gastrointestinal comumente acometidas são principalmente a porção de jejuno e íleo do intestino delgado e transição íleo-cecóica (RICHTER, 2003; WILSON, 2008; BARRS; BEATTY, 2012a).

O linfoma em cavidade oral, bem como as neoplasias esofágicas são raramente descritas. Neoplasias em região gástrica não são comuns, mas destaca-se uma maior ocorrência do linfoma em relação aos carcinomas (CROW, 1985; NEIGER, 2003; MESTRINHO, 2007). Com relação ao cólon, o linfoma é a segunda doença oncológica mais prevalente, perdendo apenas para o adenocarcinoma (SLAWIENSKI et al., 1997; GARDNER et al., 2003).

2.1.2 Classificação histopatológica

O linfoma alimentar felino pode ser classificado em três graus histológicos: baixo grau, também conhecido como bem diferenciado, linfocítico ou de pequenas células; intermediário e alto grau ou pouco diferenciado, linfoblástico, imunoblástico ou de grandes células. Além desses, porém menos comum, o linfoma de grandes células granulares, um distinto subtipo histológico originado de linfócitos T citotóxicos e células *natural killers*, também pode ser classificado como de baixo, intermediário ou alto grau (WELLMAN et al., 1992; RICHTER, 2003; ROCCABIANCA et al., 2006; RECHE JR et al., 2010; BARRS; BEATTY, 2012a).

Atualmente, os sistemas de classificações histológicas mais utilizadas para o linfoma felino são os propostos pelo *National Cancer Institute Working Formulation (NCIWF)* e pelo *Revised European-American Lymphoma/ World Health Organization (REAL/WHO)*.

O *NCIWF* classifica o linfoma de acordo com sua progressão, reconhecendo em três graus histológicos: alto, intermediário ou baixo, baseado na frequência de mitoses (MORRIS; DOBSON, 2007; BARRS; BEATTY, 2012a).

O sistema *REAL/WHO* utiliza tanto os aspectos morfológicos quanto imunoistoquímicos para classificar os linfomas em doenças específicas.

Dessa forma o linfoma linfocítico ou baixo grau, segundo o sistema *NCIWF*, analogamente, pode ser classificado pelo *REAL/WHO* como linfoma epiteliotrófico de células T, linfoma intestinal de células T ou como enteropatia associada a linfoma de células T (BARRS; BEATTY, 2012a).

2.1.3 Classificação imunoistoquímica

Os linfomas também podem ser classificados fenotipicamente segundo seu tipo celular, em linfoma de células T ou B ou mistos, utilizando-se da técnica de imunoistoquímica.

2.2 Epidemiologia do linfoma alimentar em gatos

O linfoma alimentar ocorre comumente em gatos de meia idade e senis, comumente acima de 10 anos de idade, sem predisposição sexual aparente. Embora alguns estudos não tenham evidenciado uma predisposição racial; em outros, a raça siamesa parece super representada. Em uma recente pesquisa realizada por Rissetto et al. (2011), a raça siamesa e os gatos sem raça definida apresentaram-se como grupos de maior risco para o linfoma alimentar quando

comparados com outras neoplasias intestinais. Alguns autores também referem uma predisposição das raças orientais ao linfoma (MAHONY et al., 1995; COURT; WATSON; PEASTON, 1997; ZWAHLEN et al., 1998; GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; LOUWERENS et al., 2005; LINGARD et al., 2009; RISSETTO et al., 2011; GIEGER, 2011; BARRS; BEATTY, 2012a).

Alguns autores referem que em seus estudos que felinos com linfoma alimentar também se apresentaram positivos para o FeLV em 5-30%, e que esse vírus poderia estar relacionado com o linfoma alimentar em até 30% dos casos (VAIL et al., 1998; JARRET; HOSIE, 2006). Esses estudos utilizaram o método ELISA, no qual proteína do vírus p27 é detectada, denotando antigenemia e infecção ativa (MORRIS; DOBSON, 2007). No entanto, Weiss, Klopffleisch e Gruber, em 2010, observaram em seu estudo que 60% dos casos de linfoma alimentar tinham o provírus do FeLV integrado no genoma celular da neoplasia, o que significa que esse vírus possa ter um papel muito mais importante na oncogênese do linfoma alimentar do que se aventava anteriormente.

Com relação ao vírus da imunodeficiência felina, embora alguns autores relatem que os gatos com linfoma alimentar sejam geralmente FIV negativos no teste ELISA, alguns estudos demonstraram que 50% dos casos de linfoma foram positivos para FIV utilizando-se o teste *Western Blot* (GABOR; CANFIELD; MALIK, 2000; RECHE JR et al., 2010). Outro fato observado é que os linfomas de gatos infectados pelo FIV são geralmente de imunofenótipo B, segundo Callanan et al., em 1996.

2.3 Etiologia e fatores de risco do linfoma felino

O linfoma é considerado uma doença multifatorial. Foram descritos vários componentes tais como genético, infecção por retrovírus, alteração inflamatória, bem como exposição a agentes conhecidamente cancerígenos como a fumaça de cigarro e até mesmo a dieta como possíveis fatores relacionados ao linfoma em gatos

(BERTONE; SNYDER; MOORE, 2002; LOUWERENS et al., 2005; MORRIS; DOBSON, 2007). Tais mecanismos serão descritos a seguir.

2.3.1 Vírus da Leucemia Felina (FeLV)

O vírus da Leucemia Felina foi incriminado como a causa mais comum de neoplasias hematopoiéticas no período de 1960 a 1980, referida como era FeLV pelos norte-americanos, devido ao fato dos felinos portadores de linfoma também apresentarem antigenemia em 60 a 70% dos casos. Nessa época os tipos de linfoma mais prevalentes em gatos eram o mediastinal e o multicêntrico, comumente associados à antigenemia (VAIL, 2007; WEISS; KLOPFLEISCH; GRUBER, 2010).

Nas duas décadas subsequentes, chamada pós era FeLV, observou-se nos Estados Unidos uma mudança na epidemiologia e nas características do linfoma felino, cuja forma anatômica de maior ocorrência atualmente é a alimentar, não associada à antigenemia. Essa alteração no painel clínico epidemiológico do linfoma foi acompanhada por um declínio da prevalência de gatos positivos para o FeLV, que coincidiu com um regime de eliminação dos animais positivos, com a disseminação de técnicas diagnósticas e, posteriormente, com a vacinação.

Em estudo realizado por Weiss, Klopffleisch e Gruber (2010) mostrou-se que 60% dos casos de linfoma alimentar em gatos foram positivos para FeLV por meio da PCR e, portanto, possuíam o provírus incorporado ao genoma celular do linfoma, apesar de apenas 4% desses felinos terem apresentado antigenemia.

Contudo, a associação entre a presença do provírus e o desenvolvimento do linfoma ainda não é clara. Atualmente, tem-se aceitado que a expressão dos antígenos provenientes do provírus do FeLV desencadeia o processo de oncogênese. Além disso, a própria inserção do provírus no genoma da célula hospedeira pode estimular a transcrição de um proto-oncogene ou alterar a transcrição de um gene supressor de tumor, configurando, assim, o conceito de

mutagênese insercional (FUJINO; OHNO; TSUJIMOTO, 2008; WEISS; KLOPFLEISCH; GRUBER, 2010).

2.3.2 Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV)

A participação do FIV como responsável direto pelo desenvolvimento do linfoma ainda parece controversa no cenário científico atual. Alguns autores sugerem que o papel do FIV na indução do linfoma é indireto e provavelmente devido à imunossupressão que esse vírus causa, já que a maioria das pesquisas não foram capazes de demonstrar integração do provírus de FIV nos tecidos do linfoma de gatos positivos, além do fato do seu material genético não conter oncogene, diferentemente do FeLV (SHELTON et al., 1990; CALLANAN et al., 1996; ENDO et al., 1997; VAIL, 2007; MAGDEN; QUACKENBUSH; VANDEWOUD, 2011).

Outros estudos sugerem que além da alteração do sistema imune, o FIV poderia atuar diretamente, ativando vias do processo de oncogênese como a estimulação de proto-oncogenes; ou ainda, estimulando antígenoicamente linfócitos B, durante um curso de infecção crônica. Em um estudo realizado, a sequência do FIV foi detectada a partir do DNA isolado de linfoma de alto grau de células B, em um felino experimentalmente infectado. Esse mesmo trabalho indicou que o local de integração do provírus sugere uma perda de função desse gene (BEATTY et al., 1998; BEATTY; TERRY; MAC DONALD, 2002). Em pesquisa realizada com catorze gatos com linfoma, dois apresentaram a sequência do provirus pelo teste *Southern blot* (WANG et al., 2001).

Outro fato observado é que os felinos infectados pelo vírus da imunodeficiência felina apresentaram uma maior ocorrência de linfoma de células B, o que poderia ser explicado pela maior proliferação desses linfócitos, que se apresentam em níveis aumentados após a infecção pelo FIV, e que aumentaria estatisticamente o risco de aparecimento e desenvolvimento de uma célula

neoplásica (CALLANAN et al., 1996; VAIL, 2007; MAGDEN; QUACKENBUSH; VANDEWOUD, 2011).

Além disso, especula-se que, durante a infecção pelo FIV, haja um enfraquecimento no mecanismo de “fiscalização” celular que eliminaria as células neoplásicas, secundária a imunodiscrasia causada pelo vírus (MAGDEN; QUACKENBUSH; VANDEWOUD, 2011).

Dessa forma, presume-se que o papel do FIV na indução do linfoma seja mais provavelmente indireto, pela ativação imune, enfraquecimento da “fiscalização” celular, imunodiscrasia e pelo sinergismo com outros vírus oncogênicos (MAGDEN; QUACKENBUSH; VANDEWOUD, 2011).

2.3.3 Infecção por *Helicobacter* spp.

Diversos trabalhos humanos indicaram uma associação entre neoplasia gástrica e infecção por bactérias do gênero *Helicobacter* spp., inclusive mostrando que pacientes com infecção por *Helicobacter* spp. e linfoma gástrico concomitante submetidos à antibioticoterapia, apresentaram remissão da neoplasia após o tratamento (BRIDGEFORD et al., 2008; GISBERT; CALVET, 2011; KIM, et al., 2011).

Em seu estudo, Bridgeford et al. (2008) apontaram associação significativa entre infecção por cepas de *Helicobacter* spp. e presença de linfoma gástrico em gatos.

Esses achados indicam que a estimulação antigênica causada por essa bactéria pode ser suficiente para promover mecanismos linfoproliferativos na transformação do tecido linfoide associado à mucosa - MALT (*Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*) (BRIDGEFORD et al., 2008).

2.3.4 Exposição à fumaça de tabaco

A exposição à fumaça de tabaco como fator de risco para linfoma não Hodgkin em humanos foi abordada em vários trabalhos, devido ao fato de que agentes conhecidos do tabaco serem carcinogênicos para o tecido linfoide e poderem provocar mutação em precursores de linfócitos (BERTONE; SNYDER, MOORE, 2002; VAIL, 2007; CASTILLO; DALIA, 2012).

De forma semelhante aos estudos em humanos, Bertone, Snyder e Moore (2002) sugeriram em seu trabalho que gatos domésticos com exposição à fumaça de tabaco apresentam um risco de 2,4 a 3,2 vezes maior de desenvolver linfoma quando comparados ao grupo controle, dependendo do tempo e do grau de exposição.

2.3.5 Inflamação crônica

Uma gama de evidências sugere que a inflamação crônica do intestino possa ser um fator de risco para o linfoma intestinal, embora não haja comprovação. (VAIL, 2007; BARRS; BEATTY, 2012a; BRYAN, 2010).

São descritos três mecanismos cuja inflamação desencadearia um processo oncológico. Os patógenos que carregam oncogenes e que induzem inflamação, provocariam subsequentemente uma transformação maligna. Por outro lado, microrganismos patogênicos não carreadores de oncogenes também poderiam incitar uma resposta inflamatória desencadeando hipóxia e liberação de espécies reativas de oxigênio, culminando, assim, em alterações seriais de sequência de genes. Além desses, a própria inflamação crônica endógena também poderia

suscitar um processo de carcinogênese na ausência de patógenos (SINKOVICS, 2011).

Em pacientes humanos a progressão da doença inflamatória intestinal para linfoma, como ocorre na doença celíaca crônica é bem documentada. Em felinos domésticos, alguns estudos descrevem doença inflamatória intestinal prévia ou concomitante ao linfoma, sendo em 33,3% a 60% dos casos. Além disso, a descrição de enterite linfoplasmocítica em outras partes do intestino acometido pelo linfoma linfocítico, referidos também como “enteropatia associada a linfoma de células T”, sugere o aparecimento de linfoma em um cenário inflamatório do intestino (CARRERAS et al., 2003; MOORE et al., 2005; ROCCABIANCA et al., 2006; BRISCOE et al., 2011).

2.3.6 Imunossupressão

A imunossupressão, semelhante à causada pela infecção pelo FIV, pode refletir em um risco no desenvolvimento de linfoma em gatos. Um estudo realizado com 95 felinos submetidos a transplante renal, aproximadamente 10% apresentaram linfoma posteriormente, resultado bastante parecido ao que é visto em pacientes humanos imunossuprimidos após transplantes de órgãos (BEATTY et al., 1998; WOOLDRIDGE et al., 2002; VAIL, 2007).

2.3.7 Dieta

Embora não exista nenhuma evidência direta, foi sugerida uma ligação entre a dieta e o aumento da ocorrência de linfoma alimentar em relação aos outros tipos de linfoma, pelo fato das mudanças nas dietas felinas terem acontecido na mesma época em que se observou uma inversão da prevalência dos tipos de linfoma em gatos (LOUWERENS et al., 2005).

2.3.8 Componente genético

Analogamente a espécie felina, cães também apresentam alta incidência de linfoma, embora não apresentem retrovíroses conhecidas. Além disso, são conhecidas raças que apresentam altas incidências dessa doença e outras cuja incidência é baixa, o que sustenta um possível componente genético dessa neoplasia. Em gatos as raças orientais, entre elas a siamesa parecem mais predispostas ao linfoma, o que sugere uma predisposição genética (LOUWERENS et al., 2005; VAIL, 2007; RISSETTO et al., 2011).

Portanto, é possível que os fatores citados acima possam funcionar como desencadeadores do processo de oncogênese do linfoma felino, quando na presença de uma predisposição genética (LOUWERENS et al., 2005).

2.4 Manifestações clínicas

Atualmente alguns autores propõe uma categorização quanto às manifestações clínicas, já que na prática o linfoma pode se apresentar como entidades clínicas distintas (GIEGER, 2011; BARRS; BEATTY, 2012a).

Gatos com linfoma alimentar de baixo grau ou linfocítico podem exibir a doença de forma lenta e progressiva, apresentando hiporexia ou anorexia, vômito, perda de peso, diarreia e menos frequentemente, letargia, polidipsia e polifagia. Os felinos acometidos podem ainda apresentar como únicas manifestações clínicas a anorexia e a perda de peso (WILSON, 2008; NORTH; BANKS, 2009; RECHE JR. et al., 2010; BARRS; BEATTY, 2012a).

Ao exame físico, o felino pode apresentar-se com baixa condição corporal, desidratados, e à palpação abdominal, podem-se perceber alças intestinais espessadas, massa abdominal palpável em 20 a 30% dos casos, que pode ser atribuída tanto ao aumento de linfonodos mesentéricos, quanto à massa intestinal transmural (GIEGER, 2011; BARRS; BEATTY, 2012). Entretanto, muitos gatos podem apresentar achados normais ao exame físico, incluindo palpação abdominal (COUTO, 2001; RICHTER, 2003).

Os felinos acometidos pelo linfoma de alto grau, intermediário ou de grandes células granulares podem apresentar as mesmas manifestações clínicas, porém com um curso clínico mais agudo ou mais grave. Ao exame físico, a principal diferença é que massa abdominal é mais comumente palpada, em relação ao linfoma linfocítico. Além disso, icterícia e hepatomegalia podem ser percebidos, em caso de envolvimento hepático (GIEGER, 2011; BARRS; BEATTY, 2012a).

O estadiamento clínico, tal qual o utilizado no linfoma canino, não se mostrou ter utilidade prognóstica, segundo Milner et al., em 2005. No entanto, alguns autores referem que, mesmo em gatos, o estadiamento é fundamental para definição do prognóstico e escolha do protocolo quimioterápico (DALECK; CALAZANS; DE NARDI, 2009). O estadiamento para linfoma em gatos proposto por Mooney et al., em 1989, parece bastante coerente, útil e dessa forma tem sido empregado por

outros autores (MILNER, 2005). O estadiamento clínico proposto por Mooney et al. (1989), adaptado para o linfoma alimentar, pode ser observado no quadro 1.

Quadro 1 – Estadiamento clínico do linfoma em gatos

Estágio	Extensão da doença
I	Nódulo em trato gastrointestinal primário passível de ressecção ou um único linfonodo abdominal acometido.
II	Nódulo em trato gastrointestinal primário passível de ressecção com envolvimento de linfonodo regional
III	Duas ou mais áreas do trato gastrointestinal acometidas ou nódulo não resseccionável
IV	Estágios I, II ou III com envolvimento de fígado e/ou baço
V	Estágios I, II, III ou IV com envolvimento inicial do sistema nervoso central e/ou de medula óssea
a/b	a) Sem acometimento sistêmico; b) Com acometimento sistêmico

Fonte: Mooney et al. (1989) – adaptado para o linfoma alimentar.

2.4.1 Complicações clínicas

Felinos domésticos com linfoma podem apresentar como agravamento da afecção: obstrução intestinal, perfuração intestinal e intussuscepção associada ou não a prolapso retal (DEMETRIOU; WELSH, 1999; MACPHAIL, 2002; RICHTER, 2003).

2.5 Abordagem diagnóstica e diagnósticos diferenciais

A abordagem diagnóstica do linfoma alimentar visa primeiramente descartar outras afecções com sintomatologia semelhante, principalmente aquelas que são comuns em gatos adultos de meia idade e senis. Para isso, faz-se necessário a realização de exames laboratoriais, tais como hemograma, avaliação renal e hepática, para melhor enquadrar o estado geral do animal e verificar a presença de comorbidades, além de direcionar o diagnóstico.

As sorologias para FIV e FeLV são recomendadas como exames de triagem, além do valor prognóstico em caso de linfoma alimentar.

Nos casos em que há diarreia do intestino delgado ou grosso, recomendam-se exames de flutuação e citologia fecal, além de coproparasitológico direto. Esses testes visam descartar verminoses, e infecção por *Giardia spp.*, *Cryptosporidium spp.*, *Isospora spp.*, *Tritrichomonas foetus*, *Clostridium spp.* e *Campilobacter spp* (WILLARD, 2001 ; BARRS; BEATTY, 2012a).

A mensuração da fPLI (*Feline Pancreatic Lipase Immunoreactivity* ou imunorreatividade da lipase pancreática), pode ser utilizada, juntamente com a albumina sérica e avaliação ultrassonográfica com o objetivo de descartar quadros de pancreatite. A tiroxina ou T4 total também pode ser mensurada com o intuito de descartar hipertireoidismo (ZORAN, 2006; WILSON, 2008; BARRS; BEATTY, 2012a).

As dosagens de folato e cobalamina podem ser úteis nos casos em que o felino apresenta manifestações clínicas de doença do intestino delgado. Enquanto o primeiro é absorvido nas porções iniciais do intestino delgado, a absorção da segunda ocorre nas porções finais (íleo), e dessa forma podem auxiliar na identificação de qual segmento pode estar acometido. Além disso, níveis baixos de folato e cobalamina são sugestivos de doença do intestino delgado difusa, achados esses compatíveis com os quadros de doença inflamatória intestinal e linfoma (RUAUX; STEINER; WILLIAMS, 2006; WILSON, 2008; GIEGER, 2011; BARRS; BEATTY, 2012a).

Os diagnósticos diferenciais para linfoma alimentar incluem principalmente as doenças inflamatórias intestinais, sobretudo a linfoplasmocitária, intolerância ou hipersensibilidade alimentar, causas infecciosas de inflamação intestinal, pancreatite, doença renal, adenocarcinoma, além de outros neoplasmas do trato gastrointestinal como mastocitoma e neoplasia de células epiteliais (WASMER et al., 1995; RAGAINI et al., 2003; WILSON, 2008; BARRS; BEATTY, 2012a).

Dietas de eliminação podem ser utilizadas com o intuito de afastar as possibilidades diagnósticas de hipersensibilidade alimentar e de intolerância dietética (WASMER et al., 1995; RAGAINI et al., 2003; BARRS; BEATTY, 2012a).

A ultrassonografia abdominal é bastante útil e será abordada com mais detalhes posteriormente.

Após essa investigação inicial, outros exames como a citologia, histopatologia, imunoistoquímica e a PCR podem ser realizados para se obter o diagnóstico final. Esses testes serão descritos de maneira detalhada posteriormente.

2.5.1 Patologia clínica

Os gatos com linfoma alimentar podem apresentar como alterações hematológicas uma discreta à moderada anemia não regenerativa, em menos de 50% dos casos, que pode estar associada à doença crônica, infiltração da medula óssea pelo linfoma (apesar de bastante incomum), infecção pelo FeLV ou perda sanguínea gastrointestinal (GABOR, 2000; GIEGER, 2011;).

Leucocitose por neutrofilia pode estar presente em felinos com linfoma e sugere inflamação, neoplasia ou estresse. Linfocitose e presença de linfócitos atípicos ou aumento do número de grandes linfócitos granulares no sangue periférico, ou linfopenia podem ser observados em casos de linfoma de grandes células granulares. Monocitose também pode ocorrer e sugere aumento na demanda em fagocitose nos tecidos lesados ou de células neoplásicas mortas (WELLMAN et al., 1992; ENDO et al., 1997; GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998,

2000; REBAR et al., 2003; ROCCABIANCA et al., 2006; KRICK et al., 2008; GIEGER, 2011; BARRS; BEATTY, 2012a).

Quanto à bioquímica sérica, a anormalidade mais comumente encontrada nos casos de linfoma alimentar felino é uma hipoalbuminemia tênue – em aproximadamente 50% dos casos - e pode estar associada à perda de proteína pelo trato digestório ou má absorção, o que pode refletir uma doença mais difusa. A hipocalcemia também foi relatada em gatos com esse tipo de linfoma. Além disso, animais com envolvimento hepático podem apresentar aumento dos valores de enzimas hepáticas, da mesma forma que aqueles com acometimento renal podem apresentar azotemia. (MAHONY et al., 1995; GABOR; MALIK; CANFIELD, 2000; RICHTER, 2003).

2.5.2 Exame radiográfico

A radiografia abdominal é pouco elucidativa para diagnóstico de linfoma alimentar, podendo evidenciar, em poucos casos, uma massa abdominal evidente ou dilatação de alças intestinais por acúmulo de gás, que poderia sugerir uma obstrução em um segmento intestinal. No entanto, o exame radiográfico está indicado para avaliar a presença de linfadenomegalia torácica (RICHTER, 2003; WILSON, 2008; GIEGER, 2011; BARRS; BEATTY, 2012a).

2.5.3 Ultrassonografia abdominal

A ultrassonografia abdominal constitui uma ferramenta valiosa quando da suspeita de linfoma alimentar, pois permite a avaliação do trato gastrointestinal, avaliando-se a espessura e estratificação da parede intestinal, tamanho de

linfonodos, além da ecogenicidade de ambos (COUTO, 2001; BARRS; BEATTY, 2012a).

As alterações condizentes com alteração infiltrativa, que indicam possível acometimento neoplásico incluem: perda de estratificação mural, diminuição da ecogenicidade e aumento da espessura da parede intestinal, cujos valores de referência são: duodeno e jejuno menor que 2,8 mm; íleo menor que 3,2 mm e cólon menor que 1,7 mm. Linfonodomegalia mesentérica, com diminuição de ecogenicidade e com tamanho superior a 5 mm também podem ser observados (GOGGIN et al., 2000; SCHEREURS et al., 2008).

2.5.4 Citologia

Pode-se realizar punção aspirativa por agulha fina (PAAF) guiada por ultrassom, nos casos em que se observa aumento de linfonodo mesentérico ou massa intestinal, que possa ser isolado para realização da punção (GIEGER, 2011).

A citologia do linfonodo evidenciará uma amostra da população de linfócitos. Nos casos de linfoma alimentar de alto grau, de grau intermediário e os de grandes células granulares, o diagnóstico citológico pode ser obtido (VALENCIANO; COWEL; ARNDT, 2011). No exame citológico do linfoma linfoblástico ou de alto grau, os linfoblastos são maiores e mais facilmente distinguíveis dos linfócitos normais, representando 60% ou mais de toda população linfóide da amostra. (VALENCIANO; COWEL; ARNDT, 2011). Na citologia dos linfomas de grandes células granulares, os linfócitos também são grandes, e apresentam grânulos azuróficos intracitoplasmáticos, quando corados na coloração de Wright-Giemsa (WELLMAN et al., 1992; RICHTER, 2003; KRICK et al., 2008; ROCCABIANCA et al., 2006; BARRS; BEATTY, 2012a).

Nos casos de linfoma alimentar de baixo grau, a citologia do linfonodo mesentérico nem sempre é conclusiva, uma vez que os linfócitos são bem diferenciados e podem parecer normais. Além disso, sem a observação da arquitetura tecidual, obtida por meio de exame histopatológico, a diferenciação de

um linfócito normal de um linfócito neoplásico, é bastante difícil (WILSON, 2008; VALENCIANO; COWEL; ARNDT, 2011).

2.5.5 Biópsia endoscópica e biópsia por laparoscopia ou biópsia incisional por laparotomia

A endoscopia é um exame não invasivo e pode auxiliar no diagnóstico de linfoma alimentar, caso o tecido neoplásico esteja nas regiões de alcance do endoscópio, ou seja, estômago, duodeno, jejuno proximal e cólon. A biópsia do íleo não é um procedimento fácil, mas pode ser realizada durante a colonoscopia, pela técnica de passagem do fórceps cegamente através do esfíncter íleo-cólico, ou utilizando-se um endoscópio de menor calibre (LEIBMAN; LARSON; OGILVE, 2003; WILSON, 2008; WASHABAU et al., 2010; SCOTT et al., 2011).

Em seu estudo, Willard et al. em 2008, observaram a importância da qualidade das amostras de duodeno, obtidas endoscopicamente, e sugeriram que seis amostras de condição marginal à adequada seriam suficientes para o diagnóstico histopatológico, o que foi corroborado por Washabau et al., em 2010. Willard et al. (2008) também ressaltaram a importância do treinamento para realização de biópsia endoscópica e obtenção de amostras representativas para o diagnóstico.

Em 2009, um grupo de pesquisadores comparou as amostras gastrointestinais provenientes de endoscopia e de laparoscopia ou laparotomia. Os resultados desse estudo evidenciaram que a biópsia endoscópica apresentou boa sensibilidade para o diagnóstico de linfoma gástrico, mas não foi considerado acurado para o diagnóstico de linfoma intestinal felino (EVANS et al., 2006).

Casamian-Sorrosal et al., em 2010, e Scott, em 2011, juntamente com seus colaboradores, obtiveram resultados semelhantes em seus estudos, os quais apontaram para o fato de que em muitos casos, o diagnóstico de linfoma alimentar em cães somente é possível por meio de biópsia do íleo. Esses achados também foram enfatizados em um consenso para avaliação endoscópica e histopatológica por um grupo internacional para padronização gastrointestinal (*International*

Gastrointestinal Standardization Group) da Associação mundial de veterinários de pequenos animais (*World Small Animal Veterinary Association*) (WASHABAU et al., 2010).

Porém, é importante destacar que o linfoma alimentar felino raramente ocorre no duodeno, e que na maioria das vezes, as lesões neoplásicas estarão presentes no jejuno, íleo e transição íleo-ceco-cólica. De fato, Moore, Rodriguez-Bertos e Kass (2011) observaram uma maior incidência do linfoma no segmento jejunal em seu trabalho. Além disso, Evans et al., em 2006, referiram como difícil ou impossível a realização de biópsia endoscópica de jejuno e íleo, o que constitui uma desvantagem significativa desse método (LEIBMAN; LARSON; OGILVE, 2003; WILSON, 2008).

A laparotomia ou laparoscopia para realização de biópsia, permite colher amostras de todas as regiões intestinais, bem como de linfonodos mesentéricos e cólicos, além de outros órgãos se houver necessidade. Outro detalhe importante, é que a biópsia incisional permite a retirada de fragmentos contendo todas as camadas intestinais. E dessa forma, a infiltração de células neoplásicas em camadas mais profundas que a muscular da mucosa, podem ser observadas pelo patologista (LEIBMAN; LARSON; OGILVE, 2003; RICHTER, 2003; EVANS et al., 2006; WILSON, 2008; KLEINSCHMIDT et al., 2010; SMITH et al., 2011).

Em relação às complicações pós-operatórias, baixa incidência ou nenhuma intercorrência foram relatadas devido à laparotomia ou laparoscopia (EVANS et al., 2006; SMITH et al., 2011).

2.5.6 Histopatologia

Considerando-se que em alguns casos os resultados da avaliação citológica são inconclusivos e em outros, os resultados sugestivos de linfoma alimentar mereçam confirmação, o exame histopatológico reveste-se de grande importância. A diferenciação entre o linfoma linfocítico e a enterite linfoplasmocitária pode ser difícil até mesmo para patologistas experientes (VALLI et al., 2000; RICHTER, 2003). E

nos casos em que após avaliação histopatológica a suspeita de linfoma persiste, a realização da imunoistoquímica está indicada (KIUPEL et al., 2011).

A doença inflamatória intestinal é caracterizada histologicamente pela infiltração difusa de linfócitos, plasmócitos, eosinófilos, neutrófilos e macrófagos na camada mucosa, além de congestão, edema ou fibrose de mucosa que também podem estar presentes (RICHTER, 2003; GIEGER, 2011).

As principais alterações celulares observadas ao exame histológico, indicativas de neoplasia incluem: pleomorfismo, anisocariose, frequência de figuras de mitose aumentadas, mitoses atípicas e nucléolo evidente durante a divisão celular (PIRES et al., 2004; CHEVILLE, 2006).

No que concerne o linfoma alimentar, os achados histopatológicos incluem infiltração de linfócitos neoplásicos irregularmente distribuídos entre os vilos intestinais; grande concentração de linfócitos na área externa da zona da cripta até a base do vilão na lâmina própria; distribuição irregular do número de linfócitos de um vilão comparado a outro e irregularidade na localização dessas células dentro da lâmina própria em um mesmo vilão, que pode estar densamente povoado, com o entorno normal. Outra alteração importante é o discreto agrupamento de linfócitos intraepiteliais ou infiltração difusa nos vilos e criptas do epitélio, caracterizando epiteliotropismo. Além disso, aglomerados de linfócitos justapostos entre as células epiteliais também são altamente sugestivos de linfoma intestinal (RICHTER, 2003; MOORE; RODRIGUEZ-BERTOS; KASS, 2011).

A infiltração de linfócitos neoplásicos pode avançar através da submucosa, túnica muscular e serosa, constituindo infiltração transmural. Em lesões mais graves, o infiltrado pode transpor a muscular própria perivascularmente, acarretando em um envolvimento de padrão trabecular. E conforme ocorre o agravamento da lesão, os linfócitos podem coalescer e obliterar a camada muscular, expandindo-se pela serosa e tecido mesentérico adjacente, o que comumente resulta na formação de uma massa (KLEINSCHMIDT et al., 2009; MOORE; RODRIGUEZ-BERTOS; KASS, 2011).

Conforme já citado, atualmente existem dois principais sistemas de classificações histológicas utilizadas para o linfoma, que são as propostas pelo *NCI*

WF e pelo *REAL/WHO* e que podem também serem aplicadas à espécie felina. O primeiro se baseia no comportamento natural de progressão do linfoma, visando auxiliar no manejo clínico e prognóstico do paciente. O segundo se utiliza da imunofenotipagem, além da morfologia e citogenética (VALLI et al., 2000).

2.5.7 Imunoistoquímica e marcadores de proliferação celular

A avaliação imunoistoquímica é bastante útil tanto nos casos os quais o exame histopatológico não foi conclusivo quanto para determinação do fenótipo da neoplasia, ou seja, o tipo celular predominante.

Essa técnica se utiliza da reação antígeno-anticorpo, e para tal, são usados anticorpos primários (mono ou policlonais), que se ligam a antígenos de superfície da célula a ser marcada, os chamados *Cluster of differentiation* (CD). Também é utilizado um anticorpo secundário que se liga ao primário e um complexo, que pode ser avidina-biotina-peroxidase, que recebe elétrons de um cromógeno (diaminobenzina ou 3-amino-9-etilcarbazol), e resulta nas colorações finais (castanho ou vermelho), que podem ser observadas (MORRISON, 2005; AMORIM, 2009).

Dessa forma, o anticorpo anti - CD3 reconhece os linfócitos T por meio desse grupo expresso pela célula e, analogamente, os anticorpos anti - CD21, CD45, CD79a e BLA.36 reconhecem esses grupamentos expressos por linfócitos B (MORRISON, 2005; AMORIM, 2008). Um detalhe importante, é que a presença de células T *per si* não é indicativa de linfoma de células T, visto que o tecido linfoide associado à mucosa (*Mucosa-Associated Lymphoid Tissue* – MALT) consiste primariamente de linfócitos T, e sua população estará aumentada em casos de inflamação. (MOORE et al., 2005; GIEGER, 2011).

Como os linfomas de grandes células granulares são compostos por linfócitos T citotóxicos ou células *Natural Killers*, a expressão de CD3 é variável, já

que os primeiros o expressam, mas os últimos não (WELLMAN et al., 1992). Em um estudo, grandes células granulares expressaram CD18 em 100%, CD3 em 90%, além de expressarem CD8αα em 62% dos casos de linfoma alimentar felino desse tipo, segundo Roccabianca et al. (2006). Esses marcadores e sua respectiva representação estão dispostos no quadro 2 (MORRISON, 2005; AMORIM, 2008).

Quadro 2 - Anticorpos utilizados para marcação celular e sua representação.

Anticorpos Anti/ marcadores	Interpretação
CD3	Expresso na superfície de linfócitos T maduros
CD4	Expresso por linfócitos T auxiliares
CD8	Expresso por linfócitos T citotóxicos e algumas células <i>Natural Killers</i>
CD21	Expresso por linfócitos B maduros
CD45	Sua isoforma (CD45RA) é expressa por linfócitos B
CD79a	Expresso por linfócitos B
BLA.36	Expresso por linfócitos B
Ki-67/ MIB-1	Expressa a taxa de proliferação celular
PCNA	Expressa a taxa de proliferação celular

Fonte: Morrison, (2005)

Atualmente, não há consenso em relação ao fenótipo mais comum do linfoma alimentar felino. Zwahlen et al. (1998); Reche Jr. et al. (2010); Sato et al. (2010) e Moore, Rodriguez-Bertos e Kass (2011) referiram o linfoma T como o mais prevalente. Por outro lado, Gabor, Canfield e Malik (1999); Wang et al. (2001); Patterson-Kane, Kugler e Francis (2004); Waly et al. (2005); Esteban (2008) e Pohlman et al. (2009) obtiveram em seus estudos o linfoma de células B como o de maior ocorrência.

Além dos marcadores celulares do tipo CD, também são utilizados marcadores de taxa de proliferação celular, como o PCNA (*Proliferating cell nuclear antigen* - antígeno nuclear de proliferação celular), Ki-67/MIB-1 e AgNOR (*Argyrophil Nucleolar Organizer Regions* - regiões organizadas nucleolar argirofílicas).

PCNA e Ki-67 são proteínas nucleares não histonadas, envolvidas na síntese de DNA e ribossomos durante a divisão celular, respectivamente (PHILLIPS et al., 2000). O anticorpo MBI-1 é a uma coloração que reconhece o Ki-67 expresso pelas células em proliferação (DANK; LUCROY; GRIFFEY, 2002; CESARI; BETTINI; VEZZALI, 2009).

As regiões de organização nucleolar (NORs) são segmentos de DNA presentes nos nucléolos das células e contêm genes de RNA ribossômico, que podem ser corados por prata, e visualizados normalmente em microscópio de luz, como pontos argirofílicos presentes no núcleo - AgNOR (MORRISON, 2005).

Embora os marcadores de proliferação celular possibilitem informações que possam ser relacionadas com resposta à quimioterapia e prognóstico nos casos de linfoma canino e humano, nos felinos ainda não há fortes evidências de que esses marcadores possam ser úteis para prever a evolução do paciente à quimioterapia do linfoma alimentar (VAIL et al., 1998; RASSNICK et al., 1999; PHILLIPS et al., 2000; DANK et al., 2002; TESKE et al., 2002; CESARI; BETTINI; VEZZALI, 2009; KIUPEL et al., 2011)

A imunofenotipagem é bastante relevante à medida que confirma ou elucida o resultado histopatológico, além da possibilidade de se utilizá-la como ferramenta prognóstica, como será abordado posteriormente.

2.5.8 PCR

A reação de cadeia de polimerase (*Polymerase chain reaction* – PCR) é uma técnica cuja finalidade é a detecção de clones de células T ou B. Sabe-se que o tecido intestinal saudável ou que apresenta alterações de doença inflamatória intestinal exibe infiltrado policlonal de células linfóides. A detecção de infiltrado linfóide mono ou oligoclinal, embora não ocorra especificamente em neoplasias, é altamente sugestivo e pode confirmar os resultados de exames histopatológicos e imunoistoquímicos não conclusivos. Esse teste ainda tem a vantagem da utilização de blocos de tecidos inclusos em parafina previamente fixados em formol (MOORE et al., 2005; WERNER et al., 2005; GIEGER, 2011; AVERY, 2012).

Essa técnica se baseia na amplificação de DNA e na detecção de um segmento de gene que apresenta variabilidade. Em relação à leitura desse exame, realizada por meio da eletroforese em gel de poliacrilamida, a obtenção de três a cinco bandas de tamanho semelhante é indicativo de celularidade mono ou

oligoclonal. Por outro lado, bandas largas ou manchadas com tamanhos diferentes são interpretadas como reação linfoide policlonal (MOORE et al., 2005).

Para infiltrado de células T, utiliza-se a análise do rearranjo do gene de receptor gama (*T cell receptor gamma gene* – TCRG gene). E para células B, utiliza-se a região CDR3 (*Complementarity Determining Region 3*), que é um segmento variável do gene IGH V (*Immunoglobulin heavy chain variable region*) (MOORE et al., 2005; WERNER et al., 2005; MOORE; RODRIGUEZ-BERTOS; KASS, 2011).

Preconiza-se que a PCR, embora ainda experimental, seja realizada em combinação com os exames histopatológico e imunoistoquímico. (WERNER et al., 2005; AVERY, 2012).

2.6 Tratamento

As modalidades de tratamento para o linfoma alimentar felino serão detalhadas a seguir.

2.6.1 Cirúrgico

A ressecção cirúrgica de massa intestinal é indicada nos casos em que resulta em obstrução ou em risco de perfuração (SMITH et al., 2011). Slawienski et al., em 1997, não observaram aumento na sobrevida de gatos submetidos à ressecção de massa em região de cólon associada à quimioterapia nos casos de linfoma. No entanto, Krick et al. (2008) sugeriram que essa combinação terapêutica poderia resultar em um melhor prognóstico.

2.6.2 Quimioterapia antineoplásica

- ❖ Protocolo COP (Ciclofosfamida, vincristina - Oncovin®, Prednisona ou Prednisolona)

O protocolo COP, largamente utilizado nos casos de linfoma canino, pode ser empregado para tratamento de linfoma alimentar felino de alto ou intermediário grau. Porém, alguns trabalhos apontaram baixo índice de remissão e baixa expectativa de vida em relação a outros protocolos, inclusive ao COP com adição de doxorrubicina – CHOP (MAHONY et al., 1995; TESKE et al., 2002; KRICK et al., 2008).

- ❖ CHOP (Ciclofosfamida, doxorrubicina - Hydroxydaunarubicin®, Vincristina - Oncovin® e Prednisona ou Prednisolona)

O protocolo CHOP é um tratamento mais agressivo indicado nos casos de linfoma alimentar de grandes células, o qual se pode associar a L-asparaginase ou o metotrexato (ZWAHLEN et al., 1998; VAIL; YOUNG, 2007; WILSON, 2008).

A doxorrubicina associada ao tradicional COP parece aumentar a expectativa de vida de gatos com linfoma alimentar linfoblástico, porém não se mostrou efetiva quando utilizada como único quimioterápico de indução ou na terapia de resgate (PEASTON; MADDISON, 1999; RICHTER, 2003; OBERTHALER et al., 2009).

- ❖ Protocolo Madison- Wisconsin

O protocolo Madison-Wiscosin, que utiliza vincristina, L-asparaginase, prednisona, ciclofosfamida, doxorrubicina, clorambucil e metotrexato, também pode ser utilizado para o tratamento de linfoma felino. Entretanto, Milner et al., em 2005, não observaram índices de remissão completa maiores quando comparado a estudo anterior, no qual os felinos haviam recebido tratamento com ciclofosfamida, vincristina e prednisona (TESKE et al., 2002).

❖ Protocolo L- asparaginase, clorambucil e prednisona

A utilização de quimioterapia a base de L-asparaginase, clorambucil e prednisona foi descrito por Reche Junior et al. (2010) mostrando-se eficaz no tratamento de linfoma alimentar linfocítico, cujos felinos apresentaram maior índice de duração da remissão média quando comparado ao estudo de Zwahlen et al., em 1998.

❖ Clorambucil e prednisolona

A terapia com Clorambucil e Prednisolona (ou prednisona) pode ser utilizada nos casos de linfoma alimentar de pequenas células. Em dois estudos, os felinos tratados apresentaram uma longa duração média de remissão e boa expectativa de vida (KISELOW et al., 2008; STEIN et al., 2010).

2.6.3 Radioterapia

A radioterapia normalmente utilizada para linfomas localizados em região epidural, mediastinal e nasal também pode ser empregada como tratamento adjuvante no linfoma alimentar felino. Em dois estudos desenvolvidos por Williams, Pruitt e Thrall (2010) e Parshley et al. (2011), a radioterapia foi utilizada em gatos com linfoma, após quimioterapia, como terapia de manutenção na dose total de 15 Gy, e de resgate na dose total de 8 Gy, respectivamente. Nesses dois estudos a radioterapia pareceu ser bem tolerada pelos felinos tratados, e representa uma modalidade de tratamento com grande potencial a ser estudado.

2.6.4 Tratamento de suporte

O suporte nutricional está indicado nos casos em que os felinos acometidos se encontram anoréticos ou hiporéticos para prevenir uma perda de peso ainda maior e caquexia, além de possibilitar um aumento na expectativa de vida. Dessa forma, preconiza-se a colocação de sonda nasoesofágica ou esofágica (MAHONY et al., 1995; VAIL, 2007; KRICK et al., 2011).

A suplementação de cobalamina é indicada para gatos hipocobalaminêmicos. A hipocobalaminemia, que frequentemente ocorre em felinos com linfoma alimentar, diminui consideravelmente a resposta adequada ao tratamento. Simpson e colaboradores recomendaram em seu trabalho a dose de 1 mg, por via parenteral, a cada 2 semanas (SIMPSON et al., 2001; WILSON, 2008; BARRS; BEATTY, 2012b).

2.7 Prognóstico

Os fatores referidos como possíveis indicadores de melhor prognóstico para o linfoma alimentar felino são: remissão completa após quimioterapia, pacientes negativos para FeLV, instituição de tratamento em estágios iniciais da doença e adição de doxorrubicina ao protocolo quimioterápico (ZWAHLEN et al., 1998; VAIL, 2007).

De modo geral, felinos portadores de linfoma linfocítico tem uma expectativa de vida maior e tem uma melhor resposta à quimioterapia em relação ao linfoblástico (VALLI et al., 2000; RICHTER, 2003; ESTEBAN, 2008; RECHE JR et al., 2010; GIEGER, 2011). Gatos com linfoma de células B apresentaram menor sobrevida em relação àqueles que manifestavam o de linfócitos T, mesmo com a instituição de tratamento adequado. O linfoma de grandes células granulares é o tipo que apresenta pior prognóstico. Em um estudo, os gatos afetados por esse tipo de

linfoma apresentaram tempo de sobrevida médio de 45 dias (VAIL et al., 1998; VAIL, 2007; KRICK et al., 2008; WILSON, 2008; MOORE; RODRIGUEZ-BERTOS; KASS, 2011).

Observou-se também que os gatos que alcançam remissão completa ou que apresentaram tempo de remissão maior após tratamento quimioterápico, tem expectativa de vida maior em relação a aqueles que obtêm remissão parcial ou não a atingem (ZWAHLEN et al., 1998; ESTEBAN, 2008; LINGARD et al., 2009).

Vail et al. (1998) sugeriram que a adição da doxorrubicina ao tradicional COP pode ter influencia positiva sobre o prognóstico, uma vez que parece promover aumento no tempo de remissão e expectativa de vida.

Em seu estudo, Krick et al., em 2011, indicaram o emagrecimento, antes ou durante o tratamento, como fator de impacto ruim quanto à expectativa de vida.

A hipoalbuminemia também foi descrita como fator de prognóstico negativo em pesquisa envolvendo os linfomas de grandes células granulares em gatos (KRICK et al., 2008).

Conforme citado anteriormente, os índices de proliferação celular Ki-67/MIB-1, PCNA e AgNOR foram referidos como valiosos indicadores prognósticos em cães e humanos, porém isso não pode ser confirmado na espécie felina (VAIL et al., 1998; RASSNICK et al., 1999; PHILLIPS et al., 2000; DANK et al., 2002; TESKE et al., 2002; CESARI; BETTINI; VEZZALI, 2009; KIUPEL et al., 2011).

Dank et al. (2002) não observaram uma correlação entre o índice de MIB-1 e resposta à quimioterapia, embora em seu estudo tenham obtido índices de MIB-1 significativamente menores em linfomas de células T em relação aos de célula B, e inversamente proporcional à proteína anti-apoptótica bcl-2. Esses achados sugerem um curso naturalmente crônico do linfoma de células T em relação ao de células B e uma possível ligação das proteínas regulatórias ki-67 e bcl-2 na biologia do linfoma felino.

Em seus trabalhos, Vail et al. (1998) não indicaram AgNOR e PCNA-LI como bons instrumentos de prognóstico, uma vez que essas marcações não foram

eficazes em prever a remissão ou expectativa de vida. Achados semelhantes quanto ao AgNOR também foram obtidos por Rassnick et al. (1999).

Vail et al. (1998) observaram que gatos com linfomas CD-3 positivos e não virêmicos para FeLV tiveram o maior tempo de sobrevivência em relação aos demais. Semelhante fato foi observado em relação à infecção por FIV por Reche Junior et al. (2010), cujo trabalho apontou uma sobrevida menor dos felinos com linfoma alimentar portadores desse lentivírus. Também se observou que a leucopenia comprometeu a sobrevida dos pacientes (RECHE JR et al., 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa versou em estudo clínico observacional retrospectivo dos casos de linfoma alimentar felino atendidos junto à clínica veterinária Vetmasters no período de janeiro de 2008 a junho de 2012. A realização desse trabalho na referida instituição deveu-se ao fato de que a mesma conta com serviço de atendimento exclusivo à espécie felina.

Destaca-se o fato de que por se tratar de estudo retrospectivo, não houve acompanhamento dos casos e nenhum paciente foi objeto direto de pesquisa ou foi submetido a exames devido à pesquisa, sendo utilizadas apenas informações dos prontuários e exames já realizados. A descrição posterior da rotina clínica e dos exames foi realizada com intuito de uma melhor explanação da pesquisa.

3.1 Critérios de inclusão, exclusão dos casos e agrupamento

Foram admitidos no presente trabalho todos os casos de linfoma alimentar felino cujos diagnósticos tivessem confirmação segundo o exame imunoistoquímico, considerado padrão ouro neste estudo. Esses gatos foram alocados no grupo 1 (Apêndice A).

Os felinos aceitos por apresentarem imunoistoquímica positiva, também possuíam exame histopatológico, que poderiam ter resultado conclusivo ou não e, além disso, apresentar ou não resultado de exame citológico, em seu prontuário.

Dessa forma, não foram considerados os casos de linfoma alimentar diagnosticados apenas por histopatologia ou citologia, mesmo que o quadro clínico e exame ultrassonográfico fossem condizentes com essa afecção.

Para fins de comparação, foram utilizadas informações dos prontuários de alguns felinos com doença inflamatória intestinal confirmada por meio da avaliação imunoistoquímica. Esses pacientes foram alocados no grupo 2 (Apêndice B).

3.2 Rotina de atendimento clínico dos casos

De forma geral, os felinos com manifestações clínicas gastrointestinais e suspeita de linfoma alimentar atendidos na clínica Vetmasters eram submetidos a exames de rotina laboratoriais tais como hemograma, perfil renal e hepático, além de ultrassonografia abdominal. Em alguns casos, coproparasitológico completo e T4 total também eram solicitados.

Nos casos em que a ultrassonografia abdominal evidenciasse presença de massa intestinal ou linfonodomegalia importante, a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) – era realizada e, em seguida, o material aspirado era depositado numa lâmina de vidro de microscopia e realizado *squash* ou esfregaço. As lâminas eram secadas ao ar, fixadas em metanol por 5 minutos e após, coradas com o corante de Rosenfeld, segundo técnica descrita por Chalita, em 2001.

Os pacientes cujos quadros clínicos (manifestações clínicas e exame ultrassonográfico) eram compatíveis com linfoma alimentar e as avaliações citológicas não era conclusivas, eram encaminhados para realização de laparotomia exploratória e biópsia incisional de intestino e linfonodo mesentérico. As amostras de tecidos eram rotineiramente acondicionadas em solução de formalina e encaminhadas aos laboratórios Hemovet® e Vetpat® para realização de histopatologia e imunoistoquímica, respectivamente. Nos casos em que a punção aspirativa não fosse possível, um *imprinting* ou decalque das amostras intestinal e de linfonodo em lâmina de vidro era realizado, antes do acondicionamento em formol, para posterior citologia.

3.3 Rotina de exames complementares dos casos

Para a realização de citologia, as lâminas contendo amostras oriundas de *squash* ou *imprinting* foram rotineiramente processadas segundo técnica descrita por Chalita (2001), e posteriormente examinadas em microscopia óptica.

Em relação ao exame histopatológico, as amostras foram rotineiramente processadas segundo Werner e Werner (2009).

No que concerne a imunoistoquímica, os cortes de tecido processados rotineiramente para histologia foram submetidos ao método Avidina Biotina, no qual foi utilizado o sistema Advanced HRP (DAKO). A coloração e contracoloração utilizadas foram 3,3-diaminobenzidina e hematoxilina, respectivamente. Também foram utilizados controles externos e/ou internos para validar a reação. O protocolo completo está especificado no apêndice M.

3.4 Levantamentos dos casos e dos dados relativos aos pacientes

O levantamento dos casos de linfoma alimentar felino foi executado de três formas distintas, a saber:

- ❖ Apuração dos pacientes felinos portadores de linfoma alimentar em atendimento na clínica juntamente com os médicos veterinários;
- ❖ Avaliação de todas as fichas clínicas de número 10.000 a 20.000;
- ❖ Levantamento de todos os exames de imunoistoquímica positivos realizados no laboratório Hemovet, por meio do site do mesmo.

Após apuração dos casos, obtiveram-se 40 felinos com diagnóstico de linfoma alimentar confirmado pela avaliação imunoistoquímica (grupo 1). Todas as informações relevantes desses pacientes foram obtidas por meio do programa SISVET, *software* utilizado na clínica o qual possui a base de dados com todos os prontuários.

Foram extraídas de cada prontuário as seguintes informações sobre os pacientes: sexo, idade na época do diagnóstico, raça, manifestações clínicas, resultados de exame sorológico para FIV e FeLV e de avaliações ultrassonográfica, citológica, histopatológica e imunoistoquímica.

Em relação às manifestações clínicas, foram extraídos dos prontuários, dados da anamnese e exame físico tais como: êmese, fezes pastosas ou diarreicas, hematoquezia, emagrecimento, hiporexia ou anorexia, apatia, além de poliúria, polidipsia e desidratação (Apêndices C e D).

Quanto à avaliação ultrassonográfica, foram extraídos do prontuário dados relativos ao exame, como perda da arquitetura da parede intestinal, espessamento de alças intestinais, presença de massa intestinal, linfonodomegalia mesentérica e ecogenicidade reduzidas desses linfonodos (Apêndices F e G). Foram considerados somente os exames ultrassonográficos no período anterior de 1 a 2 meses da data da laparotomia para biópsia intestinal e de linfonodo.

Os resultados de exames citológicos foram obtidos por meio dos prontuários ou por meio de base de dados da médica veterinária responsável pelo exame, que presta serviço à clínica (Apêndice H).

As informações relativas aos resultados de avaliação histopatológica e imunoistoquímica (Apêndices I, J e K) foram adquiridas por meio das fichas e dos laudos disponibilizados eletronicamente pelo *website* do laboratório Hemovet® por meio da internet, para o qual foram enviadas todas as amostras.

A investigação dos pacientes com doença inflamatória intestinal foi realizada de forma semelhante a dos pacientes com linfoma alimentar, de modo que ao final da pesquisa foram obtidos 20 felinos (grupo 2). Também foram extraídas dos prontuários desses animais, informações relativas à idade, sexo,

raça, manifestações clínicas e alterações ultrassonográficas. Utilizou-se somente os resultados de exames ultrassonográficos no período anterior de 1 a 2 meses a data da biópsia intestinal e de linfonodo.

A inclusão do grupo 2 na pesquisa foi especialmente importante para a realização da acurácia diagnóstica relativa entre as avaliações citológicas, histológicas e imunoistoquímicas (Apêndice L).

A seguir, todos os dados clínicos e de exames complementares descritos acima foram alocados em planilha do Excel® 2010 para posterior análise estatística.

3.5 Análise estatística

As variáveis raça, manifestações clínicas e alterações ultrassonográficas foram comparadas entre os felinos com linfoma alimentar (grupo 1) e os felinos com doença inflamatória intestinal (grupo 2) apenas de forma descritiva, devido ao baixo número de animais desse último grupo citado.

Quanto à idade dos felinos estudados com linfoma alimentar, foram aplicadas as medidas de média, mediana, valores mínimo e máximo, desvio-padrão. Também foram comparadas as médias de idade dos gatos do grupo 1 e grupo 2, utilizando-se o teste t- Student e os intervalos de confiança.

Com relação aos testes sorológicos para FIV e FeLV, além da análise descritiva, também foi verificado uma possível associação entre os resultados de sorologia e o fenótipo de linfoma alimentar (células T ou B), por meio do teste exato de Fisher.

As variáveis citologia, histopatologia e imunofenótipo, essa última resultante da avaliação imunoistoquímica, foram descritas estatisticamente. Os resultados de citologia e histopatologia foram correlacionados com os de imunoistoquímica, que foi considerado como padrão ouro no presente estudo.

A correlação entre os exames de citologia, histopatologia e imunoistoquímica foi realizada utilizando-se dos cálculos de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos, além de concordância e acurácia diagnósticas. O programa OpenEpi® foi utilizado para confirmar os valores dos cálculos supracitados.

A concordância diagnóstica foi determinada utilizando-se a medida de concordância Kappa de Cohen (PETRIE; WATSON, 2009). A acurácia diagnóstica foi calculada por meio de fórmula descrita por Fletcher e Wagner, em 1988, a saber:

$$\text{Acurácia} = \frac{VP+VN}{VP+VN+FP+FN} \times 100 = \%$$

Em todas as conclusões obtidas através das análises inferenciais foi utilizado o nível de significância α igual a 5% e intervalo de confiança de 95%. As análises estatísticas foram realizadas com o *software* Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) ® versão 19.0 for Windows®, R-Program® versão 2.11.1 e Minitab® versão 14 e 16.

4 RESULTADOS

4.1. Avaliação dos aspectos epidemiológicos e clínicos dos felinos com linfoma alimentar

A avaliação dos aspectos epidemiológicos dos quarenta felinos com linfoma alimentar (grupo 1) revelou uma média de idade de 10,8 anos (variando de 5 a 16 anos), mediana de 11 anos e desvio padrão de 2,8 anos, como mostra a tabela 1.

Tabela 1- Idade média, mediana, idades mínima e máxima e desvio padrão dos felinos diagnosticados com linfoma alimentar (grupo 1) e com doença inflamatória intestinal (grupo 2).

	N	média	mediana	mínimo	máximo	desvio-padrão
Grupo 1	40	10,8	11,0	5,0	16,0	2,76
Grupo 2	20	10,4	11,0	6,0	14,0	2,28
Total	60	10,6	11,0	5,0	16,0	2,52

A comparação das médias de idade dos animais com linfoma alimentar (grupo 1) e dos animais com suspeita de linfoma alimentar (grupo 2), mas negativos na avaliação imunoistoquímica (Tabela 1), não evidenciou diferença estatística, uma vez que o resultado do teste t *student* revelou valor de $p = 0,573$. Além disso, os intervalos de confiança foram comuns aos dois grupos: (9,915; 11,685) do grupo 1 e (9,415; 11,442) para o grupo 2.

Em relação ao padrão racial, 33 dos 40 felinos com linfoma alimentar (grupo 1) não apresentavam raça definida – SRD (82,5%), 5 eram Siameses (12,5%) e 2 eram Persas (5%) (Apêndice A). A proporção das raças dos 20 felinos com doença inflamatória intestinal (grupo 2) apontou que 15 (75%) eram sem raça definida (SRD), 4 (20%) Siameses e 1 (5%) da raça Korat (Apêndice B).

Dentre os quarenta gatos com linfoma alimentar, 20 eram fêmeas (50%) e 20 machos (50%) (Apêndice A). Os gatos com doença inflamatória intestinal, por sua vez, 12 (60%) eram machos e 8 (40%) fêmeas.

No que concerne às manifestações clínicas dos 40 felinos com linfoma alimentar (grupo 1), 22 (55%) apresentaram emagrecimento, 16 (40%) êmese, 13 (32,5%) diarreia, 7 (17,5%) anorexia, 7 (17,5%) desidratação, 6 (15%) hiporexia, 5 (12,5%) disorexia, 4 (10%) fezes pastosas, 4 (10%) apatia, 1 (2,5%) hematoquezia e 1 (2,5%) poliúria e polidipsia (Tabela 2).

Tabela 2- Distribuição das manifestações clínicas dos 40 felinos com linfoma alimentar (grupo 1).

Manifestação clínica	N	Porcentagem
Emagrecimento	22	55,0%
Êmese	16	40,0%
Diarreia	13	32,5%
Anorexia	7	17,5%
Desidratação	7	17,5%
Hiporexia	6	15,0%
Disorexia	5	12,5%
Apatia	4	10,0%
Fezes pastosas	4	10,0%
Hematoquezia	1	2,5%
Poliúria e polidipsia	1	2,5%

Em relação às manifestações clínicas dos 20 felinos com doença inflamatória intestinal (grupo 2), 12 (60%) apresentaram êmese, 12 (60%) diarreia, 7 (35%) emagrecimento, 6 (30%) hiporexia, 4 (20%) desidratação, 2 (10%) fezes pastosas, 2

(10%) anorexia, 2 (10%) disorexia, 2 (10%) apatia, 1 (5%) hematoquezia e 1 (5%) poliúria e polidipsia (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição das manifestações clínicas dos 20 felinos com doença intestinal inflamatória (grupo 2)

Manifestação clínica	N	Porcentagem
Êmese	12	60%
Fezes pastosas	2	10%
Diarreia	12	60%
Hematoquezia	1	5%
Emagrecimento	7	35%
Anorexia	2	10%
Disorexia	2	10%
Hiporexia	6	30%
Apatia	2	10%
Poliúria e polidipsia	1	5%
Desidratação	4	20%

Trinta e cinco gatos, dentre os 40 com linfoma alimentar estudados, tinham informação sorológica para o vírus da imunodeficiência felina e leucemia felina. Os resultados dos testes apontaram que 5 (14,28%) dos felinos foram positivos e 30 (85,72%) negativos para FIV, e que 3 (8,57%) foram positivos e 32 (91,43%) negativos para FeLV. Além disso, 27 (77,14%) foram negativos para ambas as viroses (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição dos resultados de sorologia para FIV e FeLV de 35 felinos com linfoma alimentar (grupo 1)

Sorologia	Resultado	N	Porcentagem
FeLV	Positivos	3	8,57%
	Negativos	32	91,43%
FIV	Positivos	5	14,28%
	Negativos	30	85,72%
FIV e FeLV	Negativo para ambos	27	77,14%

4.2 Avaliação ultrassonográfica dos felinos com linfoma alimentar

Entre os quarenta animais com linfoma alimentar (grupo 1), 36 felinos foram avaliados ultrassonograficamente e desses, 31 (86,11%) apresentaram linfonodomegalia mesentérica, 29 (80,55%) espessamento de alças intestinais, 20 (55,55%) diminuição da ecogenicidade de linfonodos mesentéricos, 14 (38,88%) perda da arquitetura da parede intestinal e 2 (5,55%) presença de massa intestinal (Tabela 5).

Tabela 5: Distribuição das alterações ultrassonográficas de 35 felinos com linfoma alimentar (grupo 1)

Alteração ultrassonográfica	N	Porcentagem
Linfonodomegalia mesentérica	31	86,11%
Espessamento de alças intestinais	29	80,55%
Ecogenicidade reduzida dos linfonodos mesentéricos	20	55,55%
Perda da arquitetura intestinal	14	38,88%
Presença de massa intestinal	2	5,55%

Em se tratando dos felinos com doença inflamatória intestinal (grupo 2), 15 dos 20 animais apresentaram resultado de avaliação ultrassonográfica, dos quais 14 (93,33) apresentaram espessamento de alça intestinal ou do estômago, 12 (80%) linfonodomegalia mesentérica, 11 (73,33%) diminuição de ecogenicidade de linfonodos mesentéricos, 3 (20%) perda de estratificação ou arquitetura das camadas intestinais e 1 (6,66%) neoformação ou massa em região intestinal, como mostra a tabela 6 a seguir.

Tabela 6: Distribuição das alterações ultrassonográficas de 15 felinos com doença intestinal inflamatória, submetidos ao exame.

Alteração ultrassonográfica	N	Porcentagem
Espessamento de alças intestinais	14	93,33%
Linfonodomegalia mesentérica	12	80%
Ecogenicidade reduzida dos linfonodos mesentéricos	11	73,33%
Perda da arquitetura intestinal	3	20%
Presença de massa ou neoformação intestinal	1	6,66%

4.3 Avaliações citológica, histopatológica e Imunoistoquímica

Dezesseis dos quarenta felinos com linfoma alimentar estudados apresentavam resultado de avaliação citológica, dos quais 14 (87,5%) culminaram em diagnóstico ou suspeita de linfoma alimentar; 1 (6,25%) foi compatível com processo inflamatório e 1 (6,25%) foi inconclusivo (Tabela 7).

Tabela 7 – Distribuição dos resultados da avaliação citológica dos felinos com linfoma alimentar

Resultado	N	Porcentagem
Sugestivo de linfoma alimentar ou Linfoma alimentar	14	87,5%
Sugestivo de processo Inflamatório	1	6,25%
Inconclusivo	1	6,25%
Total	16	100%

A avaliação histopatológica dos quarenta felinos estudados, apontou resultado compatível com linfoma alimentar em 35 (87,5%), condizente com doença inflamatória intestinal em 4 (10%) e inconclusivo em 1 (2,5%), como mostra a tabela 8. Entre os resultados condizentes com linfoma alimentar, 20 (45%) foram classificados como do tipo linfocítico ou de pequenas células ou de baixo grau (figuras 1 e 2); 6 (15%) como linfoblástico ou de grandes células (figuras 3 e 4); 3 (7,5%) foram classificados como de células intermediárias 6 (15%) não foram classificados, (Apêndice F).

Tabela 8 – Distribuição dos resultados de avaliação histopatológica dos felinos com linfoma alimentar.

Resultado	N	Porcentagem
Sugestivo de linfoma alimentar ou Linfoma alimentar	35	87,5%
Doença Inflamatória intestinal	4	10%
Inconclusivo	1	2,5%
Total	40	100%

Figura 1 - Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfocítico.

Observa-se epiteliotropismo, perda da definição de camadas teciduais, perda de vilosidades e epitélio. Coloração: HE. Aumento de 4x.

Figura 2 - Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfocítico.

Nota-se que infiltração de linfócitos no epitélio, perda da arquitetura tecidual e epiteliotropismo. Coloração: HE. Aumento de 40x.

Figura 3- Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico.

Notam-se as células neoplásicas promovendo invasão tecidual da camada muscular do intestino. Coloração: HE. Aumento de 4x.

Figura 4- Corte histológico de linfonodo de felino acometido por linfoma linfoblástico.

Podem-se observar centros germinativos com perda parcial da arquitetura. Coloração: HE. Aumento de 4x.

Figura 5- Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico.

Observa-se perda da arquitetura tecidual, invasão transmural por células neoplásicas, além de perda de epitélio e vilosidades. Coloração HE. Aumento de 4x.

Figura 6- Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico.

Pleomorfismo e figura de mitose evidenciada pela seta. Coloração HE. Aumento de 40x.

Figura 7- Corte histológico de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico.

Observa-se pleomorfismo e figura de mitose atípica (seta). Coloração: HE. Aumento de 40x.

Em relação à imunofenotipagem, possível por meio da avaliação imunoistoquímica realizada nos quarenta gatos estudados, 32 (80%) dos felinos apresentaram linfoma alimentar de células T (figura 6 e 7); 5 (12,5%) de células B (figura 8) e 3 (7,5%) resultados inconclusivos (tabela 9).

Figura 8- Corte histológico com marcação imunoistoquímica de intestino de felino acometido por linfoma linfocítico de imunofenótipo T com marcador CD3 positivo.

Observa infiltração de linfócitos no epitélio (epiteliotropismo) e perda de definição da membrana basal. Coloração: HE. Aumento de 40x.

Figura 9- Corte histológico com marcação imunoistoquímica de intestino de felino acometido por linfoma de baixo grau epiteliotrófico de imunofenótipo T com marcador de taxa de proliferação celular Ki67.

Coloração: HE. Aumento de 10x.

Figura 10- Corte histológico com marcação imunoistoquímica de intestino de felino acometido por linfoma linfoblástico de imunofenótipo B com marcação CD79a positiva.

A – Infiltração transmural por células neoplásicas marcadas. Coloração: HE. Aumento de 4x. B – Células B marcadas. Coloração: HE. Aumento de 40x.

Tabela 9 – Distribuição dos resultados quanto à imunofenotipagem dos felinos com linfoma alimentar

Imunofenotipagem	N	Porcentagem
Linfoma de células T	32	80%
Linfoma de células B	5	12,5%
Inconclusivo	3	7,5%
Total	40	100%

As informações de imunofenótipo foram relacionadas às de sorologia para FIV e FeLV dos felinos estudados (Tabela 10), utilizando-se o teste exato de Fisher, por meio do qual se obteve que para a presente amostra não se pode afirmar que exista associação entre o tipo celular do linfoma e o resultado de sorologia para FIV ($p > 0,999$) e para FeLV ($p = 0,238$).

Tabela 10- Distribuição dos resultados da sorologia para FIV e FeLV, segundo o imunofenótipo (células T ou B)

Imunofenótipo							
	Célula B		Célula T		Total		
FeLV							
Negativo	3	75,0%	27	96,4%	30	93,8%	p
Positivo	1	25,0%	1	3,6%	2	6,3%	0,238 ^a
Total	4	100,0%	28	100,0%	32	100,0%	
FIV							
Negativo	4	100,0%	23	82,1%	27	84,4%	>0,999 ^a
Positivo	-	-	5	17,9%	5	15,6%	
Total	4	100,0%	28	100,0%	32	100,0%	

^ateste Exato de Fisher

4.4 Correlação entre citologia, histopatologia e imunoistoquímica

A correlação entre os resultados de citologia e imunoistoquímica no presente estudo apontou sensibilidade relativa de 93,33% e especificidade relativa de 65%. Os valores preditivo positivo e negativo, e de verossimilhança positivo e negativo foram de 66,66%, 92,85%, 2,66 e 0,10, respectivamente. O número de falsos positivos obtidos foi 7. A concordância diagnóstica entre esses dois exames, medida pelo coeficiente Kappa de Cohen, foi de 0,55 e a acurácia diagnóstica relativa foi de 77,14% (Tabela 11).

Ao correlacionar os resultados de histopatologia e imunoistoquímica dessa pesquisa, obtiveram-se sensibilidade e especificidade relativas de 89,74 e 60%, respectivamente. O número de falsos positivos obtidos foi 8. Os valores preditivo positivo e negativo, e de verossimilhança positivo e negativo foram de 81,39%, 75%,

2,22 e 0,18, respectivamente. A concordância diagnóstica entre esses exames (coeficiente Kappa) foi de 0,52 e a acurácia diagnóstica relativa foi de 79,66% (Tabela 11).

Tabela 11- Estimativas de sensibilidade, especificidade, valores preditivo positivo e negativo relativos, razão de verossimilhança positivo e negativo, concordância diagnóstica e acurácia relativa dos exames de citologia e histopatologia em relação à imunoistoquímica

	Citologia	Histopatologia
Sensibilidade relativa	93,33 %	89,74%
Intervalo de confiança para a sensibilidade	0,701 ; 0,988	0,764 ; 0,959
Especificidade relativa	65%	60%
Intervalo de confiança para a especificidade	0,433 ; 0,818	0,386 ; 0,781
Valor preditivo positivo	66,66%	81,39%
Intervalo de confiança para valor preditivo positivo	0,453 ; 0,828	0,673 ; 0,902
Valor preditivo negativo	92,85%	75%
Intervalo de confiança para valor preditivo negativo	0,685 ; 0,987	0,505 ; 0,898
Razão de verossimilhança positiva	2,65	2,22
Razão de verossimilhança negativa	0,10	0,18
Concordância diagnóstica (coeficiente Kappa)	55%	52%
Intervalo de confiança para o coeficiente Kappa	0,265 ; 0,820	0,209 ; 0,706
Acurácia diagnóstica relativa	77,14%	79,66%

5 DISCUSSÃO

O linfoma é neoplasia hematopoiética mais comum nos gatos domésticos, sendo que o linfoma alimentar é a forma anatômica mais frequente desta afecção na espécie felina, podendo apresentar manifestações clínicas inespecíficas, como emagrecimento e anorexia, ou comuns a outras afecções gastrointestinais, o que torna essa enfermidade bastante semelhante clinicamente à doença inflamatória intestinal idiopática (MAHONY et al., 1995; WILSON, 2008; BARRS; BEATTY, 2012a). Em âmbito nacional, tem-se até o presente momento apenas um relato de 10 casos de linfoma alimentar submetidos à avaliação histológica e imunoistoquímica (RECHE JR et al., 2010)

Na tentativa de aprofundar os conhecimentos da moléstia, ao menos em âmbito regional em nosso país, o presente estudo teve como escopo principal a caracterização epidemiológica, clínica, citológica, histológica e imunoistoquímica do linfoma alimentar felino, bem como avaliar a correlação entre esses três últimos exames citados.

Com relação à faixa etária, observou-se que a idade média dos quarenta gatos com linfoma alimentar (grupo 1) estudados foi de 10,8 anos, concordando com outros trabalhos (MAHONY et al., 1995; GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; KRICK et al., 2008). Os felinos com doença inflamatória intestinal (grupo 2), por sua vez, apresentaram idade média de 10,4 anos. Esse achado era esperado uma vez que ambas as afecções acometem gatos de meia idade e gatos senis.

Em relação ao padrão racial dos felinos com linfoma alimentar, a grande maioria não apresentava definição racial (82,5%), concordando com outros autores (MAHONY et al., 1995; GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; CARRERAS et al., 2003; KISELOW et al., 2008; LINGARD et al., 2009; RECHE JR, 2010). Porém, entre os felinos com raça, 12,5% eram Siameses e 5% eram persas. A super-representação dos siameses observada nesse trabalho também foi apontada em outros estudos (GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; RECHE JR et al., 2010). Court, Watson e Peaston (1997) e Risseto et al. (2011) referiram uma aparente predisposição dos

siameses ao linfoma e neoplasias intestinais, respectivamente. Por outro lado, a maior proporção do Siamês entre os animais de raça pode refletir a popularidade dessa raça no país e não necessariamente uma predisposição genética.

Entre os felinos com doença inflamatória intestinal, a proporção dos animais sem raça definida também foi maior (75%) em relação aos felinos com raça definida. E entre os animais com padrão racial definido, 20% eram siameses e 5% Korat.

Dos quarenta gatos com linfoma alimentar, observou-se igual distribuição entre machos e fêmeas acometidos, diferentemente da maioria dos estudos nos quais os machos apresentaram uma super-representação (COURT; WATSON; PEASTON, 1997; GABOR; MALIK; CANFIELD, 1998; KISELOW et al., 2008; KRICK et al., 2008; RECHE JR et al., 2010). A distribuição de gênero dos felinos com doença inflamatória intestinal revelou uma proporção de 60% de machos e 40% de fêmeas.

As idades médias iguais estatisticamente, as proporções raciais e de gênero semelhantes entre os felinos do grupo com linfoma alimentar (grupo 1) e com doença inflamatória intestinal (grupo 2) podem sugerir que esses gatos têm um perfil epidemiológico parecido.

No tocante à sorologia para FIV e FeLV, a maioria dos felinos (77,14%) foi negativa para ambas viroses, o que corrobora trabalhos anteriores (CARRERAS et al., 2003; KRICK et al., 2008; LINGARD et al., 2009; RECHE JR, 2010). Cinco gatos foram positivos para FIV (14,28%), achado semelhante observado por outros autores, o que pode ser explicado pelo possível papel indireto desse lentivírus no desenvolvimento do linfoma (ZWAHLEN et al., 1998; RECHE JR et al., 2010).

Três felinos foram positivos para FeLV (8,57%), semelhantemente ao observado por Mahony et al., em 1995. No entanto, empregou-se o teste sorológico que detecta a proteína p27 do FeLV em felinos virêmicos, ou seja, que apresentam a infecção ativa desse retrovírus (RECHE JR et al., 2010). É sabido que mesmo os felinos que debelam a infecção, tem maior predisposição ao linfoma, e até 60% desses animais podem ter o provírus do FeLV integrado no DNA das células, como apontaram Weiss, Klopffleisch e Gruber em pesquisa realizada em 2010. Porém, em estudo no qual foi realizada a pesquisa do provírus do FeLV, por meio da PCR e

imunoistoquímica, utilizando-se catorze amostras teciduais de linfoma felino, observou-se resultado negativo em todas as amostras, o que sugere que esses linfomas não foram induzidos por esse vírus (WANG et al., 2001). Em vista do exposto, é provável que se realizada a PCR de amostras dos tecidos acometidos pelo linfoma, talvez fosse encontrado resultado diferente ao da sorologia.

No que se refere ao quadro clínico dos felinos com linfoma alimentar, as manifestações clínicas foram semelhantes às de outras pesquisas. A alteração clínica mais observada em nosso trabalho, o emagrecimento (55%), também foi predominante em outros estudos (KISELOW et al., 2008; LINGARD et al., 2009; RECHE JR et al., 2010). Esse achado divergiu de outros estudos, os quais a anorexia e apatia tiveram maior ocorrência, (WELLMAN et al., 1992; MAHONY et al., 1995; COURT; WATSON; PEASTON, 1997; KRICK et al., 2008).

Êmese e diarreia foram a segunda e terceira alteração clínica de maior ocorrência com 40% e 32,5%, respectivamente.

A diarreia como manifestação clínica do linfoma alimentar felino, observada na presente pesquisa, era esperada. Sabe-se que em processos inflamatórios e neoplásicos do intestino, ocorre diminuição da permeabilidade da mucosa e consequentemente perda de líquidos e eletrólitos (LEIB, 2005). Além disso, a presença de massa intestinal pode ainda diminuir a luz intestinal, mesmo que parcialmente, podendo gerar síndrome do supercrescimento bacteriano (SIBO), com fermentação de carboidratos e retenção de nutrientes, levando a um aumento do número de partículas ativas osmoticamente, culminando em diarreia osmótica. A SIBO pode *per si* provocar o aumento do estímulo junto às criptas dos enterócitos, devido ao aumento de bactérias no lúmen e também causar aumento da motilidade devido aos metabólitos produzidos pela microbiota intestinal alterada, desencadeando hipersecreção intestinal e, por conseguinte, diarreia secretória. Um quadro de diarreia moderada ou profusa pode levar à desidratação - observada em 17,5% dos felinos do grupo 1, no presente estudo (TAMS, 2003; LEIB, 2005).

A êmese, observada nos felinos com linfoma alimentar na presente pesquisa, pode ser explicada devido ao estímulo de receptores 5-HT3 localizados nas terminações aferentes vagais, que produz um estímulo no centro do vômito

localizado na medula oblongada, culminando com posterior ato reflexo do vômito (TWEDT, 2009; CAPONERO, 2011).

O emagrecimento presente em 55% dos animais com linfoma alimentar nesse trabalho pode ser explicada tanto pela má absorção secundária à doença difusa da mucosa intestinal ou à SIBO, associada à êmese, quanto pelo fato de se tratar de uma neoplasia, que pode levar a caquexia provocada por um estado hipermetabólico que, somado à inapetência, resulta em ingestão de proteína e nutrientes insuficientes para suprir as necessidades nutricionais do indivíduo (MAULDIN, 2001; JERGENS, 2005; BALDUCCI, 2007).

Em relação aos animais com doença inflamatória intestinal, a êmese e a diarreia foram as manifestações clínicas mais prevalentes, ambas com 60% de ocorrência. O emagrecimento foi a terceira manifestação clínica mais comum, presente em 35% dos felinos.

Das alterações ultrassonográficas dos felinos do grupo 1, a linfonodomegalia mesentérica, espessamento de alças intestinais e ecogenicidade reduzida dos linfonodos mesentéricos foram as de maior ocorrência, observadas em 86,11%, 80,55% e 55,55% dos felinos estudados, respectivamente; concordando com Lingard et al. (2009). Os demais achados ultrassonográficos encontrados, como presença de perda da arquitetura intestinal e massa intestinal também foram relatados em outros trabalhos (MAHONY et al., 1995; RECHE JR et al., 2010). Entre os gatos do grupo 2, as alterações ultrassonográficas mais predominantes foram as mesmas, porém em proporções diferentes: o espessamento de alças intestinais foi observado em 93,3%, seguido pela linfonodomegalia mesentérica (80%) e pela ecogenicidade reduzida de linfonodos mesentéricos, que correspondeu a 73,33%.

O fato das mesmas manifestações clínicas e ultrassonográficas mais predominantes coincidirem entre os felinos do grupo com linfoma alimentar e com doença inflamatória intestinal reforça o quanto essas duas afecções são parecidas clinicamente.

O perfil epidemiológico e o quadro clínico semelhantes podem apenas ser uma coincidência entre as duas moléstias ou reforçar a hipótese de que o linfoma

alimentar é uma progressão da doença inflamatória intestinal, uma vez que linfócitos neoplásicos podem surgir em um cenário inflamatório no qual há proliferação linfóide reativa (NGUANSANGIAM et al., 2012). Sinkovics, em 2012, afirmou que a inflamação crônica tem um papel importante na carcinogênese, que pode ser explicada pela eficácia de agentes anti - inflamatórios não esteroidais como inibidores da oncogênese. O achado de enterite linfoplasmocitária concomitante em outras partes do intestino ou estômago e histórico de doença inflamatória intestinal prévia observados em trabalhos anteriores corroboram essa hipótese (CARRERAS et al., 2003; ROCCABIANCA et al., 2006; BRISCOE et al., 2011).

A avaliação histopatológica apontou o linfoma linfocítico ou de pequenas células como o mais prevalente no presente estudo, concordando com Valli et al. (2000) e Reche Jr. et al. (2010); mas contrastando com os resultados de Pohlman et al. (2009), cujo trabalho apontou o linfoma linfoblástico o mais prevalente.

No que concerne o fenótipo dos linfomas dos felinos estudados, resultante da avaliação imunoistoquímica, o tipo celular de maior ocorrência foi o de células T, concordando com algumas pesquisas (ZWAHLEN et al., 1998; RECHE JR et al., 2010; SATO et al., 2011). No entanto, a maioria dos estudos nos quais foram realizadas a imunofenotipagem dos linfomas gastrointestinais, o de células B foi o mais prevalente (GABOR; CANFIELD; MALIK, 1999; WANG et al., 2001; PATTERSON-KANE; KUGLER; FRANCIS, 2003; WALY et al., 2005; ESTEBAN, 2008; POHLMAN et al., 2009). A diferença na prevalência do tipo celular do linfoma alimentar felino, nas diferentes pesquisas citadas, pode ser explicada devido a uma variação regional. O fato de haver divergência no tipo celular de maior ocorrência desse tipo de linfoma em um mesmo país sustenta essa hipótese (ZWAHLEN et al., 1998; EVANS et al., 2006; POHLMAN et al., 2009).

A associação entre fenótipo do linfoma e resultado de sorologia para FIV e FeLV não pode ser demonstrada em nossa pesquisa. A maior ocorrência dos linfomas de células T e de felinos negativos para essas viroses pode ser explicada devido à maior prevalência de ambos, sem, contudo, significar uma relação entre esses dois fatos. Outra possibilidade é que uma possível associação entre o tipo celular do linfoma e o resultado sorológico não tenha sido evidenciado na presente pesquisa devido ao tamanho amostral. Entre os gatos FIV positivos não foi

observada uma preponderância de um dos tipos celulares, contrastando com os achados de outros estudos (CALLANAN et al., 1996; ENDO et al., 1997; GABOR et al., 2001).

No que tange as sensibilidades e especificidades das avaliações citologia e histopatologia em relação à imunoistoquímica, resultados semelhantes foram obtidos. Tanto a citologia quanto a histopatologia revelaram uma alta sensibilidade sendo 89,74% e 93, 33%, respectivamente. E ambos também revelaram uma baixa especificidade, sendo 65% na histopatologia e 60% na citologia, com número de falsos positivos de 8 e 7, respectivamente. Valores não tão altos de sensibilidade e baixos de especificidade, e semelhante número de falsos positivos, podem refletir a dificuldade de diagnóstico dessa afecção e enfatizam a necessidade de confirmação imunoistoquímica ou por meio da PCR, essa última ainda restrita às pesquisas.

Como já citado anteriormente, o linfoma alimentar felino pode surgir em um cenário inflamatório no qual há proliferação linfoide, o que confere a presença tanto de células inflamatórias e linfócitos normais com o advento de células neoplásicas (SINKOVICS, 2011; NGUANSANGIAM et al., 2012). Uma amostra citológica aspirada em um local do tecido no qual as células inflamatórias e linfócitos permanecem sem alterações neoplásicas (atipias) pode levar ao diagnóstico de processo inflamatório ou hiperplasia linfoide reacional. Kline, Kannan e Kline, em 1984, em seu estudo correlacionando avaliação citológica e histopatológica de linfonodos, observaram 10 falsos positivos, e sustentaram que a diferenciação entre linfoma e linfadenopatia por meio da citologia por PAAF representa um desafio diagnóstico. Portanto, recomenda-se a utilização da citologia, juntamente com a histopatologia e imunoistoquímica para o correto diagnóstico do linfoma alimentar felino.

As razões de verossimilhança positiva das avaliações citológica e da histopatológica indicaram que quando se obtém um resultado positivo, a chance de se conseguir resultado positivo também na imunoistoquímica é de 2,65 e 2,22, respectivamente.

O coeficiente Kappa mede a concordância diagnóstica e exclui a possibilidade de concordância aleatória. Os valores observados para a citologia e histopatologia,

em relação à imunoistoquímica foram 0,55 e 0,52, respectivamente, o que configura uma concordância moderada ($0,41 \leq K \leq 0,60$), segundo Petrie e Watson (2009).

A acurácia diagnóstica observada da citologia e histopatologia em relação à imunoistoquímica foi de 77,14 e 79,66, respectivamente. Os valores da acurácia relativa são superiores ao do coeficiente Kappa, visto que diferente do segundo, o primeiro não exclui a possibilidade de concordância aleatória.

6 CONCLUSÕES

Baseado na metodologia empregada nas avaliações dos prontuários, nos resultados das avaliações citológica, histopatológica e imunoistoquímica realizadas dos pacientes estudados, bem como nos resultados das análises estatísticas empregados na presente pesquisa, pode-se concluir que:

- No tocante as manifestações clínicas do linfoma alimentar em gatos, o emagrecimento, a êmese e as alterações nas fezes foram os sintomas de maior ocorrência, os quais o clínico deve atentar.
- Não se pode afirmar que exista associação entre os resultados de sorologia para FIV e FeLV e o tipo celular do linfoma alimentar.
- A combinação da citologia, histopatologia e imunoistoquímica para o correto diagnóstico do linfoma alimentar felino é necessária.
- O imunofenótipo de linfoma alimentar na espécie felina de maior ocorrência foi o de células T.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, R. L. Imunoistoquímica em oncologia veterinária. Em: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2008. p.136-148.
- AVERY, A. C. Molecular diagnostics of hematologic malignancies in small animals. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 42, p. 97-110, 2012.
- BALDUCCI, L. Molecular biology of cancer and aging. In: VILLABOBOS, A.; KAPLAN, L. **Canine and feline geriatric oncology**. Iowa: Blackwell Publishing, 2007, p. 5.
- BARRS, V.; BEATTY, J. Feline alimentary lymphoma. Classification, risk factors, clinical signs and non-invasive diagnostics. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 14, p. 182-190, 2012a.
- BARRS, V.; BEATTY, J. Feline alimentary lymphoma. Further diagnostics, therapy and prognosis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 14, p. 191-201, 2012b.
- BEATTY J. A.; CALLANAN, J. J.; TERRY, A.; JARRETT, O.; NEIL, J. C. Molecular and immunophenotypical characterization of a feline immunodeficiency virus (FIV)-associated lymphoma: a direct role for FIV in B-cell-lymphocyte transformation? **Journal of Virology**, v. 72, n. 1, p. 767-771, 1998.
- BEATTY, J. A.; TERRY, A.; MAC DONALD, J. Feline immunodeficiency virus integration in B-cell lymphoma identifies a candidate tumor suppressor gene on human chromosome 15q15. **Cancer Research**, v. 62, p. 7175-7180, 2002.
- BERTONE, E. R.; SNYDER, L. A.; MOORE, A. S. Environment tobacco smoke and risk of malignant lymphoma in pet cats. **American Journal of Epidemiology**, v. 156, n. 3, p. 268-273, 2002.
- BRIDGEFORD, E. C.; MARINI, R. P.; FENG, Y.; PARRY, N. M. A.; RICKMAN, B.; FOX, J. G. Gastric *Helicobacter* species as a cause of feline gastric lymphoma: a viable hypothesis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 123, p. 106-113, 2008.
- BRISCOE, K. A.; KROCKENBERGER, M.; BEATTY, J. A.; CROWLEY, A.; DENNIS, M. M.; CANFIELD, P. J.; DHAND, N.; LINGARD, A. E.; BARRS, V. R. Histopathological and immunohistochemical evaluation of 53 cases of feline lymphoplasmacytic enteritis and low-grade alimentary lymphoma. **Journal of Comparative Pathology**, v. 145, p.187-198, 2011.
- BRYAN, J. N. Tumors of the hematopoietic system. In: HENRY, C. J.; HIGGINBOTHAM, M. L. **Cancer management in small animal practice**. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2010. p. 348-353.

CALLANAN, J. J.; JONES, B. A.; IRVINE, J.; WILLETT, B. J.; MCCANDLISH, I. A. P.; JARRETT, A. Histologic classification and immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquire feline immunodeficiency virus infections. **Veterinary Pathology**, v. 36, p. 264-272, 1996.

CAPONERO, R. (Coord) Consenso brasileiro de náuseas e vômitos. **Revista Brasileira de Cuidados Paliativos**, v. 3, n. 3, 2011. Suplemento, 2.

CARRERAS, J. K.; GOLDSCHMIDT, M.; LAMB, M.; MCLEAR, R. C.; DROBATZ, K. J.; SORENMO, K. U. Feline epitheliotropic intestinal malignant lymphoma: 10 cases (1997-2000). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, p. 326-331, 2003.

CASAMIAN-SORROSAL, D.; WILLARD, M. D.; MURRAY, J. K.; HALL, E. J.; TAYLOR, S. S.; DAY, M. J. Comparison of histopathologic findings in biopsies from the duodenum and ileum of dogs with enteropathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 80-83, 2010.

CASTILLO, J. J.; DALIA, S. Cigarette smoking is associated with a small increase in the incidence of non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis of 24 observational studies. **Leukemia & lymphoma**. 2012. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/10428194.2012.673225>>. Acesso em: 15, ago, 2012.

CESARI, A.; BETTINI, G.; VEZZALI, E. Feline intestinal T-cell lymphoma: Assessment of morphologic and kinetic features in 30 cases. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 21, n. 2, p. 277-279, 2009.

CHALITA, M. C. C. **Estudo clínico e correlação cito-histológica de tumores em pele e partes moles de cães**. 2001. 89 f. Dissertação. (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2001.

CHEVILLE, N. F. **Introduction to veterinary pathology**. 3rd ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006. p.169-189.

COURT, E. A.; WATSON, A. D. J.; PEASTON, A. E. Retrospective study of 60 cases of feline lymphosarcoma. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 6, p. 424-427, 1997.

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

CROW, S. E. Tumors of the alimentary tract. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 15, n. 3, p. 577-594, 1985.

DALECK, C. R.; CALAZANS, S. G.; DE NARDI, A. B. Linfomas. Em: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p. 482-503.

DANK, G.; LUCROY, M. D.; GRIFFEY, S. M.; GANDOURS-EDWARDS, R.; MADEWELL, B. R. Bcl-2 and MIB-1 labeling indexes in cats with lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.16, p. 720-725, 2002.

DEMETRIOU, J. L.; WELSH, E. M. Rectal prolapse of na ileocaecal neoplasm associated with intussusception in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 1, p. 253-256, 1999.

ENDO, Y.; CHO, K. W.; NISHIGAKI, K.; MOMOI, Y.; NISHIMURA, Y.; MIZUNO, T.; GOTO, Y.; WATARI, T.; TSUJIMOTO, H.; HASEGAWA, A. Molecular characteristics of malignant lymphomas in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 57, p.153-167, 1997.

ESTEBAN, D. Linfoma alimentario feline: inmunofenotipo, quimioterapia y evolución de 9 casos clínicos. **Clínica Veterinaria de Pequeños Animales**, v. 28, n. 2, p. 109-114, 2008.

EVANS, S. E.; BONCZYNSKI, J. J.; BROUSSARD, J. D.; HAN, E.; BAER, K. E. Comparison of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 229, n. 9, p. 1447-1450, 2006.

FLETCHER, R. H.; WAGNER, E. H. **Clinical epidemiology: the essentials**. 2nd edition. Baltimore: Williams and Wilkins, 1988. p. 43-55.

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

GABOR, L. J.; CANFIELD, P. J.; MALIK, R. Immunophenotypic and histological characterization of 109 cases of feline lymphosarcoma. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 7, p. 436-441, 1999.

GABOR, L. J.; LOVE, D. N.; MALICK, R.; CANFIELD, P. J. Feline immunodeficiency virus status of Australian cats with lymphosarcoma. **Australian Veterinary Journal**, v. 79, n. 8, p. 540-545, 2001.

GABOR, L. J.; MALIK, R.; CANFIELD, P. J. Clinical and anatomical features of lymphosarcoma in 118 cats. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, n. 11, p. 725-732, 1998.

GABOR, L. J.; MALIK, R.; CANFIELD, P. J. Haematological and biochemical findings in cats in Australia with lymphosarcoma. **Australian Veterinary Journal**, v. 78, n.7, p. 456-461, 2000.

GARDNER, C. H.; HICKS, S. L.; PUETTE, J. R.; BUNCH, S. E. Veterinary Medicine Today. What is your diagnosis? **Journal of American Veterinary Medical Association**, n. 6, p. 783-784, 2003.

GIEGER, T. Alimentary lymphoma in cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 41, p. 419-432, 2011.

GISBERT, J. P.; CALVET, X. Review article: common misconceptions in the management of *Helicobacter pylori*-associated gastric MALT-lymphoma. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 34, p. 1047-1062, 2011.

GOGGIN, J. M.; BILLER, D. S.; DEBEY, B. M.; PICKAR, J. G.; MASON, D. Ultrasonographic measurement of gastrointestinal wall thickness and the ultrasonographic appearance of the ileocolic region in healthy cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 36, p. 224-228, 2000.

JARRET, O.; HOSIE, M. J. Infecção pelo vírus da leucemia felina. In: CHANDLER, E. A.; GASKELL, C. J.; GASKELL, R. M. **Clínica e terapêutica em felinos**. São Paulo: Roca, 2006. P. 487-491.

JERGENS, A. E. Chronic diarrhea. In: HALL, E. J.; SIMPSON, J. W.; WILLIAMS, D. A. **BSAVA Manual of canine and feline gastroenterology**. Gloucscester: British Small Animal Veterinary Association, 2005. p. 82-86.

KIM, S. S.; RUIZ, V. E.; CARROLL, J. D.; MOSS, S. F. *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of gastric cancer and gastric lymphoma. **Cancer letters**, v. 305, p. 228-238, 2011.

KLEINSCHMIDT, S.; HARDER, J.; NOLTE, I.; MARSILIO, S.; HEWICKER-TRAUTWEIN, M. Chronic inflammatory and non-inflammatory diseases of gastrointestinal tract in cats: diagnostic advantages of full-thickness intestinal and extraintestinal biopsies. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, p. 97-103, 2010.

KLINE, T. S.; KANNAN, V.; KLINE, I. K. Lymphadenopathy and aspiration biopsy cytology. **Cancer**, v. 54, p. 1076-1081, 1984.

KISELOW, M. A.; RASSNICK, K. M.; MC DONOUGH, S. P.; GOLDSTEIN, R. E.; SIMPSON, K. W.; WEINKLE, T. K.; ERB, H. N. Outcome of cats with low-grade lymphocytic lymphoma: 41 cases(1995-2005). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 232, n. 3, p. 405-410, 2008.

KIUPEL, M.; SMEDLEY, R. C.; PFENT, C.; IE, Y.; XUE, Y.; WISE, A. G.; DE VAUL, J. M.; MAES, R. K. Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 212-222, 2011.

KRICK, E. L.; LITTLE, L.; PATEL, R.; SHOFER, F. S.; SORENMO, K.; CLIFFORD, C. A.; BAEZ, J. L. Description of clinical and pathological findings, treatment and outcome of feline large granular lymphocyte lymphoma (1996-2004). **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 6, n. 2, p. 102-110, 2008.

KRICK, E. L.; MOORE, R. H.; COHEN, R. B.; SORENMO, K. U. Prognostic significance of weight changes during treatment of feline lymphoma. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, p. 976-983, 2011.

LEIB, M. S. Acute diarrhoea. In: HALL, E. J.; SIMPSON, J. W.; WILLIAMS, D. A. **BSAVA Manual of canine and feline gastroenterology**. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2005. p. 78-81.

LEIBMAN, N. F.; LARSON, V. S.; OGILVE, G. K. Oncologic diseases of the digestive system. In: TAMS, T. R. **Handbook of small animal gastroenterology**. Saint Louis: Saunders, 2003. p. 391-394.

LINGARD, A. E.; BRISCOE, K.; BEATTY, J. A.; MOORE, A. S.; CROWLEY, A. M.; KROCKENBERGER, M.; CHURCHER, R. K.; CANFIELD, P. J.; BARRS, V. R. Low-grade alimentary lymphoma: clinicopathological findings and response to treatment in 17 cases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, p. 692-700, 2009.

LOUWERENS, M.; LONDON, C. A.; PEDERSEN, N. C.; LYONS, L. A. Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, p. 329-335, 2005.

MACPHAIL, C. Gastrointestinal obstruction. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 17, n. 4. p.178-183, 2002.

MAGDEN, E.; QUACKENBUSH, S. L.; VANDEWOUDE, S. FIV associated neoplasms – A mini review. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 143, p. 227-234, 2011.

MAHONY, O. M.; MOORE, A. S.; COTTER, S. M.; ENGLER, S. J.; BROWN, D.; PENNING, D. G. Alimentary lymphoma in cats: 28 cases (1988-1993). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 207, n. 12, p. 1593-1597, 1995.

MAULDIN, G. E. Nutritional Considerations. In: ROSENTAL, R. C. **Veterinary Oncology Secrets**. Philadelphia: Medical Publishers, 2001. p. 100-105.

MESTRINHO, L. A.; ALVES, A. C.; PARREIRA, P.; ONÇA, R. J.; SOUZA, M. J. Localized oral B-cell lymphoma in a cat – clinical case report. **Revista Lusófona Ciência e Medicina Veterinária**, v. 1, p. 16-20, 2007.

MILNER, R. J.; PEYTON, J.; COOKE, K.; FOX, L. E.; GALLAGHER, A.; GORDON, P. Response rates and survival times for cats with lymphoma treated with the university of Wisconsin-Madison chemotherapy protocol: 38 cases (1996-2003). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 7, p. 1118-1122, 2005.

MOONEY, S. C.; HAYES, A. A.; MACEWEN, E. G.; MATUS, R. E.; GEARY, A.; SHURGOT, B. A. Treatment and prognostic factors in lymphoma in cats: 103 cases (1977- 1981). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 194, n. 5, p. 696-699, 1989.

MOORE, P. F.; RODRIGUEZ-BERTOS, A.; KASS, P. H. Feline gastrointestinal lymphoma: Mucosal architecture, immunophenotype, and molecular clonality. **Veterinary Pathology**, 2011. Disponível em: <<http://vet.sagepub.com/content/early/2011/04/19/0300985811404712>>. Acesso em: 14 maio 2012.

MOORE, P. F.; WOO, J. C.; VERNAU, W.; KOSTEN, S.; GRAHAM, P. S. Characteriation of feline T cell receptor gamma (TCRG) variable region genes for the molecular diagnosis of feline intestinal T cell lymphoma. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 106, p. 167-178, 2005.

MORRIS, J.; DOBSON, J. Sistema hematopoiético. Linfoma. In:-----. **Oncologia em pequenos animais**. São Paulo: Rocca, 2007. p. 229-251.

MORRISON, W. B. **Lymphoma in dogs and cats**. Jackson: TetonNew Media, 2005. p. 12-48.

NEIGER, R. Tumours of the stomach. In: DOBSON, J. M.; LASCELES, B. D. X. **BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology**. 2nd. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association, 2003. p. 221-223.

NGUANSANGIAM, S.; JESDAPATARAKUL, S.; DHANARAK, N.; SOSRISAKORN, K. Accuracy of fine needle aspiration cytology of salivary gland lesions: routine diagnostic experience in Bangkok, Thailand. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 12, p. 1583-1588, 2012

NORTH, S.; BANKS, T. Feline Lymphoma. In: -----. **Small Animal Oncology. An introduction**. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2009. p.231-232.

OBERTHALER, K. T.; MAULDIN, E.; MCMANUS, P. M.; SHOFR, F. S.; SORENMO, K. U. Rescue therapy with doxorubicin-based chemotherapy for relapsing or refractory feline lymphoma: a retrospective study of 23 cases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, p. 259-265, 2009.

PARSHLEY, D. L.; LARUE, S. M.; KITCHELL, B.; HELLER, D.; DHALIWAL, R. S. Abdominal irradiation as a rescue therapy for feline gastrointestinal lymphoma: a retrospective study of 11 cats (2001-2008). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, p. 63-68, 2011.

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

PEASTON, A. E.; MADDISON, J. E. Efficacy of doxorubicin as an induction agent for cats with lymphosarcoma. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 7, p. 442-444, 1999.

PETRIE, A.; WATSON, P. **Estatística em ciência animal e veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2009. p. 151-159.

PHILLIPS, B. S.; KASS, P.H.; NAYDAN, D. K.; WINTHROP, M. D.; GRIFFEY, S. M.; MADEWELL, B. R. Apoptotic and proliferation indexes in canine lymphoma. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 12, p. 111-117, 2000.

PIRES, M. A.; TRAVASSOS, F. S.; GÄRTNER, F. **Atlas de patologia veterinária**. Lisboa: Lidel, 2004. p.135-153.

POHLMAN, L. M.; HIGGINBOTHAM, M. L.; WELLES, E. G.; JOHNSON, C. M. Immunophenotypic and histologic classification of 50 cases of feline gastrointestinal lymphoma. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 2, p. 259-268, 2009.

RAGAINI, L.; ASTE, G.; CAVICCHIOLI, L.; BOARI, A. Inflammatory bowel disease mimicking alimentary lymphosarcoma in a cat. **Veterinary Research Communications**, v. 27, p. 791-793, 2003. Supplement, 1.

RASSNICK, K. M.; MAULDIN, G. N.; MOROFF, S. D.; MAULDIN, G. E.; MC ENTEE, M. C.; MOONEY, S. C. Prognostic value of Argyrophilic Nucleolar Organizer Region (AgNOR) staining in feline intestinal lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, p. 187-190, 1999.

REBAR, A.H.; MAC WILLIAMS, P.S.; FELDMAN, B. F.; METZGER JR., F. L.; POLLOCK, R. V. H.; ROCHE, J. Guia de hematologia para cães e gatos. São Paulo: Rocca, 2003. p. 123-130.

RECHE JUNIOR, A.; CHALITA, M. C. C.; WANG, L.; GERALDO JÚNIOR, C. A.; SANTOS, C. F.; FREITAS, M. F. Uso da L-asparaginase, Prednisona e Clorambucil no tratamento de gatos com linfoma alimentar: 32 casos (2004 - 2009). **A Hora Veterinária**, n. 173, p. 9-16, 2010.

RICHTER, K.P. Feline gastrointestinal lymphoma. **The Veterinary Clinics - Small Animal Practice**, n 33, p. 1083-1098, 2003.

RISSETO, K.; VILLAMIL, J. A.; SELTING, K. A.; TYLER, J.; HENRY, C. J. Recent trends in feline intestinal neoplasia: na epidemiologic study of 1,129 cases in the veterinary medical database from 1964 to 2004. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 47, n. 1, p. 28-36, 2011.

ROCCABIANCA, P.; VERNAU, W.; CANIATTI, M.; MOORE, P. F. Feline large granular lymphocyte (LGL) lymphoma with secondary leukemia: primary intestinal origin with predominance of CD3/CD8 $\alpha\alpha$ phenotype. **Veterinary Pathology**, v. 43, n. 1, p. 15-28, 2006.

RUAUX, C. G.; STEINER, J.M.; WILLIAMS, D.A. Em: CHANDLER, E. A.; GASKELL, C. J.; GASKELL, R. M. **Clínica e terapêutica em felinos**. São Paulo: Roca, 2006. p. 343-344.

SATO, H.; FUJINO, Y.; UCHIDA, K.; OHNO, K.; NAKAYAMA, H.; TSUJIMOTO, H. Comparison between immunohistochemistry and genetic clonality analysis for cellular lineage determination in feline lymphomas. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 73, n. 7, p. 945-947, 2011.

SCHREURS, E.; VERMOTE, K.; BARBERET, V.; DAMINET, S.; RUDORF, H.; SAUNDERS, J. H. Ultrasonographic anatomy of abdominal lymph nodes in the normal cat. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 49, n. 1, p. 68-72, 2008.

SCOTT, K. D.; ZORAN, D. L.; MANSELL, J.; NORBY, B.; WILLARD, M. D. Utility of endoscopic biopsies of the duodenum and ileum for diagnosis of inflammatory bowel disease and small lymphoma in cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, p. 1253-1257, 2011.

SHELTON, G. H.; GRANT, C. K.; COTTER, S. M.; GARDNER, M. B.; HARDY JR., W. D.; DIACOMO, R. F. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 3, n. 6, p. 623-630, 1990.

SIMPSON, K. W.; FYFE, J.; CORNETTA, A.; SACHS, A.; STRAUSS-AYALI, D.; LAMB, S. V.; REIMERS, T. J. Subnormal concentrations of serum cobalamin (Vitamin B12) in cats with gastrointestinal disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, p. 26-32, 2001.

SINKOVICS, J. G. Molecular biology of oncogenic inflammatory processes. I. Non-oncogenic and oncogenic pathogens, intrinsic inflammatory reactions without pathogens, and microRNA/DNA interactions (Review). **International Journal of Oncology**, v. 40, p. 305-349, 2012.

SLAWIENSKI, M. L.; MAULDIN, G. E.; MAULDIN, G. N.; PATNAIK, A. K. Malignant colonic neoplasia in cats: 46 cases (1990-1996). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 211, n.7, p. 878-881, 1997.

SMITH, A. L.; WILSON, A. P.; HARDIE, R. J.; KRICK, E. L.; SCHMIEDT, C. W. Perioperative Complications after full-thickness gastrointestinal surgery in cats with alimentary lymphoma. **Veterinary Surgery**, v. 40, p. 849-852, 2011.

STEIN, T. J.; PELLIN, M.; STEINBERG, H.; CHUN, R. Treatment of feline gastrointestinal small-cell lymphoma with chlorambucil and glucocorticoids. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 46, n. 6, p. 413-417, 2010.

TAMS, T. R. Chronic disease of the small intestine. In: TAMS, T. R. **Handbook of small animal gastroenterology**. Missouri: Saunders, 2003. p. 234- 239.

TESKE, E.; VAN STRATEN, G.; VAN NOORT, R.; RUTTERMAN, G. R. Chemotherapy with cyclophosphamide, vincristine and prednisolone in cats with malignant lymphoma: new results with an old protocol. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16. p. 179-186, 2002.

TWEDT, D. C. Vomiting. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. 7th ed., California: Elsevier, 2009. v. 1, p. 730-739.

VAIL, D. M. Feline lymphoma and leukemia. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Small Animal clinical oncology**. 4th. edition. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 733-748.

VAIL, D. M.; MOORE, A. S.; OGILVIE, G. K.; VOLK, L. M. Feline lymphoma (145 cases): Proliferation indices, cluster of differentiation 3 immunoreactivity, and their association with prognosis in 90 cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 12, p. 349-354, 1998.

VAIL, D. M.; YOUNG, K. M. Hematopoietic tumors. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Small animal clinical oncology**. 4th ed. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 699-725.

VALENCIANO, A. C.; COWEL, R. L.; ARNDT, T. P. Lymphoma. In: NORSWORTHY, G. D.; GRACE, S. F.; CRYSTAL, M. A.; TILLEY, L. P. **The feline patient**. 4th ed. Iowa: Blackwell publishing, 2011. p. 738.

VALLI, V. E.; JACOBS, R. M.; NORRIS, A.; COUTO, C. G.; MORRISON, W. B.; MCCAWE, D.; COTTER, S.; OGILVIE, G.; MOORE, A. The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute Working formulation. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 12, p. 295-306, 2000.

VEZZALI, E.; PARODI, A. L.; MARCATO, P. S.; BETTINI, G. Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 8, n. 1, p. 38-49, 2009.

WALY, N. E.; GRUFFYDD-JONES, T. J.; STOKES, C. R.; DAY, M. J. Immunohistochemical diagnosis of alimentary lymphomas and severe intestinal inflammation in cats. **Journal of Comparative Pathology**, v. 133, p. 253-260, 2005.

WANG, J.; KYAW-TANNER, M.; LEE, C.; ROBINSON, W. F. Characterisation of lymphosarcomas in Australian cats using polymerase chain reaction and immunohistochemical examination. **Australian Veterinary Journal**, v. 79, n. 1, p. 41-46, 2001.

WASHABAU, R. J.; DAY, M. J.; WILLARD, D. D.; HALL, E. J.; JERGENS, A. E.; MANSELL, J.; MINAMI, T.; BILZER, T. W. Endoscopic, biopsy, and histopathologic guideness for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. ACVIM Consensus Statement. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 10-26, 2010.

WASMER, M. L.; WILLARD, M. D.; HELMAN, R. G.; EDWARDS, J. F. Food intolerance mimicking alimentary lymphosarcoma. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 31, p. 463-466, 1995.

WEISS, A. T. A.; KLOPFLEISCH, R.; GRUBER, A. D. Prevalence of feline leukaemia provirus DNA in feline lymphomas. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, p. 929-935, 2010.

WELLMAN, M. L.; HAMMER, A. S.; DIBARTOLA, S. P.; CAROTHERS, M. A.; KOCIBA, G. J.; ROJKO, J. L. Lymphoma involving large granular lymphocytes in

cats: 11 cases (1982- 1991). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 201, n. 8, p. 1265-1269, 1992.

WERNER, P. R.; WERNER, J. Avaliação histopatológica. Em: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009. p. 122-125.

WERNER, J. A.; WOO, J.C.; VERNAU, W.; GRAHAM, P. S.; GRAHN, R. A.; LYONS, L. A.; MOORE, P. F. Characterization of feline immunoglobulin heavy chain variable region genes for the molecular diagnosis of B-cell neoplasia. **Veterinary pathology**, v. 42, n.5, p. 596-607, 2005.

WILLARD, M. O sistema digestivo. Em: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 274-307.

WILLIAMS, L. E.; PRUITT, A. F.; THRALL, D. E. Chemotherapy followed by abdominal cavity irradiation for feline lymphoblastic lymphoma. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 51, n. 6, p. 681-687, 2010.

WILSON, H. M. Feline alimentary lymphoma: Demystifying the enigma. **Topics in companion animal medicine**, v. 23, n. 4, p. 177-184, 2008.

WOOLDRIDGE, J. D.; GREGORY, C. R.; MATHEWS, K. G.; ARONSON, L. R.; KYLES, A. E. The prevalence of malignant neoplasia in feline renal-transplant recipients. **Veterinary Surgery**, v.31, p. 94-97, 2002.

ZORAN, D. L. Pancreatitis in cats: diagnosis and management of a challenging disease. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 42, p. 1-9, 2006.

ZWAHLEN, C. H.; LUCROY, M. D.; KRAEGEL, S. A.; MADEWELL, B. R. Results of chemotherapy for cats with alimentary malignant lymphoma: 21 cases (1993-1997). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 8, p. 1144-1149, 1998.

APÊNDICES

Apêndice A – Identificação individual dos felinos com linfoma alimentar segundo idade, raça e sexo.

GATO Nº	IDADE	RAÇA	SEXO
1	9	SRD	F
2	12	SRD	F
3	16	SRD	F
4	10	SRD	M
5	16	SRD	M
6	15	SRD	M
7	11	SRD	M
8	11	SRD	M
9	12	SRD	F
10	13	SRD	M
11	13	SRD	M
12	5	Siamês	M
13	8	SRD	M
14	11	SRD	M
15	7	SRD	F
16	14	SRD	M
17	13	SRD	M
18	10	SRD	F
19	9	SRD	F
20	14	Persa	F
21	14	Siamês	M
22	7	SRD	F
23	6	SRD	F
24	13	SRD	F
25	9	Persa	M
26	10	SRD	M
27	8	SRD	F
28	13	Siamês	M
29	11	SRD	M
30	13	SRD	M
31	11	SRD	F
32	9	SRD	F
33	9	SRD	M
34	8	SRD	F
35	13	SRD	F
36	12	Siamês	F
37	8	SRD	F
38	9	Siamês	F
39	13	SRD	M
40	7	SRD	F

SRD = sem raça definida

Apêndice B – Identificação individual dos felinos com doença inflamatória intestinal segundo idade, raça e sexo.

GATO Nº	IDADE	RAÇA	SEXO
1	11	SRD	F
2	6	SRD	M
3	12	SRD	M
4	14	SRD	F
5	6	Siamês	F
6	11	SRD	M
7	12	SRD	M
8	10	SRD	M
9	10	SRD	F
10	8	SRD	F
11	13	SRD	M
12	14	SRD	M
13	11	SRD	M
14	11	SRD	M
15	8	Siamês	F
16	11	SRD	M
17	10	SRD	F
18	12	Siamês	F
19	8	Siamês	M
20	10	Korat	M

SRD = Sem raça definida

Apêndice C – Manifestações clínicas dos felinos com linfoma alimentar

GATO Nº	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS
1	êmese; anorexia
2	diarreia; hiporexia
3	fezes pastosas
4	emagrecimento; desidratação
5	diarreia; emagrecimento
6	êmese; diarreia; emagrecimento
7	Diarreia
8	diarreia; emagrecimento; disorexia; desidratação
9	hiporexia; desidratação
10	êmese; emagrecimento
11	êmese; diarreia
12	emagrecimento
13	emagrecimento
14	Diarreia
15	Êmese
16	emagrecimento
17	Diarreia
18	fezes pastosas; hematoquezia; emagrecimento
19	diarreia; emagrecimento
20	Êmese
21	emagrecimento; anorexia; desidratação
22	êmese; emagrecimento
23	emagrecimento
24	êmese;
25	emagrecimento; disorexia; hiporexia; desidratação
26	êmese; emagrecimento; hiporexia; anorexia
27	êmese; diarreia;
28	êmese; anorexia; apatia; desidratação
29	emagrecimento
30	êmese; emagrecimento;
31	fezes pastosas; diarreia; emagrecimento
32	êmese; diarreia; emagrecimento;
33	êmese; diarreia; disorexia; apatia;
34	êmese; fezes pastosas; disorexia; anorexia; apatia; poliúria; polidipsia
35	êmese; emagrecimento; apatia;
36	emagrecimento
37	hiporexia; anorexia; desidratação
38	êmese; disorexia;
39	emagrecimento
40	hiporexia; anorexia

Apêndice D – Manifestações clínicas dos felinos com doença inflamatória intestinal

GATO Nº	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS
1	êmese; fezes pastosas; disorexia; hiporexia
2	êmese; diarreia; hiporexia
3	êmese; diarreia; desidratação
4	hematoquezia; diarreia;
5	anorexia; apatia
6	êmese; diarreia; emagrecimento
7	êmese; diarreia; desidratação
8	êmese; diarreia
9	fezes pastosas; diarreia
10	diarreia; emagrecimento; hiporexia; poliúria e polidipsia; desidratação
11	emagrecimento
12	êmese; diarreia; emagrecimento; hiporexia; desidratação
13	êmese; diarreia;
14	êmese; diarreia; emagrecimento
15	êmese; anorexia
16	emagrecimento; disorexia; hiporexia; apatia
17	diarreia
18	êmese; hiporexia
19	êmese
20	emagrecimento

Apêndice E – Resultados de sorologia para Imunodeficiência felina (FIV) e Leucemia felina (FeLV) dos pacientes com linfoma alimentar estudados

GATO Nº	FIV	FeLV
1	Negativo	Negativo
2	Negativo	Negativo
3	Negativo	Negativo
4	Negativo	Negativo
5	Negativo	Negativo
6	Negativo	Negativo
7	Negativo	Negativo
8	Negativo	Negativo
9	Negativo	Negativo
10	*	*
11	Positivo	Negativo
12	Negativo	Positivo
13	Negativo	Negativo
14	Positivo	Negativo
15	Negativo	Negativo
16	Negativo	Negativo
17	Positivo	Negativo
18	Negativo	Negativo
19	Negativo	Negativo
20	Negativo	Positivo
21	Negativo	Negativo
22	*	*
23	Positivo	Negativo
24	Negativo	Negativo
25	*	*
26	Negativo	Negativo
27	Negativo	Negativo
28	Negativo	Negativo
29	Positivo	Negativo
30	*	*
31	Negativo	Negativo
32	Negativo	Negativo
33	Negativo	Negativo
34	Negativo	Negativo
35	*	*
36	Negativo	Negativo
37	Negativo	Negativo
38	Negativo	Negativo
39	Negativo	Negativo
40	Negativo	Positivo

* : Informação não disponível;

Apêndice F – Alterações ultrassonográficas dos pacientes com linfoma alimentar estudados

GATO Nº	ALTERAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS
1	*
2	EAI; LA; LMH
3	EAI; LA
4	EAI; PDAI; LA; LMH
5	*
6	EAI; PDAI; LA; LMH
7	LA
8	EAI
9	EAI; LA; LMH
10	EAI
11	LA; LMH
12	EAI; NFI
13	NFI
14	LA
15	EAI; PDAI
16	EAI; LA
17	LA
18	EAI; LA; LMH
19	LA
20	EAI; PDAI; LA; LMH
21	EAI; PDAI; LA
22	*
23	EAI; PDAI; LA
24	EAI; LA; LMH
25	EAI; PDAI; LA; LMH
26	EAI; LA
27	LA; LMH
28	EAI; PDAI; LA
29	EAI; LA; LMH
30	EAI; PDAI; LA; LMH
31	*
32	EAI; LA; LMH
33	EAI; PDAI; LA
34	EAI; LA; LMH
35	EAI; LA; LMH
36	EAI; PDAI; LA; LMH
37	EAI; LA; LMH
38	EAI; PDAI; LA; LMH
39	EAI; PDAI; LA; LMH
40	EAI; PDAI; LA; LMH

EAI = Espessamento de alça intestinal; LA = Linfonodomegalia abdominal; LMH = linfonodos mesentéricos hipoecogênicos; PDAI = Perda da definição da arquitetura intestinal; NFI = Presença de neoformação/ massa intestinal; * = Informação não disponível

Apêndice G – Alterações ultrassonográficas dos felinos com doença inflamatória intestinal (grupo 2)

GATO Nº	ALTERAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS
1	EAI; LA; LMH
2	EAI; LA; LMH
3	EAI; LA; LMH
4	-
5	LA; LMH
6	-
7	EAI; LA; LMH
8	EAI; LA; LMH
9	-
10	EAI; LA; LMH
11	EAI; LA
12	EAI; LA; LMH
13	EAI; LA; LMH
14	EAI; PDAI; LA; LMH
15	EAI; PDAI
16	EAI; NFI
17	EAI; LA; LMH
18	-
19	-
20	EAI; PDAI

EAI = Espessamento de alça intestinal; LA = Linfonomegalia abdominal; LMH = linfonodos mesentéricos hipoecogênicos; PDAI = Perda da definição da arquitetura intestinal; NFI = Presença de neoformação/ massa intestinal; * = Informação não disponível

Apêndice H – Resultado da avaliação citológica dos pacientes com linfoma alimentar estudados

GATO Nº	CITOLOGIA
1	*
2	Linfoma
3	*
4	Linfoma
5	*
6	Linfoma
7	*
8	*
9	*
10	*
11	Linfoma
12	*
13	*
14	*
15	*
16	Linfoma
17	*
18	*
19	*
20	*
21	*
22	*
23	Linfoma
24	Linfoma
25	*
26	Linfoma
27	Processo inflamatório
28	*
29	Linfoma
30	Linfoma
31	*
32	*
33	*
34	*
35	*
36	Linfoma
37	Linfoma
38	Inconclusivo
39	Linfoma
40	Linfoma

* = Informação não disponível

Apêndice I – Resultado da avaliação histológica dos pacientes com linfoma alimentar estudados

GATO Nº	TECIDO	HISTOPATOLOGICO
1	Linfonodo Mesentérico	Linfoma de células intermediárias
2	1) ID ; 2) LM	1 ; 2 - Linfoma de pequenas células
3	1) ID ; 2) LM	1 ; 2 - Linfoma de pequenas células
4	Intestino	Linfoma de pequenas células
5	1) ID; 2) LM	1) DII; 2) HLR
6	Intestino	Linfoma intestinal linfocítico
7	1) ID; 2) LM	Linfoma intestinal de baixo grau
8	1) ID; 2) LM	1; 2) Linfoma de pequenas células
9	1) Intestino; 2) LM	1; 2 - Linfoma
10	1) ID; 2) LM	1 ; 2) Linfoma de pequenas células
11	1) ID; 2) LM	1 ; 2) Linfoma de pequenas células
12	Transição íleo-ceco-cólica	Linfoma intestinal associado a processo piogranulomatoso
13	1) Intestino; 2) LA	1) Linfoma intestinal; 2) HLR
14	1) Intestino; 2) LA	Linfoma de baixo grau
15	Intestino	Linfoma intestinal linfocítico
16	1) ID; 2) LM	1) Linfoma de pequenas células; 2) HLR
17	1) Íleo; 2) LM	1) Linfoma de pequenas células; 2) HLR
18	1) ID; 2) LM	1) DII; 2) Tecido linfoide íntegro
19	1) ID; 2) LM	1) Linfoma intestinal; 2) HLR
20	1) ID; 2) LM	1) DII; 2) HLR
21	1) Intestino; 2) LM	1; 2) Linfoma linfoblástico
22	1) Neoformação intestinal; 2) LA	1) Linfoma intestinal de células intermediárias; 2) Sugestivo de linfoma
23	1) Intestino; 2) LA	1) Linfoma intestinal de células intermediárias; 2) HLR
24	1) Intestino; 2) LA	1) Linfoma de pequenas células; 2) HLR
25	1) Íleo; 2) LM	1) Linfoma intestinal de grandes células; 2) Sugestivo de linfoma
26	1) Íleo; 2) LM	1) Linfoma de pequenas células; 2) Sugestivo de Linfoma
27	1) ID; 2) LM	1) Inconclusivo; 2) HLR
28	1) ID; 2) LM	1 ; 2) Linfoma de pequenas células
29	1) Íleo; 2) LM	1) DII; 2) HLR
30	1) Neoformação intestinal; 2) LA	1 ; 2) Linfoma de pequenas células
31	1) ID; 2) LA	1 ; 2) Linfoma de pequenas células
32	1) ID; 2) LM	1) Linfoma intestinal; 2) HLR
33	1) ID; 2) LM	1) Linfoma intestinal de grandes células; 2) Linfoma
34	Jejuno	Linfoma linfoblástico
35	1) Jejuno; 2) LM	1) Linfoma intestinal; 2) HLR
36	1) Intestino; 2) LM	1) Linfoma de pequenas células; 2) Sugestivo de linfoma
37	Intestino	Linfoma linfoblástico

38	1) Jejuno; 2) LM	1) Linfoma intestinal linfocítico; 2) HLR
39	Íleo	Linfoma linfocítico
40	Intestino	Linfoma linfoblástico

ID = Intestino Delgado; LM= Linfonodo Mesentérico; LA = Linfonodo Adjacente; DII = Doença Inflamatória Intestinal; HPR = Hiperplasia Linfóide Reacional

Apêndice J – Resultado da avaliação imunoistoquímica dos pacientes com linfoma alimentar estudados 1 - Marcadores

GATO Nº	TECIDO	MARCADORES													
		CD3	CD45	CD20	CD30	CD31	CD 79a	Ki67/ MIB-1	CD1a	CD117/ c-kit	MUM1	CD5	BCL2	PAX5	Lisozima
1	LM	+	-	-	-	*	*	+++	*	*	*	*	*	*	*
2	ID; LM	+ (≈90%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras
3	ID; LM	+ (focal)	*		*	*		+++	*	*	*	*	*	*	*
4	Intestino	+ (≈90%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras
5	ID; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras
6	Intestino	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈20%)	*	*	*	*	*	*	raras
7	ID; LM	++	*	*	*	*	-	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	-
8	ID; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras
9	Int; LM	++	*	*	*	*	-	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	-
10	ID; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras
11	ID; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	raras
12	TICC	+	*	*	*	+	+	+ (<10%)	+	-	*	*	*	*	+
13	Int; LA	+++	*	*	*	*	-	*	*	-	*	*	*	*	-
14	Int; LA	++	*	*	*	*	-	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	-
15	Intestino	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	raras
16	ID; LM	+ (≈90%)	*	*	*	*	raras	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	raras
17	Íleo; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras
18	ID; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras
19	ID; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras
20	ID; LM	++	*	*	*	*	raras	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	raras
21	Int; LM	raras	*	*	*	*	+ (≈90%)	+ (≈25%)	*	*	*	*	*	*	raras
22	NI; LA	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈30%)	*	*	*	*	*	*	raras
23	Int; LA	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈25%)	*	*	*	*	*	*	raras
24	Int; LA	+ (≈90%)	*	*	*	*	raras	+ (≈15%)	*	*	*	*	*	*	raras
25	Íleo; LM	raras	*	*	*	*	+ (≈90%)	*	*	*	*	*	*	*	raras
26	Íleo; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	raras
27	ID; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈10%)	*	*	*	*	*	*	raras

28	ID; LM	+	*	-	*	*	+++	*	*	*	*	*	*	*	*
29	Íleo; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈15%)	*	*	*	*	*	*	raras
30	NI; LA	+ (≈90%)	*	*	*	*	raras	+ (≈30%)	*	*	*	*	*	*	raras
31	ID; LA	+++	*	*	*	*	raras	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	raras
32	ID; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	Raras	+ (≈3%)	*	*	*	*	*	*	raras
33	ID; LM	+ (focal)	*	*	*	*	I	+ (focal)	*	*	*	*	*	*	*
34	Jejuno	-	*	*	*	*	+ (≈30%)	*	*	*	+ (≈30%)	-	-	*	*
35	J; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈8%)	*	*	*	*	*	*	raras
36	Int; LM	+	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	-	-
37	Intestino	-	*	*	*	*	+	*	*	*	*	*	*	+	-
38	J; LM	+ (≈95%)	*	*	*	*	raras	+ (≈5%)	*	*	*	*	*	*	raras
39	Íleo	+	*	*	*	*	-	+ (≈28%)	*	*	*	*	*	-	-
40	Intestino	-	*	*	*	*	+	*	*	-	*	*	-	+	-

Int = Intestino; I = Inconclusivo; TICC = Transição íleo-ceco-cólica; NI = Neoformação intestinal; J = Jejuno; +++ = Alto índice; ++ = Grande quantidade de células CD3 +; ≈ = Aproximadamente; * = Marcador não utilizado

Apêndice K – Resultado da avaliação imunoistoquímica dos pacientes com linfoma alimentar estudados 2 - Imunofenótipo

GATO Nº	FENÓTIPO À IMUNOISTOQUÍMICA
1	Células T
2	Células T
3	*
4	Células T
5	Células T
6	Células T
7	Células T
8	Células T
9	Células T
10	Células T
11	Células T
12	*
13	Células T
14	Células T
15	Células T
16	Células T
17	Células T
18	Células T
19	Células T
20	Células T
21	Células B
22	Células T
23	Células T
24	Células T
25	Células B
26	Células T
27	Células T
28	*
29	Células T
30	Células T
31	Células T
32	Células T
33	Células T
34	Células B
35	Células T
36	Células T
37	Células B
38	Células T
39	Células T
40	Células B

* = Informação não disponível

Apêndice L – Resumo dos resultados das avaliações citológica, histológica e imunoistoquímica dos felinos com doença inflamatória intestinal

GATO Nº	CITOLOGIA	HISTOPATOLÓGICO	IMUNOISTOQUÍMICA
1	DII	DII	DII
2	DII	DII	DII
3	DII	Linfoma	DII
4	Linfoma	Linfoma	DII
5	DII	DII	DII
6	Linfoma	DII	DII
7	DII	DII	DII
8	DII	DII	DII
9	DII	DII	DII
10	Linfoma	Linfoma	DII
11	DII	Linfoma	DII
12	Linfoma	Linfoma	DII
13	Linfoma	DII	DII
14	Linfoma	Linfoma	DII
15	Linfoma	DII	DII
16	DII	0	DII
17	DII	DII	DII
18	DII	Linfoma	DII
19	DII	DII	DII
20	DII	DII	DII
21	*	Linfoma	DII

DII = doença inflamatória intestinal; * = Informação não disponível

Apêndice M – Protocolo utilizado para o exame imunoistoquímico – Método Avidina
– Biotina:

- ✓ Xilol I - 5 min.
- ✓ Xilol II - 5 min.
- ✓ Álcool I - 5 min.
- ✓ Álcool II - 5 min.
- ✓ Álcool 50% - 5 min.
- ✓ Água destilada - 5 min.
- ✓ BPE (Bloqueio da Peroxidase Endógena) - 15 min.
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ Recuperação antigênica: Panela Vapor 30 min. 95°C
- ✓ Esfriar em temperatura ambiente (no mínimo 20 min)
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ Reavivamento antigênico: Leite em pó 5% 25 min; ou soro normal 20 min.
- ✓ Anticorpo Primário (diluição e tempo de incubação variáveis)
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ Anticorpo Secundário (diluição variável/ tempo de incubação: 30 min.) PBS - 5 min.
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ Revelador Advanced 30 min.
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ PBS - 5 min.
- ✓ DAB (Diaminobenzina) 5-8 min.
- ✓ Lavar em água corrente.
- ✓ Hematoxilina de Harris
- ✓ Desidratar e montar