

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina Veterinária**  
**Programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária**

Isabella Watson de Mattos Lence

**Semelhanças e diferenças morfológicas e fenotípicas da medula óssea, sangue e linfonodo do linfoma de zona T e leucemia linfocítica crônica de células granulares grandes, ambos CD3- CD8+: relato de dois casos**

Belo Horizonte

2024

Escola de Veterinária da UFMG - Campus da Pampulha, Av. Pres. Antônio Carlos, 6.627  
Cep. 31270-901 Caixa Postal 567 - (031) 3499-2229 - Fax (031) 3499-2230 - Belo Horizonte, MG –  
Brasil

Isabella Watson de Mattos Lence

Semelhanças e diferenças morfológicas e fenotípicas da medula óssea, sangue e linfonodo do linfoma de zona T e leucemia linfocítica crônica de células granulares grandes, ambos CD3- CD8+: relato de dois casos

Trabalho de Conclusão de Residência apresentado ao Programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Patologia Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Ricardo de Oliveira Paes

Belo Horizonte

2024

L563s Lence, Isabella Watson de Mattos, 1998-  
Semelhanças e diferenças morfológicas e fenotípicas da medula óssea, sangue e linfonodo do linfoma de zona T e leucemia linfocítica crônica de células granulares grandes, ambos CD3- CD8+: relato de dois casos / Isabella Watson de Mattos Lence.- 2024.  
34f: il.

Orientador: Paulo Ricardo de Oliveira Paes.

Monografia apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do título Especialista - Residência em Patologia Clínica Veterinária.

Bibliografia: f.: 32 – 34.

1. Cão - Doenças – Teses – 2. Linfoma – Teses – 3. Patologia Veterinária – Teses – I. Paes, Paulo Ricardo de Oliveira – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.708 96

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569  
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.

**PROGRAMA DE RESIDÊNCIA INTEGRADA EM MEDICINA VETERINÁRIA**

ATA DE DEFESA DE TCR DE Isabella Watson de Mattos Lencu (nome residente)

Às 14 horas do dia 28 / 11 / 24, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão do Curso, para julgar em exame final, a defesa do TCR intitulado:

Semelhanças e diferenças morfológicas e funcionais da medula óssea, sangue e linfonodo do linfoma de zona T e leucemia linfocítica crônica de células granulares grandes, ambos CD3- CD8+ : relato de dois casos., como requisito final para a obtenção do Título de Especialista em Patologia Clínica Hematologia.

Abrindo a sessão, o Presidente da Banca, Paulo Ricardo de Oliveira Paes, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa do TCR, passou a palavra ao candidato(a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Banca se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento da TCR, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof. <u>Paulo Ricardo de Oliveira Paes</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. <u>Marciana de Pódua Costa</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ms. _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. <u>Leandro Abreu da Soneca</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a):  Aprovado

Reprovado

Nota: 7,5

Para concluir o Programa, o(a) candidato(a) deverá entregar a versão final do TCR no repositório da UFMG, acatando, se houver as modificações sugeridas pela banca, Para tanto terá o prazo máximo de 30 dias a contar da data da defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Banca. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Banca Examinadora.

Belo Horizonte, 28 de novembro de 2024.

Assinatura dos membros da Banca:

Prof. Paulo Ricardo Paes  
 PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA  
 CRMV-MG 8619

Adriano

## RESUMO

Os linfomas e leucemias são as principais neoplasias hematopoiéticas caninas. O linfoma é a mais comum, representando 90% dos casos, seguido pelas leucemias, com cerca de 10%. A maior parte dos linfomas caninos é agressiva, composta principalmente pelo linfoma difuso de grandes células B e linfoma de células T periféricas. Entre os linfomas indolentes, os mais comuns são o linfoma de zona T (LZT) e linfoma de zona marginal. As leucemias podem ser mielocíticas ou linfocíticas, com essas últimas classificadas como aguda (LLA), mais agressiva, ou crônica (LLC), indolente. A LLC é diagnosticada geralmente pela linfocitose de pequenas células no sangue periférico e medula óssea. Na LLC composta por linfócitos granulares grandes (LGL), as células se assemelham às células claras observadas no transbordamento do linfonodo no LZT. O presente estudo relata duas neoplasias linfocíticas indolentes em cães da raça Golden Retriever, sendo um de LZT com presença de células claras “espelhos de mão” em linfonodo poplíteo e linfocitose extrema no sangue periférico ( $>80.000$  céls/ $\mu$ L), e um caso de LLC-LGL, com linfocitose semelhante e medula óssea neoplásica. No exame imunofenotípico realizado por citometria de fluxo, tanto o LZT, quanto a LLC-LGL, foram compostos por células CD3<sup>-</sup> e CD8<sup>+</sup>, observadas no linfonodo e sangue periférico (LZT) e medula óssea e sangue periférico (LLC-LGL). Conclui-se que a diferenciação entre LLC-LGL e LZT se dá principalmente pela localização das células neoplásicas.

**Palavras-chave:** linfoma, leucemia, linfócitos granulares grandes.

## ABSTRACT

Lymphomas and leukemias are the main hematopoietic neoplasms in dogs. Lymphoma is the most common, accounting for 90% of cases, followed by leukemias, which represent about 10%. The majority of canine lymphomas are aggressive, primarily consisting of diffuse large B-cell lymphoma and peripheral T-cell lymphoma. Among indolent lymphomas, the most common are T-zone lymphoma (TZL) and marginal zone lymphoma. Leukemias can be myelocytic or lymphocytic, with the latter classified as either acute (ALL), which is more aggressive, or chronic (CLL), which is indolent. CLL is typically diagnosed by the presence of small cell lymphocytosis in peripheral blood and bone marrow. In CLL composed of large granular lymphocytes (LGL), the cells resemble the clear cells seen in the overflow of lymph nodes in TZL. The present study reports two indolent lymphocytic neoplasms in Golden Retriever dogs, one with TZL showing the presence of "hand-mirror" clear cells in the popliteal lymph node and extreme lymphocytosis in peripheral blood ( $>80,000$  cells/ $\mu\text{L}$ ), and one case of CLL-LGL with similar lymphocytosis and neoplastic bone marrow. In the immunophenotypic examination performed by flow cytometry, both TZL and CLL-LGL were composed of CD3<sup>-</sup> and CD8<sup>+</sup> cells, observed in the lymph node and peripheral blood (TZL) and in the bone marrow and peripheral blood (CLL-LGL). It is concluded that the differentiation between CLL-LGL and TZL is mainly based on the location of the neoplastic cells.

**Keywords:** lymphoma, leukemia, large granular lymphocytes.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Citologia de linfonodo poplíteo, Golden Retriever, linfoma de zona T. (A) Predomínio de células linfocíticas em formato de espelho de mão. Objetiva de 10x. (B) Células claras, com citoplasma claro e unipolar e formato de espelho de mão. Objetiva de 40x. Coloração com corante rápido..... 17
- Figura 2 Esfregaço sanguíneo, Golden Retriever, linfoma de zona T. (A) Baixa relação hemácias:leucócitos devido à anemia moderada e linfocitose intensa. Objetiva de 10x. (B) Células claras com citoplasma mais abundante que o de pequenos linfócitos típicos. Objetiva de 40x. Coloração com corante rápido..... 18
- Figura 3 Mielograma, Golden Retriever, linfoma de zona T. (A) Partícula de medula óssea com celularidade de 50 a 60%. Objetiva de 10x. (B) Região ao redor da partícula demonstrando heterogeneidade celular. Objetiva de 40x. Coloração com corante rápido..... 19
- Figura 4 Mielograma, Golden Retriever, linfoma de zona T. Região ao redor da partícula demonstrando predomínio de células mieloides e eritroides e presença de ocasionais (2,4%) linfócitos pequenos típicos. Objetiva de 100x. Coloração com corante rápido..... 19
- Figura 5 Imunofenotipagem por citometria de fluxo de amostra de sangue (5.1), linfonodo (5.2) e medula (5.3), linfoma de zona T. (A) Gráfico de densidade de tamanho (FSC) versus granulosidade (SSC), indicando o posicionamento da população de linfócitos (delimitada pela linha preta) para realizar a análise da população de linfócitos T totais e suas subpopulações T CD4+ e T CD8+. (B) Gráfico de densidade de CD4-PE versus CD3-FITC, empregado para quantificar o percentual de linfócitos T totais CD3+ (representado pela soma das frequências Q1+Q2) e a subpopulação de linfócitos T CD3+CD4+ (Q2). (C) Gráfico de densidade de CD8-APC versus CD3-FITC, empregado para quantificar o percentual da subpopulação de linfócitos T CD3+CD8+ (Q2)..... 20
- Figura 6 Esfregaço sanguíneo, Golden Retriever, leucemia linfocítica crônica. (A) Baixa relação hemácia:leucócito devido à linfocitose. Objetiva de

	20x. (B) Linfócitos granulares grandes com citoplasma mais abundante e claro. Objetiva de 100x. Coloração com corante rápido.....	23
Figura 7	Mielograma, Golden Retriever, leucemia linfocítica crônica. (A) Região ao redor da partícula. Objetiva de 20x. (B) Região ao redor da partícula demonstrando homogeneidade celular. Objetiva de 40x. Coloração com corante rápido.....	24
Figura 8	Imunofenotipagem por citometria de fluxo de amostra de sangue (8.1), medula (8.2) e linfonodo (8.3), leucemia linfocítica crônica. (A) Gráfico de densidade de tamanho (FSC) versus granulosidade (SSC), indicando o posicionamento da população de linfócitos (delimitada pela linha preta) para realizar a análise da população de linfócitos T totais e suas subpopulações T CD4+ e T CD8+. (B) Gráfico de densidade de CD4-PE versus CD3-FITC, empregado para quantificar o percentual de linfócitos T totais CD3+ (representado pela soma das frequências Q1+Q2) e a subpopulação de linfócitos T CD3+CD4+ (Q2). (C) Gráfico de densidade de CD8-APC versus CD3-FITC, empregado para quantificar o percentual da subpopulação de linfócitos T CD3+CD8+ (Q2).....	25
Figura 9	Comparação entre os linfócitos observados no sangue periférico, Golden Retriever. (A) Células claras do transbordamento do linfoma de zona T. (B) Linfócitos granulares grandes da leucemia linfocítica crônica. Aumento de 1000x. Coloração com corante rápido.....	28

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Avaliações hematológicas desde o primeiro atendimento do paciente, Golden Retriever, linfoma de zona T.....	22
Tabela 2	Avaliações hematológicas desde a primeira linfocitose do paciente, com um hemograma anterior sem linfocitose, Golden Retriever, leucemia linfocítica crônica.....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	Microlitros
<i>Et al.</i>	E colaboradores
LGL	Linfócitos Granulares Grandes
LLA	Leucemia Linfocítica Aguda
LLC	Leucemia Linfocítica Crônica
N/C	Núcleo/Citoplasma
OMS	Organização Mundial da Saúde
PTCL-NOS	Linfoma de Células T Periféricas - Sem Outra Especificação
TZL	Linfoma de Zona T
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFV	Universidade Federal de Viçosa
V.R.	Valor de Referência

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>10</b>
2.1	LINFOMA DE ZONA T.....	10
2.2	LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA.....	12
<b>3</b>	<b>RELATO DE CASOS.....</b>	<b>16</b>
3.1	DOLLY – LINFOMA DE ZONA T.....	16
3.2	MAX – LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA.....	22
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>31</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As neoplasias hematopoiéticas correspondem a 6-7% das neoplasias caninas e são compostas pelo linfoma, leucemia, tumores de plasmócito, mastocitose sistêmica e histiocitose sistêmica, esses últimos com ocorrência rara (Ritt, 2022). O linfoma é a neoplasia hematopoiética mais diagnosticada na oncologia veterinária, com 90% de prevalência dos casos caninos, seguidos pelas leucemias, com aproximadamente 10% (Valli *et al.*, 2010; Vail; Young, 2007; Adam *et al.*, 2009).

Para a classificação dos linfomas caninos, que são similares aos linfomas não-Hodgkin de humanos, é empregado um sistema estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Esse sistema leva em consideração a morfologia e fenótipo celulares, aspectos clínicos, arquitetura tecidual e formas de apresentação clínica, com a forma multicêntrica sendo a mais comum (Valli *et al.*, 2015; Vail; Young, 2007).

A classificação em alto e baixo grau é estabelecida de acordo com a taxa de progressão biológica rápida ou lenta, respectivamente. Entre os linfomas mais comuns na espécie canina estão: linfoma difuso de grandes células B; linfoma de células T periféricas, sem outra especificação; linfoma linfoblástico; linfoma de zona marginal e linfoma de zona T, os dois últimos com apresentação indolente.

O linfoma multicêntrico é classificado, conforme definição da OMS, em cinco estágios (Ponce *et al.*, 2010; Vezzali *et al.*, 2010). O estágio I é caracterizado pelo envolvimento de apenas um órgão ou tecido linfoide, com exceção da medula óssea; os estágios II e III permitem o acometimento de mais de um linfonodo da mesma região ou de forma generalizada, respectivamente. O estágio IV é dado pelo envolvimento do fígado, acompanhado ou não, do baço e o estágio V é marcado pela presença das células neoplásicas no sangue periférico e na medula óssea ou outro órgão (Owen, 1980).

A atribuição de tal classificação, segue um raciocínio paradoxal, visto que a presença de células neoplásicas na circulação sanguínea remete a leucemia. No entanto, a leucemia verdadeira só é considerada em casos de envolvimento simultâneo do sangue periférico e medula óssea (Owen, 1980).

As leucemias linfocíticas têm apresentação aguda (LLA) e crônica (LLC), com a LLA geralmente apresentando comportamento agressivo com células blásticas

maiores e a LLC indolente com células pequenas maduras (Novacco *et al.*, 2015; Vail *et al.*, 2007).

A LLC em cães pode ser originada de células T, B ou atípicas, nessa ordem de prevalência. Para as células T e atípicas, uma forma de apresentação morfológica específica é comumente relatada com a presença de linfócitos granulares grandes (LGL, do inglês *large granular lymphocyte*) (Comazzi *et al.*, 2011).

A morfologia dos LGL observados na LLC pode ser extremamente semelhante à das células claras, presentes na circulação sanguínea devido ao transbordamento de linfócitos neoplásicos do linfoma de zona T (TZL, do inglês *T-zone lymphoma*), marcados por apresentarem tamanho médio e citoplasma claro mais abundante, eventualmente mais basofílico nas extremidades e com grânulos azurofílicos (Fournel-Fleury *et al.*, 1997).

Atualmente, na prática o diagnóstico do linfoma multicêntrico é dado inicialmente pela citologia de linfonodo e da LLC pelo hemograma, mas a avaliação citológica do sangue periférico é fundamental em ambos.

O objetivo do presente trabalho é estabelecer as semelhança e diferenças entre os linfócitos da leucemia linfocítica crônica de linfócitos granulares grandes com os do linfoma de zona T com transbordamento. Para tal, são descritos dois casos em cães da raça Golden Retriever.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 LINFOMA DE ZONA T

O linfoma de zona T (TZL) é o único subtipo histopatológico de linfoma em cães, originado de células T, que possui apresentação indolente (Flood-Knapik *et al.*, 2013) e é responsável por representar o maior número de casos entre os linfomas com esse tipo de comportamento, correspondendo a mais de 62% dos diagnósticos (Valli *et al.*, 2006).

O mesmo é caracterizado como um linfoma nodal, no qual as células T neoplásicas se proliferam na região paracortical, sem alteração da arquitetura tecidual nos processos iniciais, mas com tendência à compressão dos centros germinativos em direção a cápsula do linfonodo (Valli *et al.*, 2011; Valli *et al.*, 2015).

As células que se expandem tendem a uniformidade e apresentam tamanho pequeno a médio, com quantidades moderadas de citoplasma claro e núcleo intensamente basofílico sem a exposição evidente de nucléolos, além de não serem observadas figuras de mitose em muitos casos (Valli *et al.*, 2015). Somadas a essas características, observa-se com mais evidência na análise citológica, que tal citoplasma mais abundante nessas células tende a se tornar unipolar, dando origem ao formato conhecido como “espelho de mão” (Ponce *et al.*, 2010).

Existe uma semelhança considerável entre o TZL canino em relação ao humano no que tange os aspectos histológicos da neoplasia, contudo, há uma grande divergência em relação a incidência, visto que para a espécie humana sua apresentação é rara, e quanto a classificação, já que não é considerado como um tipo, mas sim uma variante incluída nos linfomas de células T periféricas sem outra especificação (PTCL-NOS) (Seelig *et al.*, 2014).

Apesar da dificuldade de comparação do curso da doença entre as espécies devido a essas discrepâncias, sabe-se que o TZL canino é mais frequente na raça Golden Retriever, que inclusive, sofre com maior acometimento por linfomas de células T no geral, em comparação aos de células B (Jark *et al.*, 2020).

Diversos estudos apontaram esta associação genética do Golden Retriever ao TZL, com cerca de 56% no Japão (Mizutani *et al.*, 2016), 44% no Brasil (Jark *et al.*, 2020) e 41% nos Estados Unidos (Seelig *et al.*, 2014). Em contrapartida, na Itália esse padrão não foi observado (Comazzi *et al.*, 2018), assim como houveram diferenças

nas prevalências do TZL de acordo com a localização geográfica dos animais dessa raça em um outro estudo conduzido nos Estados Unidos, o que sugere correlação da ocorrência do TZL à fatores carcinogênicos do ambiente (Ruple *et al.*, 2017) ou à aspectos relacionados a cada linhagem (Sena *et al.*, 2023).

A idade pode corroborar, mesmo que pouco para a definição do diagnóstico, visto que a média varia de 8 a 10 anos para os animais acometidos pela neoplasia, o que coincide com a média de ocorrência para os linfomas no geral (Valli *et al.*, 2006; Seelig *et al.*, 2014; Mizutani *et al.*, 2016; Lima, 2020).

Em relação aos aspectos clínicos, os linfomas indolentes geralmente acometem os linfonodos periféricos e baço, mais comumente com envolvimento de apenas um linfonodo ou região quando se trata do linfoma multicêntrico ou nodal, e com apresentação nodular mais observada em comparação à difusa no baço (Valli *et al.*, 2013). Seguindo o padrão descrito, no TZL é verificado de maneira mais corriqueira, o aumento de um linfonodo e, ocasionalmente, mais de um, com preservação do apetite e atividade habituais do paciente (Valli *et al.*, 2015).

Para a construção do diagnóstico é possível lançar mão de várias ferramentas, incluindo a citologia, que é considerada uma forma de triagem para os linfomas indolentes em virtude da semelhança com alguns processos reacionais (Comazzi e Riondato, 2021). Na análise citológica, que é fortemente sugestiva de TZL e são observadas células linfoides pequenas a médias, com citoplasma moderado, claro e com apresentação em formato de “espelho de mão”, não é possível descartar um processo hiperplásico da região paracortical (Martini *et al.*, 2015).

As mesmas células linfoides são notadas no exame histopatológico, no entanto, a diferenciação de processos hiperplásicos é mais evidente devido às características de apresentação diferentes, com um padrão homogêneo para o TZL e heterogêneo para a hiperplasia, comumente composta por macrófagos e células dendríticas (Valli *et al.*, 2015).

Bem como, a avaliação morfológica no hemograma pode evidenciar a presença dos linfócitos denominados como células claras, caracterizados por assumirem tamanho predominantemente médio, relação núcleo/citoplasma (N/C) menor em comparação ao pequeno linfócito típico, cromatina madura a finamente granular, citoplasma claro, mais excêntrico e, raramente com grânulos azurofílicos (Martini *et*

*al.*, 2015; Fournel-Fleury *et al.*, 1997). Seja ela acompanhada ou não da linfocitose (Flood-Knapik *et al.*, 2013; Seelig *et al.*, 2014; Mizutani *et al.*, 2016; Lima, 2020).

A citometria de fluxo também pode ser empregada como uma alternativa de técnica menos invasiva e rápida, visto que tem se desenvolvido a partir do reconhecimento de diversos anticorpos que são aplicáveis em amostras provenientes da espécie canina (Martini *et al.*, 2015).

No TZL são encontradas marcações aberrantes para os marcadores específicos de linfócitos T, com possibilidade de ausência da expressão de CD4 e CD8 e até mesmo de expressão simultânea de ambos (Seelig *et al.*, 2014).

Em estudos realizados por Seelig *et al.* (2014) e Martini *et al.* (2015), com animais diagnosticados com TZL, foram observadas maiores incidências de animais CD8+, com 45% e 39% dos casos, respectivamente. Ainda assim, é possível observar a marcação de outros imunofenótipos, com casos CD4- e CD8- e CD4+ e CD8+ em ambos os trabalhos. Apenas em Martini *et al.* (2014) foi constatada a ocorrência de pacientes unicamente CD4+ (15%).

No que se refere ao tratamento, os protocolos tendem a ser menos intensos em comparação aos linfomas de alto grau devido ao fato do prognóstico para o TZL ser considerado favorável, estimando-se uma sobrevida de 21 a 33 meses (Flood-Knapik *et al.*, 2013; Seelig *et al.*, 2014).

No entanto, ainda não foi estabelecido um protocolo padrão ouro para o tratamento do TZL, assim, a recomendação é que seja realizada a administração conservadora de clorambucil e prednisona nos casos em que a apresentação envolva vísceras, linfocitose acima de 30.000 células/ $\mu$ L e comprometimento do estado de saúde geral do paciente acarretando em sinais clínicos (de Lorimier e Campbell, 2020).

## **2.2 LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA**

Ao contrário dos linfomas, as leucemias são dadas como proliferações hematopoiéticas raras em cães em gatos, com representação de aproximadamente 10% dentre essas neoplasias no geral (Couto, 2003).

As leucemias linfocíticas podem ser classificadas como LLC e LLA, caracterizadas por células pequenas com morfologia semelhante às maduras e por células blásticas grandes, respectivamente (Vail *et al.*, 2007).

A forma crônica é a mais comum em cães e é originada majoritariamente de células T, cerca de 70%, com a mais comum marcada por linfócitos CD8+. Em seguida, são observadas leucemias de linfócitos B, e por último de células atípicas, que apresentam combinações variadas de imunofenótipos (CD3- CD8+; CD8+ CD4+; CD8- CD4-) (Vail *et al.*, 2007; Valli *et al.*, 2015).

A sobrevida com boa qualidade de vida é estimada de um a três anos após o diagnóstico tanto para células T, quanto para células B, o que confere característica indolente à neoplasia (Valli *et al.*, 2015; Vail *et al.*, 2001).

No entanto, um estudo de Comazzi *et al.* (2011) evidenciou que o imunofenótipo demonstrou-se estatisticamente significativo para determinar a sobrevida dos animais, assim como pode ser associado ao local de origem da neoplasia e grau de comprometimento da medula óssea e baço (Vernau *et al.*, 1999; Williams *et al.*, 2008). Enquanto as LLC de células T tendem a ser primárias do baço com acometimento mínimo e/ou tardio do ambiente medular, as de células B são mais características da medula óssea, com envolvimento esplênico secundário e comumente associadas a gamopatia monoclonal (Valli *et al.*, 2015; Harvey, 2012).

O desenvolvimento pode ocorrer em qualquer fase da vida, no entanto, é mais comum em animais de meia-idade à idosos sem a manifestação de sinais clínicos (Vail *et al.*, 2007). Quando evidentes, são altamente variáveis, com letargia, inapetência e perda de peso progressiva como mais comuns, além de serem proporcionais ao grau da linfocitose e comprometimento da medula óssea ou outro órgão (Foukar, 1992).

Mesmo em animais assintomáticos, alterações durante as avaliações no exame físico e exames complementares podem ser constatadas, como esplenomegalia, linfadenomegalia, mucosas pálidas em função de anemia e, menos frequentemente, hepatomegalia (Hodgkins, 1980).

Os achados hematológicos são marcados por leucocitose em função de linfocitose, normalmente com contagem acima de 30.000 células/ $\mu$ L de maneira persistente, porém flutuante com variação de 100.000 e 200.000 linfócitos/ $\mu$ L em dois estudos (McDonough *et al.*, 2000; Leifer *et al.*, 1984). Os linfócitos neoplásicos são

caracterizados por perderem a expressão de receptores relacionados a apoptose então, o aumento da contagem absoluta dessas células é mais atribuído ao seu acúmulo do que à proliferação propriamente dita (Schriever *et al.*, 2003; Vail *et al.*, 2007).

Outras alterações podem incluir anemia moderada, neutropenia discreta e trombocitopenia em casos de linfocitose acima de 30.000 células/ $\mu$ L, enquanto animais com contagens abaixo desse valor tendem a não apresentar anormalidades no hemograma. Por isso, o diagnóstico tende a ser acidental durante os exames de rotina, avaliações geriátricas ou pré-operatórias para procedimentos eletivos (Hodgkins, 1980; Vail *et al.*, 2007).

Os linfócitos comumente são bem diferenciados de tamanho pequeno e com padrão de cromatina madura condensada, o que gera dificuldade de diferenciação morfológica entre as células neoplásicas e células maduras típicas da circulação sanguínea (Harvey *et al.*, 1981).

No entanto, existem variações morfológicas de acordo com o imunofenótipo celular, nos quais a neoplasia de células B e de células T CD4<sup>+</sup> ou CD4<sup>-</sup> e CD8<sup>-</sup> são compostas, majoritariamente, por linfócitos pequenos semelhantes às células maduras. Enquanto isso, a LLC originada por células T CD8<sup>+</sup> é marcada por linfócitos de tamanho médio a grande, com núcleo exibindo padrão de cromatina condensado, nucléolos não proeminentes e o citoplasma claro mais abundante, ocasionalmente apresentando grânulos azurofílicos em concentração variada (Vernau *et al.*, 1999; Harvey, 2012). O mesmo padrão morfológico também foi demonstrado em cerca de 66% dos casos CD3-CD8<sup>+</sup> (Comazzi *et al.*, 2011).

A forma de LLC composta por linfócitos CD8<sup>+</sup>, em 90% dos casos assume a apresentação descrita anteriormente, denominada como LLC de Linfócitos Granulares Grandes (LLC-LGL) e, apenas 8% expressa o imunofenótipo CD4<sup>-</sup> e CD8<sup>-</sup> e 2% o CD4<sup>+</sup> (Vernau *et al.*, 1999).

Para o diagnóstico é importante reunir os dados de histórico, constatar a linfocitose persistente e realizar a avaliação morfológica e imunofenotípica das células, tendo em vista que são homólogas às células típicas da sua respectiva linhagem e conhecendo a distribuição normal dos linfócitos na circulação sanguínea (Vail *et al.*, 2007; Freedman, 1996).

A determinação da clonalidade dos linfócitos presentes no sangue periférico também auxilia na confirmação do diagnóstico, assim como a análise de amostra de medula óssea, que demonstra um infiltrado de células neoplásicas em concentração aumentada, com magnitude a depender da origem e tempo de evolução da neoplasia (Vail *et al.*, 2007; Vernau *et al.*, 1999).

O tratamento da LLC é indicado em casos específicos em função de sua característica indolente, com recomendação para pacientes que apresentam sinais clínicos, alterações laboratoriais como citopenias significativas e linfocitose extrema, comumente considerada no intervalo de 60.000 a 100.000 células/ $\mu$ L e esplenomegalia (Theilen *et al.*, 1987). Nessas situações, é feita a administração de clorambucil de acordo com a tolerância da medula óssea e resposta clínica (0,2 mg/Kg ou 6 mg/m<sup>2</sup> uma vez ao dia durante 7 a 14 dias, com redução da dose se necessário e protocolo de manutenção com 2 mg/m<sup>2</sup> a cada 48 horas), normalmente associado a prednisona (30 mg/m<sup>2</sup> SID durante 7 dias e 20 mg/m<sup>2</sup> SID por mais 7 dias e 10 mg/m<sup>2</sup> a cada 48 horas) (DeVita *et al.*, 2001).

O protocolo pode ser ajustado de acordo com a resposta do paciente e a aplicação de quimioterápicos (vincristina, ciclofosfamida) pode ser utilizada em casos sem resposta ao tratamento tradicional (Helfand *et al.*, 2000).

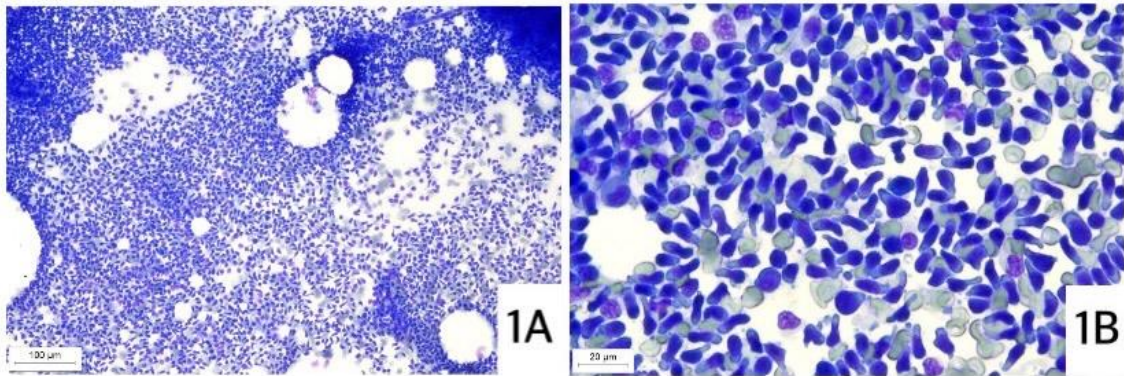
### 3 RELATO DE CASOS

#### 3.1 DOLLY – LINFOMA DE ZONA T

No dia 10 de junho de 2024, foi atendida no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) uma cadela de 10 anos, pesando 34 quilogramas, da raça Golden Retriever, encaminhada para consulta na especialidade oncológica devido à alterações ultrassonográficas que indicavam aumento e heterogeneidade dos linfonodos mesentéricos, intestinais e ilíacos, além de espessamento intestinal, cálculos biliares, injúria renal e heterogeneidade dos parênquimas esplênico e hepático e pancreatite, que já cursava em tratamento na clínica externa responsável pelo referido encaminhamento. Além disso, em hemograma realizado também no atendimento mencionado, relatou-se leucocitose com contagem total de 56.800 células/ $\mu$ L e dessas, 51% sendo linfócitos.

Durante o exame físico, todos os parâmetros encontravam-se dentro dos limites desejáveis para a espécie, com exceção dos linfonodos poplíteos, que apresentavam discreto aumento de tamanho e alteração de consistência. Foi realizada aspiração por agulha fina do linfonodo poplíteo direito para análise citológica e coleta de sangue para avaliação de hemograma e bioquímico.

A citologia do linfonodo revelou um fundo de lâmina composto por vacúolos de gordura e hemácias, além de uma concentração intensa de células linfocíticas, sendo mais de 95% das mesmas classificadas como pequenos linfócitos e as demais como linfócitos médios (Figura 1A). Essas células caracterizavam-se pela apresentação de citoplasma claro e unipolar, o que é compatível com células claras em formato de “espelhos de mão” (Figura 1B). O índice mitótico foi dado como baixo, visto que não foram observadas figuras de mitose, e a conclusão citológica a partir de tais achados foi de “amostra sugestiva de linfoma de zona T”.



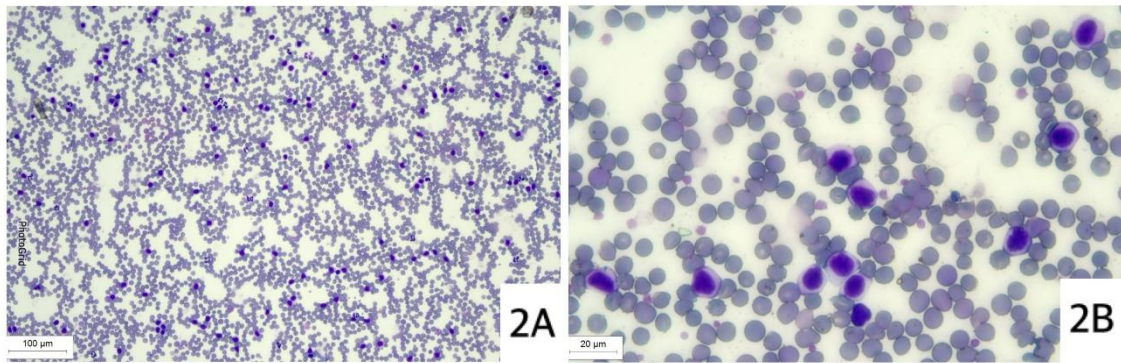
**Figura 1.** Citologia de linfonodo poplíteo, Golden Retriever, linfoma de zona T. (A) Predomínio de células linfoides em formato de espelho de mão. Objetiva de 10x. (B) Células claras, com citoplasma claro e unipolar e formato de espelho de mão. Objetiva de 40x. Coloração com corante rápido.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

No hemograma foi observada anemia moderada (hematócrito=27%) e regenerativa (contagem absoluta de reticulócitos 348.480 céls/ $\mu$ L), contagem de plaquetas dentro do intervalo de referência (252.000 células/ $\mu$ L) e contagem de leucócitos muito acima do limite superior de células (97.120 células/ $\mu$ L), com essa leucocitose marcada por intensa linfocitose (82.552 células/ $\mu$ L), neutrofilia (12.626 células/ $\mu$ L) e monocitose discretas (1.942 células/ $\mu$ L) e eosinopenia (0 células/ $\mu$ L). Durante a avaliação morfológica do esfregaço sanguíneo os linfócitos foram classificados como pequenos a médios e apresentavam diminuição da relação N/C em comparação ao pequeno linfócito típico, com núcleo redondo a oval, padrão de cromatina condensado e citoplasma claro, apenas com as bordas celulares demonstrando uma basofilia mais intensa, características das células claras (Figuras 2A e 2B).

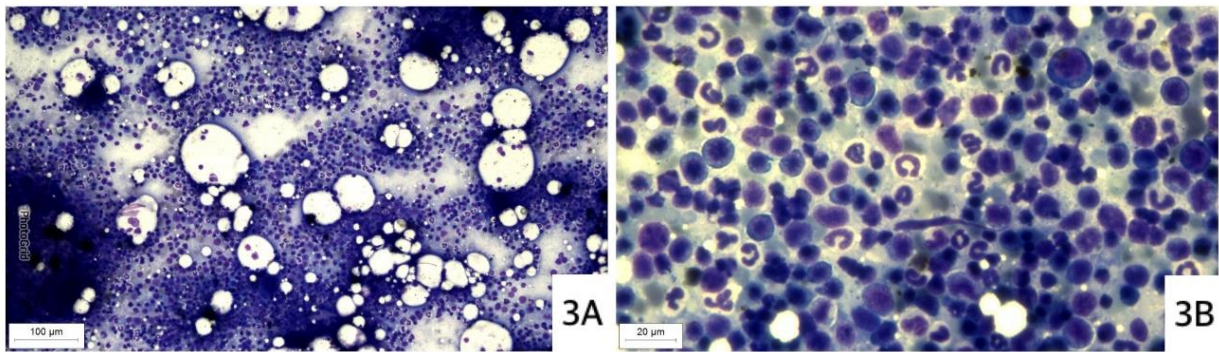
A partir da suspeita de TZL, foi agendada para uma semana depois, a coleta de amostras de sangue, medula óssea e linfonodos para realização do exame de imunofenotipagem por citometria de fluxo e, a partir desse material também foram feitos mielograma e hemograma.

A repetição do hemograma demonstrou uma constante nos resultados apresentados anteriormente, com anemia moderada (hematócrito 26%) e regenerativa (contagem absoluta de reticulócitos 270.000) e leucocitose (57.530 células/ $\mu$ L) associada a, principalmente, linfocitose (41.422 células/ $\mu$ L) com a mesma morfologia compatível para as células claras.

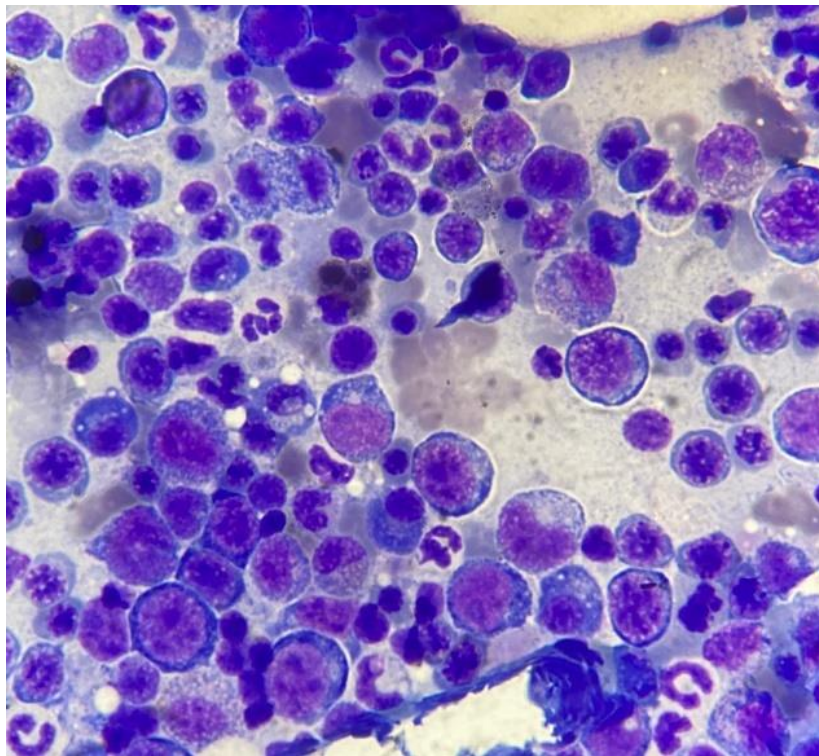


**Figura 2.** Esfregaço sanguíneo, Golden Retriever, linfoma de zona T. (A) Baixa relação hemácias:leucócitos devido à anemia moderada e linfocitose intensa. Objetiva de 10x. (B) Células claras com citoplasma mais abundante que o de pequenos linfócitos típicos. Objetiva de 40x. Coloração com corante rápido.  
Fonte: Arquivo pessoal (2024).

A coleta de medula óssea foi realizada na tuberosidade maior do úmero, com mielograma apresentando concentração intensa de espículas, celularidade (relação célula:gordura) de 50 a 60% (valores de referência, VR: 25-75%) e uma média de 9 a 12 megacariócitos/espícula (VR: 3-7 céls/espícula) (Figura 3A e 3B). A contagem diferencial de células ao redor das espículas indicou uma razão mieloide:eritroide igual a 0,73 (VR: 0,9-1,76), com distribuição piramidal dos precursores eritroides apresentando proporções discretamente aumentadas de células iniciais (rubriblastos:2,0%, VR: 0,2-1,1%; prorrubricitos: 6,2% VR: 0,9-2,2%) e normal dos tipos celulares nucleados tardios (rubricitos 25,8%, VR:19,2-35,1% e metarrubricitos 20,4%, VR: 9,2-16,4%). A mieloide também apresentava distribuição piramidal (mieloblastos: 1,6%, VR: 0,4-1,1%; promielócitos 1,0%, VR: 1,1-2,3%; mielócitos 2,4%, VR: 3,1-6,1%; metamielócitos 4,0%, VR: 5,3-8,8%; neutrófilos bastonetes 8,6%, VR: 12,7-17,2%; neutrófilos segmentados 20,8%, VR: 13,8-24,2%; eosinófilos 1,4% VR: 1,8-5,6%; sem visualização de basófilos). Os plasmócitos representaram 2,8% (VR: 0,6-2,4%) das células, macrófagos 0,6% (VR: 0-0,4%) e linfócitos 2,4% (VR: 1,7-4,9%), com os últimos apresentando morfologia característica de pequenos linfócitos típicos (Figura 4).



**Figura 3.** Mielograma, Golden Retriever, linfoma de zona T. (A) Partícula de medula óssea com celularidade de 50 a 60%. Objetiva de 10x. (B) Região ao redor da partícula demonstrando heterogeneidade celular. Objetiva de 40x. Coloração com corante rápido. Fonte: Arquivo pessoal (2024).

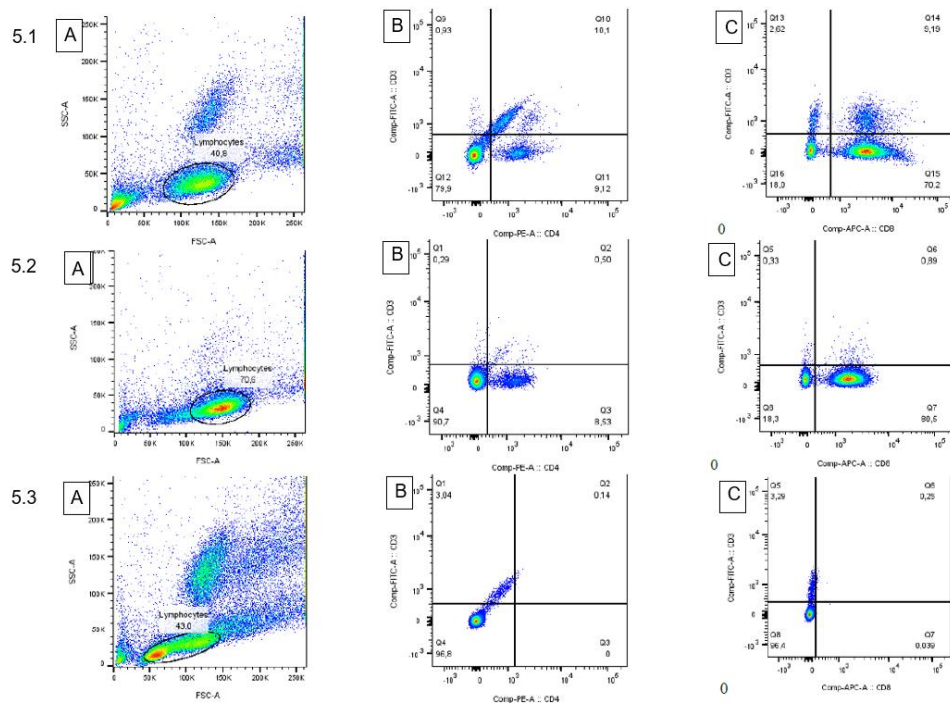


**Figura 4.** Mielograma, Golden Retriever, linfoma de zona T. Região ao redor da partícula demonstrando predomínio de células mieloides e eritroides e presença de ocasionais (2,4%) linfócitos pequenos típicos. Objetiva de 100x. Coloração com corante rápido. Fonte: Arquivo pessoal (2024).

A imunofenotipagem por citometria de fluxo foi realizada no Laboratório de Citometria do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, com obtenção dos dados através do equipamento FACSCanthon<sup>TM</sup>-BD e do software DIVA (Análise Variacional Interpolada de Dados). Os marcadores utilizados foram CD3, CD21, CD4 e CD8, com emprego de dois tubos de poliestireno (Becton-Dickinson, USA) para cada amostra assim, no primeiro tubo foram adicionados os anticorpos anti-humanos CD14-APC e CD21-PEA e no segundo tubo os anticorpos anti-caninos CD3-FITC/CD8 APC e CD4-

PEA. Feito isso, as amostras foram incubadas em temperatura ambiente por 30 minutos em local protegido da luz e um terceiro tubo foi utilizado como controle negativo sem a adição de nenhum anticorpo. A análise dos dados obtidos foi realizada através do software FlowJo (Software de Análise de Citometria de Fluxo, versão 7.6.1).

Através da imunofenotipagem do sangue periférico, foi possível determinar o *gate* de linfócitos, que representou 40,8% das células nucleadas, com evidência de uma anormalidade, visto que 70,2% eram CD3- CD8+, apenas 10% de CD3+ CD4+ (Figura 5.1) e 14% CD21+. No linfonodo, os dados ilustraram o mesmo padrão descrito, com 80,5% das células enquadradas no *gate* de linfócitos CD3- CD8+ e somente 0,5% CD3+CD4+ e 3% CD21+ (Figura 5.2). Em relação a medula óssea, não houveram marcações correspondentes às observadas no sangue e linfonodo (Figura 5.3).



**Figura 5.** Imunofenotipagem por citometria de fluxo de amostra de sangue (5.1), linfonodo (5.2) e medula (5.3), linfoma de zona T. (A) Gráfico de densidade de tamanho (FSC) versus granulosidade (SSC), indicando o posicionamento da população de linfócitos (delimitada pela linha preta) para realizar a análise da população de linfócitos T totais e suas subpopulações T CD4+ e T CD8+. (B) Gráfico de densidade de CD4-PE versus CD3-FITC, empregado para quantificar o percentual de linfócitos T totais CD3+ (representado pela soma das frequências Q1+Q2) e a subpopulação de linfócitos T CD3+CD4+ (Q2). (C) Gráfico de densidade de CD8-APC versus CD3-FITC, empregado para quantificar o percentual da subpopulação de linfócitos T CD3+CD8+ (Q2)

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Após reunir os dados citológicos e de imunofenotipagem somados à clínica do paciente, o diagnóstico de TZL foi confirmado, no entanto, o início do tratamento conservativo foi adiado para melhor estabilização do quadro de pancreatite que seguia em tratamento.

Aproximadamente duas semanas depois, as análises hematológicas foram repetidas e o tratamento conservativo para o TZL foi instituído com a quimioterapia metronômica, cujo o quimioterápico de base foi o Leukeran 2 mg (4mg/m<sup>2</sup> EOD, em uso contínuo), adicionado à prednisolona 20 mg (1 mg/Kg SID durante 7 dias; 0,5 mg/Kg durante 14 dias; 0,5 mg/Kg SID com intervalos de 48 horas até novas recomendações).

O eritrograma demonstrou eficiência da resposta medular frente à anemia apontada anteriormente (hematócrito 39%) e permanência da leucocitose (55.400 células/ $\mu$ L) decorrente da linfocitose (47.090 células/ $\mu$ L), ainda com linfócitos apresentando características morfológicas compatíveis com células claras.

Durante o tratamento, o paciente foi acompanhado com retornos periódicos para avaliação clínica e monitoramento dos parâmetros hematológicos (Tabela 1). Decorridos aproximadamente um mês e meio desde o início da quimioterapia metronômica, houveram pequenas variações relacionadas ao eritrograma e leucograma, com hematócrito médio de 40% e linfocitose acima de 30.000 células/ $\mu$ L em duas avaliações.

Em todos os acompanhamentos os parâmetros bioquímicos foram avaliados de maneira conjunta a fim de monitorar a evolução da pancreatite. No primeiro retorno, o tutor relatou apenas um episódio de diarreia esporádico, sem demanda de administração de qualquer fármaco. Ao exame físico, não foram constatadas demais alterações além da linfadenomegalia.

**Tabela 1.** Avaliações hematológicas desde o primeiro atendimento do paciente, Golden Retriever, linfoma de zona T

Parâmetro	19/06	17/07	30/07	13/08	10/09	V.R.
Hematócrito (%)	27	26	39	42	39	37-55
Total de Leucócitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	97.1	57.530	55.4	62.5	54.8	6.0-17.0
Neutrófilos (%)	13	26	14	22	35	60-77
Neutrófilos (x10 <sup>3</sup> /μL)	12.6	14.9	7.75	13.7	19.1	3.0-11.5
Linfócitos (%)	85	72	85	75	63	12-30
Linfócitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	82.5	41.4	47.09	46.8	34.5	1.0-4.8
Monócitos (%)	2	2	0	3	2	3-10
Monócitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	1.94	1.15	0	1.87	1.09	0.2-1.4
Eosinófilos (%)	0	0	1	0	0	2-10
Eosinófilos (x10 <sup>3</sup> /μL)	0	0	554	0	0	0.1-1.3
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /μL)	2.5	4.7	2.2	2.7	2.4	2-5

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

### 3.2 MAX – LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA DE LINFÓCITOS GRANULARES GRANDES

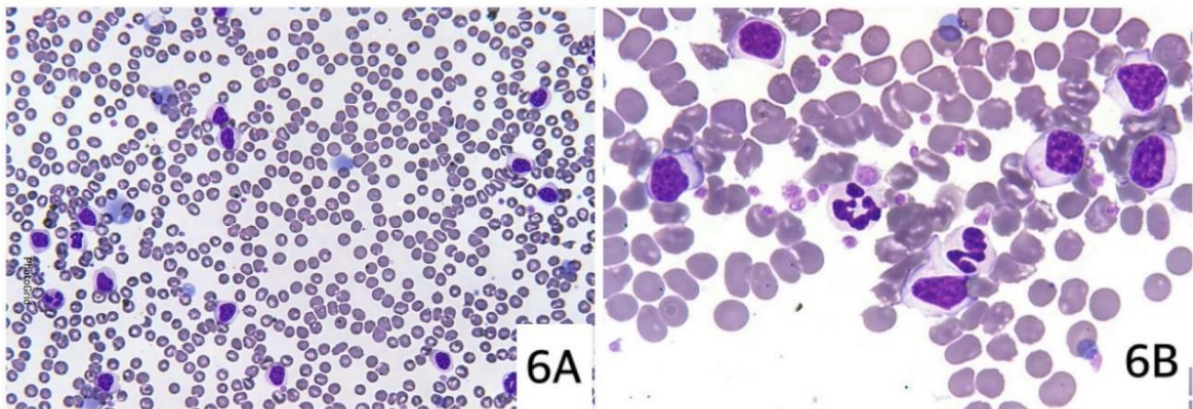
No dia 02 de fevereiro de 2024, um canino de 9 anos, pesando 39 quilogramas, da raça Golden Retriever e em acompanhamento e tratamento oncológico para mastocitoma há seis meses no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa (UFV), apresentou leucocitose (42.200 células/μL) por linfocitose acentuada (30.806 células/μL) no hemograma de monitoramento.

Na mesma data, durante o exame físico todos os parâmetros encontravam-se em normalidade para a espécie, com exceção de aumento de volume e sensibilidade testiculares, além de ulceração do escroto e nódulos únicos localizados na base da cauda, face lateral do joelho e tórax esquerdo.

Decorridos três dias, o paciente retornou para repetição da avaliação hematológica e realização de orquiectomia terapêutica e nodulectomias, com envio das amostras para exame histopatológico. Como resultado, todos os nódulos foram conclusivos para proliferações cutâneas benignas e ambos os testículos, compatíveis com seminoma intratubular.

No hemograma, apesar dos demais parâmetros encontrarem-se dentro dos valores de referência, novamente foi observada leucocitose por linfocitose acentuada (41.800 células/μL), com os linfócitos apresentando relação núcleo:citoplasma reduzida em comparação ao pequeno linfócito típico, padrão de cromatina

condensado e citoplasma claro, ocasionalmente contendo granulação extremamente escassa (Figura 6A e 6B).



**Figura 6.** Esfregaço sanguíneo, Golden Retriever, leucemia linfocítica crônica. (A) Baixa relação hemácia:leucócito devido à linfocitose. Objetiva de 20x. (B) Linfócitos granulares grandes com citoplasma mais abundante e claro. Objetiva de 100x. Coloração com corante rápido.

Fonte: Professor Dr. Leandro Abreu (2024).

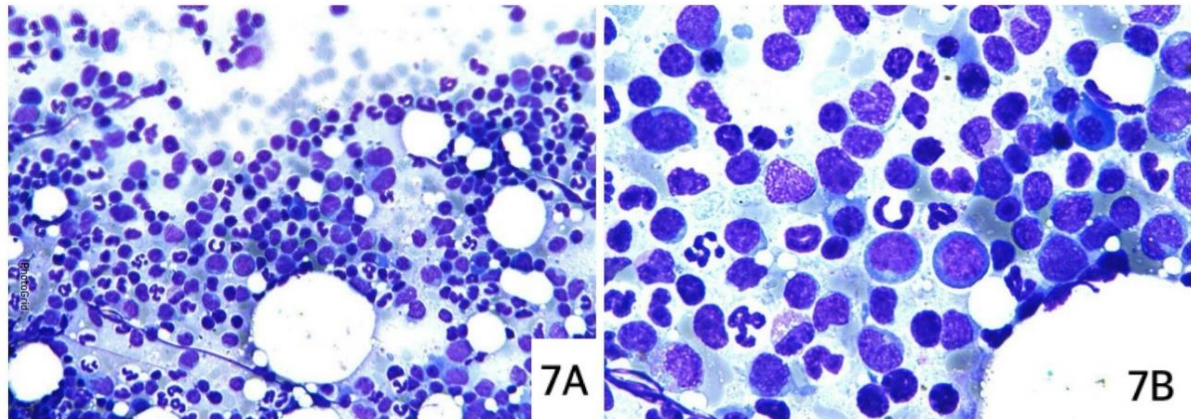
Após 15 dias de recuperação do procedimento cirúrgico, o paciente foi reavaliado e uma nova amostra de sangue foi coletada. Diante das mesmas alterações observadas no exame anterior, foi agendada coleta de medula óssea em três dias para investigar a linfocitose persistente, mas o paciente não retornou.

Somente em agosto houve retorno devido à necessidade de acompanhamento oncológico periódico e, nessa data, foi constatada a manutenção das alterações no leucograma e redução do hematócrito, em comparação às avaliações realizadas anteriormente, para próximo ao limite inferior para a espécie. Com isso, no mesmo dia foi feita punção de medula óssea no úmero e realizado exame de ultrassom.

No ultrassom, foi evidenciada esplenomegalia moderada de contorno liso e, apesar da ecogenicidade preservada, o parênquima apresentava-se heterogêneo e entremeado por áreas hipocogênicas mal delimitadas, o que sugere os diagnósticos diferenciais de hematopoiese extramedular ou infiltrados inflamatório, infeccioso ou neoplásico.

O mielograma apresentou concentração intensa de espículas, celularidade (relação célula:gordura) de 80% (VR: 25-75%) e uma média de 0 a 3 megacariócitos/espícula (VR: 3-7 céls/espícula) (Figura 7A e 7B). A contagem diferencial de células ao redor das espículas indicou uma razão mieloide:eritroide igual a 1,21 (VR:0,9-1,76), com distribuição típica dos precursores eritroides e mieloides,

porém com hipoplasia de ambas as linhagens (rubriblastos e prorrubríctos: 2,1%; rubríctos e metarrubríctos 14,2%; mieloblastos e promielócitos 2,2%; mielócitos, metamielócitos, neutrófilos bastonetes e neutrófilos segmentados 17,5%, sem visualização de basófilos e eosinófilos). Os plasmócitos representaram 1,0% das células, macrófagos 1,0% e linfócitos 62%, com os últimos apresentando morfologia compatível com pequenos linfócitos.



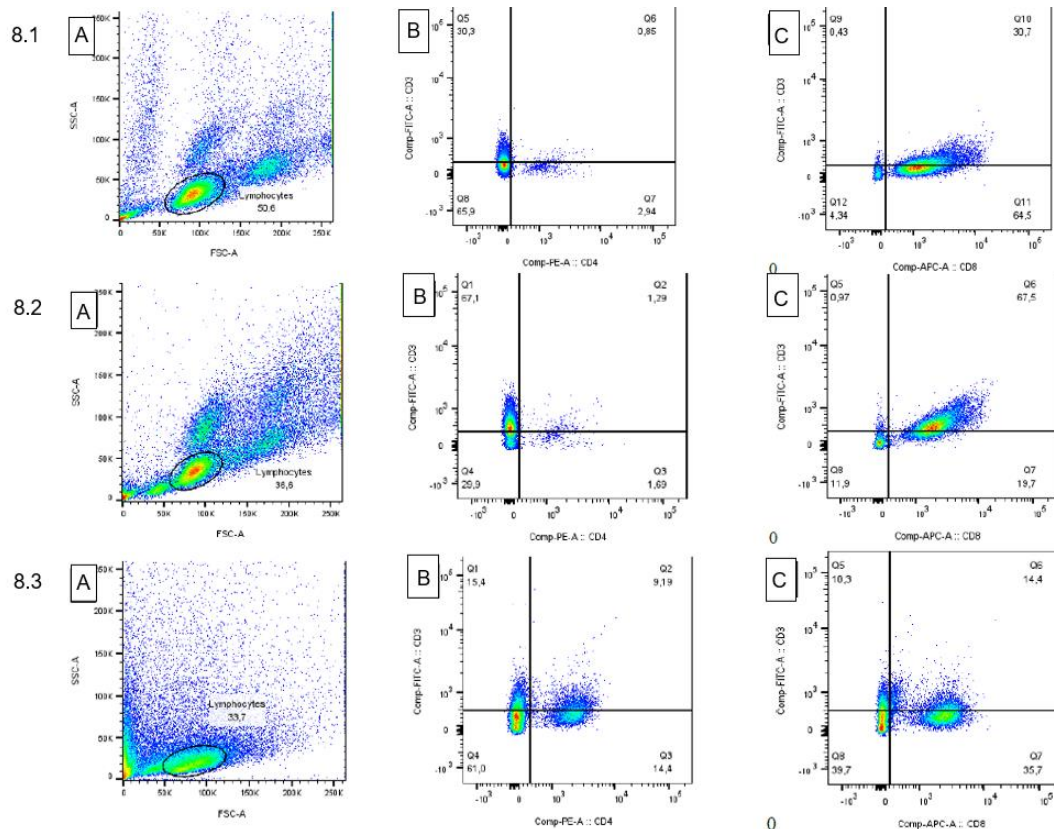
**Figura 7.** Miograma, Golden Retriever, leucemia linfocítica crônica. (A) Região ao redor da partícula. Objetiva de 20x. (B) Região ao redor da partícula demonstrando homogeneidade celular. Objetiva de 100x. Coloração com corante rápido.

Fonte: Professor Dr. Leandro Abreu (2024).

A amostra de medula óssea também foi encaminhada para exame imunofenotipagem por citometria de fluxo (Figura 8), assim como sangue total e tecido de linfonodo poplíteo de tamanho característico, todos coletados na mesma data. O processamento e a técnica foram realizados em local e com os mesmos parâmetros descritos para o caso anterior.

No sangue periférico (Figura 8.1), a imunofenotipagem possibilitou a determinação do *gate* de linfócitos com representação de aproximadamente 50% das células nucleadas e, dessas, apenas 1% CD21+. Cerca de 31% expressou marcação CD3+, com menos de 1% sendo CD3+ CD4+ e 30% CD3+ CD8+, e as demais células demonstraram uma marcação atípica, com imunofenótipo CD3- CD8+.

Na medula óssea (Figura 8.2), a marcação seguiu o mesmo parâmetro, dentro do *gate* de aproximadamente 37% de linfócitos, houve marcação de cerca de 1% para CD21+ e para CD3+ CD4+, com as células restantes CD8+, porém em proporção invertida de marcação para CD3. Cerca de 60% eram CD3+ CD8+ e 19% CD3-CD8+.



**Figura 8.** Imunofenotipagem por citometria de fluxo de amostra de sangue (8.1), medula (8.2) e linfonodo (8.3), leucemia linfocítica crônica. (A) Gráfico de densidade de tamanho (FSC) versus granulosidade (SSC), indicando o posicionamento da população de linfócitos (delimitada pela linha preta) para realizar a análise da população de linfócitos T totais e suas subpopulações T CD4+ e T CD8+. (B) Gráfico de densidade de CD4-PE versus CD3-FITC, empregado para quantificar o percentual de linfócitos T totais CD3+ (representado pela soma das frequências Q1+Q2) e a subpopulação de linfócitos T CD3+CD4+ (Q2). (C) Gráfico de densidade de CD8-APC versus CD3-FITC, empregado para quantificar o percentual da subpopulação de linfócitos T CD3+CD8+ (Q2)

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

A imunofenotipagem do linfonodo (Figura 8.3) foi positiva para CD21 em 27% das células, seguidos por 25% de CD3+ e destas, 9% CD4+ e 14% CD8+, o que demonstra um padrão celular incompatível com o observado no sangue periférico e medula óssea.

A linfocitose persistente somada aos resultados da imunofenotipagem permitiram o diagnóstico de LLC, com linfócitos apresentando características morfológicas compatíveis com a LGL CD8+.

A partir desse momento, já em outubro, foi estabelecido o protocolo de tratamento em fase de indução com Leukeran 2 mg (0,2 mg/Kg SID) associado à prednisona (1 mg/Kg SID), com acompanhamento dos hemogramas (Tabela 2) para ajuste de doses e transição para a fase de manutenção e ultrassonográfico do baço por escolha do tutor.

**Tabela 2.** Avaliações hematológicas desde a primeira linfocitose do paciente, com um hemograma anterior sem linfocitose, Golden Retriever, leucemia linfocítica crônica

Parâmetro	2023			2024					V.R.
	11/12	02/02	05/02	23/02	14/08	05/09	24/10	06/11	
Hematócrito (%)	30	39	39	39	37	32	38	32	37-55
Total de Leucócitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	7.9	42.2	55.0	47.6	81.2	82.0	98.6	79.3	6.0-17.0
Neutrófilos (%)	69	25	20	20	24	18	32	6	60-77
Neutrófilos (x10 <sup>3</sup> /μL)	5.4	10.5	11.0	9.52	19.4	14.7	31.5	4.75	3.0-11.5
Linfócitos (%)	20	73	76	78	75	76	37	93	12-30
Linfócitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	1.5	30.8	41.8	37.2	60.9	62.3	66.0	73.7	1.0-4.8
Monócitos (%)	10	1	2	1	1	3	1	1	3-10
Monócitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	790	422	1.1	476	812	2.46	986	793	0.2-1.4
Eosinófilos (%)	0	0	2	1	0	3	0	0	2-10
Eosinófilos (x10 <sup>3</sup> /μL)	0	0	1.1	476	0	2.46	0	0	0.1-1.3
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /μL)	2.0	2.5	2.9	2.4	1.7	1.4	2.3	2.4	2-5

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

## 4 DISCUSSÃO

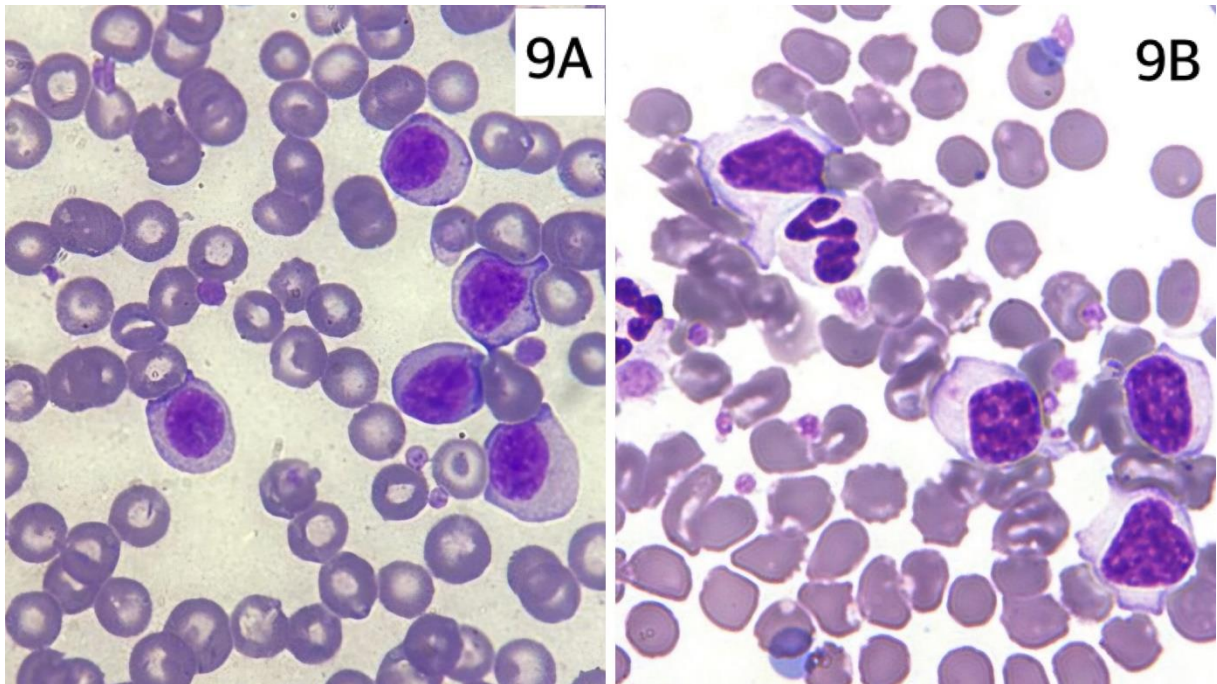
O presente relato descreve de forma inédita as semelhanças entre a linfocitose em dois casos de cães com diagnósticos diferentes, um macho com LLC-LGL e uma fêmea com TZL, ambas neoplasias linfocíticas indolentes, porém originadas em sítios diferentes.

Ambos da raça Golden Retriever, apontada em diversos estudos como mais predisposta a desordens linfoproliferativas de células T, incluindo o TZL e leucemias (Mizutani *et al.*, 2016; Jark *et al.*, 2020; Seelig *et al.*, 2014; Modiano *et al.*, 2005) e com média de idade de 9,5 anos, a qual se enquadra na média de maior ocorrência de linfomas e de leucemias CD8+ (Valli *et al.*, 2006; Seelig *et al.*, 2014; Mizutani *et al.*, 2016; Lima, 2020; Williams *et al.*, 2008).

A linfocitose constatada no caso do TZL é comumente observada nos animais acometidos, no entanto, se contrapõe à maioria dos estudos na literatura que a classificam como de leve a moderada, variando de aproximadamente 5 a 30 mil linfócitos/ $\mu$ L (Flood-Knapik *et al.*, 2013; Seelig *et al.*, 2014; Martini *et al.*, 2015). Somente em um relato a linfocitose foi extrema, com máximo de 229.000 células/ $\mu$ L (Sena *et al.*, 2023).

Dada a comparação entre a prevalência de ocorrência de linfomas e leucemias em cães, a primeira suspeita para o caso Max foi o TZL, já que o mesmo representa 4% de todos os linfomas caninos em Seelig *et al.* (2014) e 20% na casuística do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFMG (dados não publicados). As leucemias representam aproximadamente 10% das neoplasias hematopoiéticas, com apenas 3% delas sendo LLC, e ainda, a especificação de linfócitos granulares grandes uma fração pequena dessa porcentagem (Adam *et al.*, 2009).

Além disso, é possível observar a similaridade morfológica dos linfócitos da circulação periférica nos dois casos (Figura 9), com tamanho médio, cromatina madura condensada, sem nucléolos evidentes e citoplasma claro mais abundante, compatíveis com a descrição das células originadas do transbordamento do TZL e da LLC-LGL, já que em ambas, os grânulos azurofílicos têm concentração variada e possibilidade de apresentação escassa (Mizutani *et al.*, 2016; Harvey, 2012; Fournel-Fleury *et al.*, 1997).



**Figura 9:** Comparação entre os linfócitos observados no sangue periférico, Golden Retriever. (A) Células claras do transbordamento do linfoma de zona T. (B) Linfócitos granulares grandes da leucemia linfocítica crônica. Aumento de 1000x. Coloração com corante rápido. Fonte: Arquivo pessoal (2024); Prof. Dr. Leandro Abreu (2024).

Ambas as proliferações são marcadas por caráter indolente e por raras alterações hematológicas associadas, com exceção das linfocitoses (Flood-Knapik *et al.*, 2013, Vail *et al.*, 2007), conforme evidenciado durante o processo de diagnóstico e monitoramento dos pacientes.

O mielograma é fundamental para auxiliar na determinação das neoplasias, já que os linfomas são caracterizados por uma maior porcentagem de células neoplásicas restrita, principalmente, a órgãos linfoides periféricos e a LLC é primária da medula óssea ou baço (Valli *et al.*, 2013; Williams *et al.*, 2008; Vernau *et al.*, 1999).

A partir desse ponto, nas avaliações da medula óssea do caso TZL não foram evidenciados indícios de comprometimento do ambiente medular, com 2,4% de linfócitos na contagem diferencial e imunofenotipagem de 0,14% de linfócitos T CD4+, 0,25% de linfócitos T CD8+ e 1,27 de linfócitos B CD21+, o que se enquadra no esperado para a espécie canina (Harvey, 2012).

No caso de LLC-LGL, os linfócitos representaram 62% durante a contagem diferencial de células e a imunofenotipagem demonstrou o predomínio de células CD8+, contudo, com evidência de duas populações dentro do *gate* de linfócitos, uma CD3+ CD8+ (60%) e outra CD3- CD8+ (19%). A dupla marcação demonstra o

acometimento medular pelas células neoplásicas, mas é um fator limitante do trabalho que precisa ser esclarecido quanto à perda do marcador CD3 por algumas células.

A avaliação dos linfonodos é um diferencial importante para o diagnóstico e na LLC geralmente não demonstram alterações de consistência e tamanho, em oposição à linfadenomegalia característica em uma ou mais regiões no TZL (Valli *et al.*, 2013; Vail *et al.*, 2007). Como descrito para o caso apresentado, na citologia de linfonodo aumentado no TZL é particular a observação de linfócitos pequenos com citoplasma claro e excêntrico, conhecidos como células claras ou em formato de espelho de mão (Martini *et al.*, 2015; Fournel-Fleury *et al.*, 1997) e a imunofenotipagem é correspondente à do sangue periférico com predomínio de células CD3- e CD8+ direcionadas do linfonodo, primariamente, para a circulação sanguínea em função do processo de transbordamento (Comazzi *et al.*, 2011).

Em oposição a imunofenotipagem do sangue periférico e medula óssea que demonstram homogeneidade das células CD8+, o linfonodo no caso de LLC-LGL demonstra um padrão heterogêneo com a marcação de linfócitos T e B quase que em mesma proporção.

No TZL, o fato das células linfoides neoplásicas se mostrarem CD3- demonstra a atipia e variabilidade da expressão molecular dos TZL e se contrapõe ao levantamento de Valli *et al.* (2006), no qual 90% dos casos demonstraram-se CD3+. Contudo há coerência com as marcações descritas para CD8 e CD4 nos estudos de Seelig *et al.* (2014) e Martini *et al.* (2015), ambos com indicação majoritária de positividade exclusiva para CD8.

Apesar da marcação atípica para a LLC ser apontada por Comazzi *et al.* (2011) como mais predisposta a menor sobrevida em cães, aproximadamente 22 dias de mediana, o caso em questão apresenta-se como uma exceção já que somente o tempo de diagnóstico demandou mais de 200 dias e o paciente permanece vivo até o momento.

A linfocitose intensa observada pode não estar relacionada ao tempo de sobrevida do paciente, no entanto a magnitude desse processo é atribuída a taxas de sobrevivência mais baixas nos linfomas indolentes e em leucemias CD8+ (Flood-Knapik *et al.*, 2013; Williams *et al.*, 2008). Por isso, prognóstico dos pacientes abordados no presente relato segue uma incógnita, apesar do conhecimento do

caráter indolente do TZL e da LLC-LGL (Flood-Knapik *et al.*, 2013; Seelig *et al.*, 2014; Martini *et al.*, 2015; Comazzi *et al.* 2011).

Entre os fatores limitantes do relato, destaca-se a ausência de investigação do nódulo evidenciado em exame ultrassonográfico do caso de LLC-LGL, já que uma porcentagem das células se demonstra CD3+, caracterizada por maior associação a origem no parênquima esplênico e acometimento posterior da medula óssea (Valli *et al.*, 2015; Harvey, 2012).

Outro ponto importante seria utilização do marcador CD45 utilizado para identificação de leucócitos no geral, para reforçar o diagnóstico do TZL, já que as células desse linfoma a perdem a expressão de tal proteína de superfície em mais de 95% dos casos (Martini *et al.*, 2015; Seelig *et al.*, 2014).

## 5 CONCLUSÃO

O presente relato destaca as semelhanças morfológicas e hematológicas entre dois casos distintos de linfocitose em cães, um com leucemia linfocítica crônica de linfócitos grandes (LLC-LGL) e outro com linfoma de zona T (TZL), ambos com características indolentes, mas originados em locais diferentes.

A análise comparativa entre os dois casos, incluindo o perfil de linfócitos, a imunofenotipagem e os achados de mielograma e linfonodos, revela aspectos importantes para o diagnóstico diferencial. Apesar das semelhanças no imunofenótipo e morfologia das células na circulação sanguínea, os casos apresentaram particularidades nas características de expressão celular, exame citológico dos linfonodos e mielograma. Embora o prognóstico de ambas as neoplasias seja geralmente indolente, a intensidade da linfocitose, as marcações atípicas e a variação nas respostas terapêuticas indicam que o manejo clínico desses pacientes deve ser cauteloso, com a sobrevida ainda incerta, dado o comportamento imprevisível dessas condições.

## REFERÊNCIAS

- Adam, F., Villiers E., Watson, S., Coyne, K., L. Blackwood. **Clinical pathological and epidemiological assessment of morphologically and immunologically confirmed canine leukaemia**. Blackwell Publishing Ltd, *Veterinary and Comparative Oncology*, 2009;7, 3, 181–195.
- Comazzi, S., Gelain, M. E., Martini, V. et al. **Immunophenotype Predicts Survival Time in Dogs with Chronic Lymphocytic Leukemia**. *J Vet Intern Med* 2011;25:100–106.
- Comazzi, S., Marelli, S., Cozzi, M., Rizzi, R., Finotello, R., Henriques, J., Pastor, J., Ponce, F., Rohrer- Bley, C., Rütgen, B.C. and Teske, E. 2018. **Breed associated risks for developing canine lymphoma differ among countries: an European canine lymphoma network study**. *BMC Vet. Res.* 2018;14(1), 232.
- Comazzi, S.; Riondato, F. **Flow Cytometry in the Diagnosis of Canine T-Cell Lymphoma**. *Front Vet Sci.* 2021;8, 600963.
- Couto, C.G. Leukemias. In: COUTO, C.G. (ed). **Small Animal Internal Medicine**. St. Louis, Mosby, 2003; pp 1134-1138.
- de Lorimier, L.P. and Campbell, O. **Canine T-zone lymphoma: an apparent risk factor for adult-onset demodicosis**. *J. Small Anim. Pract.* 2020;61(5), 323–324.
- DeVita V. T., Hellman, S., Rosenberg, S. A. **Cancer: principles and practice of oncology**. 6th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
- Flood-Knapik, K. E. et al. **Clinical, histopathological and immunohistochemical characterization of canine indolent lymphoma**. *Veterinary and Comparative Oncology* 2013;v.11, n.4, p.272-286.
- Foucar, K. B cell chronic lymphocytic and prolymphocytic leukemia. In: Knowles DM, editor. **Neoplastic hematopathology**. 1st edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1992. p. 1181–1208.
- Fournel-Fleury, C., Magnol, J. P., Bricaire, P. et al. **Cytohistological and Immunological Classification of Canine Malignant Lymphomas: Comparison with Human Non-Hodgkin's Lymphomas**. *J. Comp.P ath.* 1997;vol. 117, 35 59.
- Freedman, A.S., 1996. **Cell surface antigens in leukemias and lymphomas**. *Cancer Invest.* 14(3), p.252-276.
- Greenlee, P.G., Filippa, D.A., Quimby, F.W., Patnaik, A.K., Calvano, S.E., Matus, R.E., Kimmel, M., Hurvitz, A.I., Lieberman, P.H. **Lymphomas in dogs. A morphologic, immunologic, and clinical study**. *Cancer.* 1990;66:480\_490.
- Harvey, J. W. **Veterinary Hematology: A diagnostic guide and color atlas**. Elsevier, Saunders Company, 2012;cap. 8, p. 298-301.

Harvey, J. W., Terrell, T. G., Hyde, D. M., Jackson, R. I. **Well-differentiated lymphocytic leukemia in a dog: long-term survival without therapy.** *Vet Pathol* 1981;18(1):37–47.

Helfand, S. C., Modiano, J. F. Chronic lymphocytic leukemia. In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G., Jain, N. C., editors. **Schalm's veterinary hematology.** 5th edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 638–41.

Hodgkins, E. M., Zinkl, J. G., Madewell, B. R. **Chronic lymphocytic leukemia in the dog.** *J Am Vet Med Assoc* 1980;177(8):704–7.

Leifer, C. E., Matus, R. E. **Chronic lymphocytic leukemia in the dog: 22 cases (1974–1984).** *J Am Vet Med Assoc* 1986;189(2):214–7.

Lima, G.M.C. **Epidemiological and immunohistochemical characterization of multicentric indolent t-zone lymphoma in dogs.** Dissertation, São Paulo, Jaboticabal, Brasil, 2020.

Martini, V. et al. **Canine small clear cell/t-zone lymphoma: clinical presentation and outcome in a retrospective case series.** *Veterinary and Comparative Oncology*, 2015;v. 14, n. S1, p.117-126.

McDonough, S. P., Moore, P. F. **Clinical, hematologic, and immunophenotypic characterization of canine large granular lymphocytosis.** *Vet Pathol* 2000;37(6):637–46.

Mizutani, N., Goto-Koshino, Y., Takahashi, M., Uchida, K. and Tsujimoto, H. **Clinical and histopathological evaluation of 16 dogs with T-zone lymphoma.** *J. Vet. Med. Sci.* 2016;78(8), 1237–1244.

Modiano, J. F., Breen, M., Burnett, R. C., et al. **Distinct B-cell and T-cell lymphoproliferative disease prevalence among dog breeds indicates heritable risk.** *Cancer Res* 2005;65:5654–5661.

Novacco, M., Comazzi, S., Marconato, L., et al. **Prognostic factors in canine acute leukaemias: a retrospective study.** John Wiley & Sons Ltd, *Veterinary and Comparative Oncology*, 2015;14, 4, 409–416.

Owen L. N., editor. **TNM classification of tumours in domestic animals.** 1st ed. Geneva: World Health Organization, 1980.

Ponce, F., Marchal, T., Magnol, J. P., Turinelli, V., Ledieu, D., Bonnefont, C., Pastor, M., Delignette, M.L., Fournel-Fleury C. **A morphological study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between canine and human lymphoma morphology.** *Vet Pathol.* 2010;47:414\_433.

Ritt, M. G. In: Schalm's Veterinary Hematology. **Epidemiology of Hematopoietic Neoplasia.** 7 ed. John Wiley & Sons, Inc 2022, p. 1400.

Ruple, A.; Avery, A.C.; Morley, P.S. **Differences in the geographic distribution of lymphoma subtypes in Golden retrievers in the USA.** *Vet. Comp. Oncol.*, 2017;v.15, p.1590-1597.

Schriever F, Huhn D. **New directions in the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukaemia.** *Drugs* 2003;63(10):953–69.

Seelig, D.M., Avery, P., Webb, T., Yoshimoto, J., Bromberek, J., Ehrhart, E.J. and Avery, A.C. **Canine T-zone lymphoma: unique immunophenotypic features, outcome, and population characteristics.** *J. Vet. Intern. Med.* 2014; 28(3), 878–886.

Sena, B. V., Mello, B. C., et al. **Extreme lymphocytosis in a dog with T-zone lymphoma.** *Open Veterinary Journal*, 2023; Vol. 13(12): 1760–1768.

Theilen, G. H., Madewell, B. R. **Veterinary cancer medicine.** 2nd edition. Philadelphia: Lea & Febiger; 1987.

Vail, D.M., Young, K.M. Canine lymphoma and lymphoid leukemia. In: Withrow, S.J.; Vail, D.M. **Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology.** Philadelphia: W. B. Saunders Company, cap. 31, p. 699-733, 2007.

Valli, V. E. et.al. **Classification of canine malignant lymphoma according to the World Health Organization criteria.** *Veterinary Pathology.* 2011;v.48, n.1, p.198-211.

Valli, V. E., Kiupel, M., Bienzle, D. Hematopoietic System. In: Maxie, M., Grant, D. V. M. et al. **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals.** Philadelphia: W B Saunders Co Ltd; 6<sup>a</sup> edição, cap 2. p. 229-230, 2015.

Valli, V.E., Vernau, W., de Lorimier, L.P., Graham, O.S. and Moore, P.F. **Canine indolent nodular lymphoma.** *Vet. Pathol.* 2006;43(3), 241–256.

Vernau, W., Moore, P. F. **An immunophenotypic study of canine leukemias and preliminary assessment of clonality by polymerase chain reaction.** *Vet Immunol Immunopathol* 1999;69(2–4):145–64.

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.** *Vet Comp Oncol.* 2010;8:38\_49.

Williams, M.J., Avery, A.C., Lana S.E., Hillers K.R., Bachand, A.M., Avery P.R. **Canine Lymphoproliferative Disease Characterized by Lymphocytosis: Immunophenotypic Markers of Prognosis.** *J Vet Intern Med* 2008;22:596–601.

Workman, H.C., Vernau, W. **Chronic lymphocytic leukemia in dogs and cats: the veterinary perspective.** *Vet Clin North Am (Small Anim Pract)* 2003;33:1397–1399.