



**ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**Linfoma granular de células grandes em felinos**

**Inês Ferreira Ferrão Castel-Branco**

Coimbra, julho 2021



**ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

## **Linfoma granular de células grandes em felinos**

**Coimbra, julho de 2021**

**Inês Ferreira Ferrão Castel-Branco**

Aluna do Mestrado integrado em Medicina Veterinária

### **Constituição do Júri**

**Presidente do Júri:** Professora Doutora Sofia

Alexandra Giestas Cancela Duarte

**Arguente:** Professora Doutora Andreia Alexandra

Ferreira dos Santos

**Orientador:** Professora Doutora Anabela Maduro de

Almeida Francisco

### **Orientador Interno**

Professora Doutora Anabela Almeida

### **Coorientador Interno**

Professor Doutor Hugo Vilhena

### **Orientador Externo**

Professor Doutor José Miguel Campos  
(Centro Cirúrgico Veterinário Assafarge)

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre  
em Medicina Veterinária da EUVG

## **Agradecimentos**

Aos meus pais pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, pelo carinho e por tudo o que fazem por mim. Pela confiança sempre demonstrada em todo o percurso académico, pois sem eles era impossível ter chegado aqui.

Aos meus avós pelo apoio, carinho e paciência demonstrados aos longo de todo este percurso. Pela preocupação em dormir e comer sempre bem, pois os estudos falavam sempre mais alto.

Aos meus irmãos pelo apoio e bons momentos de descontração e diversão.

Ao Guilherme por estar sempre presente, por toda a paciência e motivação para me apoiar e por acreditar sempre em mim.

A todos os meus amigos, por todos os momentos felizes que passámos juntos e pelo apoio e interajuda que demonstrámos entre nós ao longo desta fase e que permitiu ultrapassar todos os obstáculos.

Aos meus orientadores internos, Professora Doutora Anabela Almeida e Professor Doutor Hugo Vilhena, por toda a atenção e apoio demonstrados durante a realização deste trabalho de revisão e por todos os conhecimentos partilhados.

A toda a equipa do CCVA, com especial atenção ao Professor Doutor José Miguel Campos, por me terem acolhido durante os meses de estágio e por terem contribuído da melhor forma para a minha formação profissional.

E por fim, mas não menos importante à Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), e a todos os professores pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso.

## Índice Geral

Agradecimentos.....	iii
Índice Geral .....	iv
Índice de Figuras .....	v
Índice de Tabelas .....	vi
Lista de abreviaturas .....	vii
Resumo .....	2
Abstract .....	3
1.Introdução.....	4
2. Possível origem do linfoma granular de células grandes .....	5
2.1. Linfócitos granulares grandes .....	5
2.2. Tecido linfóide da mucosa intestinal .....	6
2.3. Imunofenótipo dos linfócitos intra-epiteliais .....	8
2.4. Papel da Leuointegrina $\beta 7$ no intestino .....	9
3. Caracterização do linfoma granular de células grandes .....	11
3.1. Etiologia e epidemiologia .....	11
3.2. Classificação .....	12
3.2.1. Classificação anatômica.....	12
3.2.2. Classificação imunofenotípica.....	13
3.3. Sinais clínicos.....	16
3.4. Diagnóstico.....	18
3.5. Alterações laboratoriais.....	18
4. Comparação do linfoma granular de células grandes noutras espécies .....	19
4.1. Linfoma de células T associado a enteropatia e linfoma LGL em humanos .....	19
4.2. Leucemia/linfoma LGL em Cães .....	20
5. Fatores de prognóstico.....	22
6. Considerações finais .....	25
7. Referências bibliográficas .....	26

## Índice de Figuras

Figura 1 – Estrutura geral do trato gastrointestinal (adaptado de: Washabau & Day, 2014) .....	6
Figura 2 – Representação do sistema imunitário na mucosa do intestino (adaptado de: Abbas et al., 2015).....	7
Figura 3 – Homing e retenção de linfócitos T através da interação entre $\alpha 4\beta 7$ e a molécula de adesão celular da mucosa (MAdCAM-1) e ligação de $\alpha E\beta 7$ e a E-caderina (adaptado de: <a href="https://www.creativebiolabs.net/etrolizumab-overview.htm">https://www.creativebiolabs.net/etrolizumab-overview.htm</a> .....	10

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Diferença entre linfócitos intra-epiteliais e linfócitos da lâmina própria .....	8
Tabela 2 – Caracterização fenotípica dos linfócitos intra-epiteliais em função da sua expressão nas diferentes espécies.....	9
Tabela 3 – Classificação das neoplasias linfóides adotada pela OMS, aplicada para uso em animais .....	13
Tabela 4 – Associação entre os sinais clínicos e a localização do tumor .....	16
Tabela 5 – Comparação do linfoma granular de células grandes em felinos com o linfoma associado a enteropatia em humanos .....	19
Tabela 6 – Comparação entre o linfoma granular de células grandes em felinos com o linfoma/leucemia granular de células grandes em cães .....	21
Tabela 7 – Diferentes tratamentos e respetivos tempos de sobrevida.....	23

## Lista de abreviaturas

**CD:** Cluster de diferenciação (Do inglês *Cluster of differentiation*)

**CHOP:** Ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona).

**CNNU:** Lomustina

**COP:** Ciclofosfamida, vincristina e prednisona

**CTL:** Linfócitos T citotóxicos (Do inglês *Cytotoxic T lymphocyte*)

**EATL:** Linfoma de células T associado a enteropatia (Do inglês *Enteropathy-associated T-cell lymphoma*)

**FeLV:** Leucemia viral felina (Do inglês *Feline leukaemia virus*)

**FIV:** Imunodeficiência viral felina (Do inglês *Feline immunodeficiency virus*)

**GI:** Gastrointestinal

**IEL:** Linfócitos intra-epiteliais (Do inglês *Intra-epithelial lymphocytes*)

**LDH:** Lactato desidrogenase

**LGL:** Linfócitos granulares grandes (Do inglês *Large granular lymphocytes*)

**MALT:** Tecido linfoide associado à mucosa (Do inglês *Mucosal associated lymphoid tissue*)

**MST:** Tempo mediano de sobrevida (Do inglês *Median survival time*)

**NK:** *Natural Killer*

**OMS:** Organização mundial de saúde

**TCR:** Recetor de células T (Do inglês *T-cell receptor*)

**VELCAP:** Vincristina, L-asparaginase, ciclofosfamida, doxorrubicina e prednisolona

**VP:** Vincristina e prednisolona

## **Linfoma granular de células grandes em felinos**

Inês Castel-Branco <sup>a</sup>, Hugo Vilhena <sup>a,b,c</sup>, Anabela Almeida <sup>a,d</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG) / Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário - Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (inescastelb0@gmail.com; hugo.vilhena@euvg.pt; anabela.almeida@euvg.pt)

<sup>b</sup> Hospital Veterinário Baixo Vouga (HVBV), EN1 355, 3750-742 Segadães, Águeda, Portugal (hugo.vilhena@euvg.pt)

<sup>c</sup> Animal and Veterinary Research Centre (CECAV) Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5001-801, Vila Real, Portugal (hugo.vilhena@euvg.pt)

<sup>d</sup> Coimbra Institute for Biomedical Imaging and Translation Research (CIBIT), Universidade de Coimbra, Edifício do ICNAS, Polo 3, Azinhaga de Santa Comba 3000-548, Coimbra, Portugal (anabela.almeida@euvg.pt)

## Resumo

O linfoma granular de células grandes felino (LGL do inglês *large granular lymphocytes*) é classificado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um subtipo de linfoma de células T associado a enteropatia tipo I, em que as células apresentam grânulos citoplasmáticos azurófilos, visíveis no exame citológico. Na maioria dos casos, o linfoma LGL desenvolve-se na mucosa do intestino delgado, principalmente no jejuno, com envolvimento posterior de outros órgãos e possível leucemia LGL secundária. Estes gatos apresentam um quadro clínico gastrointestinal (GI), com aumento segmentar do intestino, que com o tempo evolui para uma massa tumoral facilmente detetável durante o exame clínico. No entanto, existem casos reportados sem envolvimento GI. É um subtipo de linfoma raro, que apresenta um comportamento biológico muito agressivo na maioria dos casos, e não é comumente descrito na literatura. Todos os estudos publicados mostram tempos de sobrevivência mais baixos em comparação com outros subtipos de linfoma, com fraca resposta à quimioterapia. No entanto, alguns casos esporádicos, apresentam um melhor prognóstico.

Fenotipicamente, tanto os LGL neoplásicos como os linfócitos intra-epiteliais (IEL do inglês *Intra-epithelial lymphocytes*) expressam CD103 ( $\alpha\text{E}\beta\text{7}$ ) e CD8 $\alpha\alpha$ , o que sugere que estes linfomas possam ter origem nestas células. Para além disso, o linfoma LGL felino pode ter um processo inflamatório na sua génese, evoluindo para um processo crónico, ocorrendo uma estimulação antigénica prolongada que leva a uma transformação clonal das células T intra-epiteliais intestinais. Contudo, a origem numa inflamação crónica do intestino, permanece por ser confirmada.

Assim, foi objetivo desta revisão descrever este linfoma de forma aprofundada, discutindo a sua possível origem e fatores de prognóstico. Esta revisão visa também contribuir para impulsionar estudos futuros que permitam incrementar o conhecimento sobre esta doença.

Palavras-chave: Grânulos azurófilos, Linfoma felino, Linfócitos granulares grandes, Linfócitos intra-epiteliais, Linfoma de células T associada a enteropatia

## Abstract

Large granular lymphoma (LGL large *granular lymphocytes*) is classified by the World Health Organization (WHO) as a subtype of T-cell lymphoma associated with enteropathy type I, in which cells have azurophilic cytoplasmic granules visible on cytological examination. In most cases, LGL lymphoma develops in the mucosa of the small intestine, mainly in the jejunum, with posterior involvement of other organs and possible secondary LGL leukemia. These cats present a clinical signs of gastrointestinal (GI) disease, with segmental increase of the intestine, which over time evolves to an tumor mass easily detectable during clinical examination. However, there are cases reported without GI involvement.

Feline LGL lymphoma is a rare lymphoma that exhibits a very aggressive biological behavior in mos cases, and is not commonly described in the literature. All published studies show lower survival rates compared to other lymphoma subtypes, having a very poor response to chemotherapy. However, sporadic cases present a better prognosis.

Phenotypically both neoplastic LGL and intraepithelial lymphocytes (*IEL Intra-epithelial lymphocytes*) express CD103 ( $\alpha E\beta 7$ ) and CD8 $\alpha\alpha$ , suggesting that these lymphomas may arise from these cells. In addition, this subtype of lymphoma can develop from an inflammatory process that evolves into a chronic stage, in which the prolonged antigenic stimulation stimulates the intraepithelial T cells to go trough a clonal transformation. However, the origin of the chronic inflammation of the intestine remains unknown.

Thus, the objective of this review was to describe this lymphoma in depth, discussing its possible origin and prognostic factors. This review also aims to contribute to future research to increase knowledge about this disease.

Keywords: Azurophilic granules, Feline lymphoma, Large granular lymphocytes, Intraepithelial lymphocytes, Enteropathy-associated T-cell lymphoma

## 1.Introdução

O linfoma granular de células grandes felino (LGL do inglês *large granular lymphocytes*) é um linfoma raro, classificado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um subtipo de linfoma de células T associado a enteropatia (EATL do inglês *enteropathy-associated T-cell lymphoma*) tipo I (B. Wolfesberger et al., 2018). Esta neoplasia está associada a infiltração transmural por células linfóides (Valli et al., 2016). As células caracterizam-se pela presença de grânulos azurófilos citoplasmáticos, visíveis durante o exame citológico (Krick et al., 2008; Vail et al., 2019).

Na maioria dos casos, o linfoma LGL desenvolve-se na mucosa do intestino delgado, principalmente no jejuno (Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008; Moore et al., 2012; Roccabianca et al., 2006), com envolvimento posterior de outros órgãos e possível leucemia LGL secundária (Darbès et al., 1998; Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006). Estes gatos apresentam um quadro clínico gastrointestinal (GI), com aumento segmentar do intestino, que com o tempo evolui para uma massa tumoral facilmente detetável durante o exame clínico (Finotello et al., 2017; Roccabianca et al., 2006; Sapierzyński et al., 2015; Vail et al., 2019). No entanto, existem casos reportados sem envolvimento GI, como o caso de um linfoma LGL nasal e outro sistêmico (Sapierzyński et al., 2015). Outro estudo relata envolvimento hepático, esplênico, renal e leucemia LGL (Finotello et al., 2017).

O linfoma LGL felino apresenta um comportamento biológico muito agressivo, diferindo das neoplasias LGL em humanos e cães, onde foi descrita a predominância de formas indolentes (Lamy & Loughran, 2003; Loughran, 1993; Roccabianca et al., 2006; Valli et al., 2016). Os linfomas LGL felinos não são comumente descritos na literatura, com apenas alguns artigos disponíveis (Sapierzyński et al., 2015). Contudo, todos os estudos publicados mostram tempos de sobrevida mais baixos em comparação com outros subtipos de linfoma, com fraca resposta à quimioterapia (Finotello et al., 2017). No entanto, alguns casos esporádicos apresentam um prognóstico mais favorável.

Assim, foi objetivo desta revisão descrever este linfoma de forma mais aprofundada, discutindo a sua possível origem e fatores de prognóstico, de forma a contribuir para investigações futuras que permitam aumentar o conhecimento sobre esta doença.

## 2. Possível origem do linfoma granular de células grandes

### 2.1. Linfócitos granulares grandes

Todos os linfócitos são morfológicamente semelhantes, no entanto podem ser diferenciados pelo seu imunofenótipo. Estão identificadas diferentes subpopulações de linfócitos T, designadamente, os linfócitos CD4+, linfócitos Th ou auxiliares (do inglês *helper* – *LTh*), que desempenham importantes funções de “ajuda” na defesa humoral e celular; e os linfócitos CD8+ ou linfócitos T citotóxicos (CTL do inglês *Cytotoxic T lymphocyte*), que são células efetoras, com importante papel na apoptose e morte celular. Os linfócitos T possuem um recetor de células T (TCR do inglês *T-cell receptor*), na superfície da célula, capaz de reconhecer uma variedade de antígenos, associado a um complexo de péptidos conhecidos por CD3 (Abbas et al., 2015).

As células *Natural Killer* (NK) correspondem a 10% dos linfócitos circulantes e linfócitos dos órgãos linfóides. Estas células contêm grânulos citoplasmáticos e expressam proteínas de superfície, mas não expressam o TCR. Quando são ativadas libertam os grânulos presentes no seu interior originando a apoptose e morte celular. Estes mecanismos citotóxicos são semelhantes aos mecanismos usados pelos CTL (Abbas et al., 2015).

Tal como referido anteriormente, os LGL caracterizam-se por apresentarem grânulos azurófilos citoplasmáticos visíveis durante o exame citológico. No trato intestinal, estes LGL representam um grande subconjunto de linfócitos intra-epiteliais (IEL do inglês *Intra-epithelial lymphocytes*) e alguns podem ser vistos em esfregaços sanguíneos de animais saudáveis. Este tipo de linfócito representa ainda os linfócitos NK, cerca de 5% dos linfócitos T auxiliares e cerca 35% dos linfócitos T citotóxicos (Male et al., 2013). Estas células podem estar aumentadas em doenças inflamatórias e infecciosas, e pode ocorrer linfocitose. Podem também estar aumentados em leucemias linfocíticas crónicas, leucemias agudas de LGL, ou linfomas LGL com leucemia secundária (Valli et al., 2016).

Nos linfomas LGL observam-se predominantemente células T CD3+, e apenas aproximadamente 10% apresentam um fenótipo de células NK (Darbès et al., 1998; Kariya et al., 1997; Roccabianca et al., 2006; Vail et al., 2019). A maioria são células que expressam CD3+/CD8αα+ e TCR (Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006). Mas normalmente não expressam CD20 nem CD79a, marcadores de linfócitos B (Moore et al., 2012; Vail et al., 2019). Para além deste fenótipo, um estudo reportou a expressão da integrina CD103 (αEβ7) em 60% dos gatos (Roccabianca et al., 2006). Esta leucointegrina CD103 é expressa tanto em linfócitos granulares grandes neoplásicos como em IEL, sugerindo a origem deste linfoma neste tipo de linfócitos intestinais (Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006). Estes linfomas também demonstram imunoreatividade para a proteína perforina e a enzima granzima B, encontradas nos grânulos dos linfócitos T citotóxicos e células NK (Darbès et al., 1998; Kariya et al., 1997; Moore et al., 2012). A expressão da molécula CD11d foi apenas referida em alguns casos de linfoma LGL. Esta molécula está associada a células esplénicas (Roccabianca et al., 2006; Valli et al., 2016).

## 2.2. Tecido linfóide da mucosa intestinal

O tecido linfóide associado à mucosa intestinal, conhecido por MALT (Do inglês *Mucosal associated lymphoid tissue*), contém IEL, principalmente células T e coleções organizadas de linfócitos, muitas vezes ricas em linfócitos B.

As células epiteliais da mucosa intestinal (Figura 1) desempenham várias funções, entre as quais a vigilância imunológica, onde se destacam os linfócitos T e B, plasmócitos, macrófagos, e células dendríticas. Estas células são uma das categorias mais importantes de células do trato GI, seja no epitélio, lâmina própria ou submucosa, devido à existência de múltiplos antígenos no lúmen intestinal (Washabau & Day, 2014).

Apesar da exposição a uma vasta gama de antígenos exógenos, o sistema imunológico GI é capaz de discriminar antígenos inócuos de agentes patogênicos, criando uma série de mecanismos de proteção para prevenir respostas imunológicas prejudiciais (Washabau & Day, 2014). Em gatos, a caracterização do MALT permitiu investigar doenças intestinais, como a infecção por coronavírus felino e a peritonite infecciosa felina, para além disso, permitiu que as doenças em gatos fossem usadas como modelos naturais de doenças em humanos, tais como doença inflamatória intestinal, linfomas intestinais e síndromes associadas a imunodeficiência (Roccabianca et al., 2000).

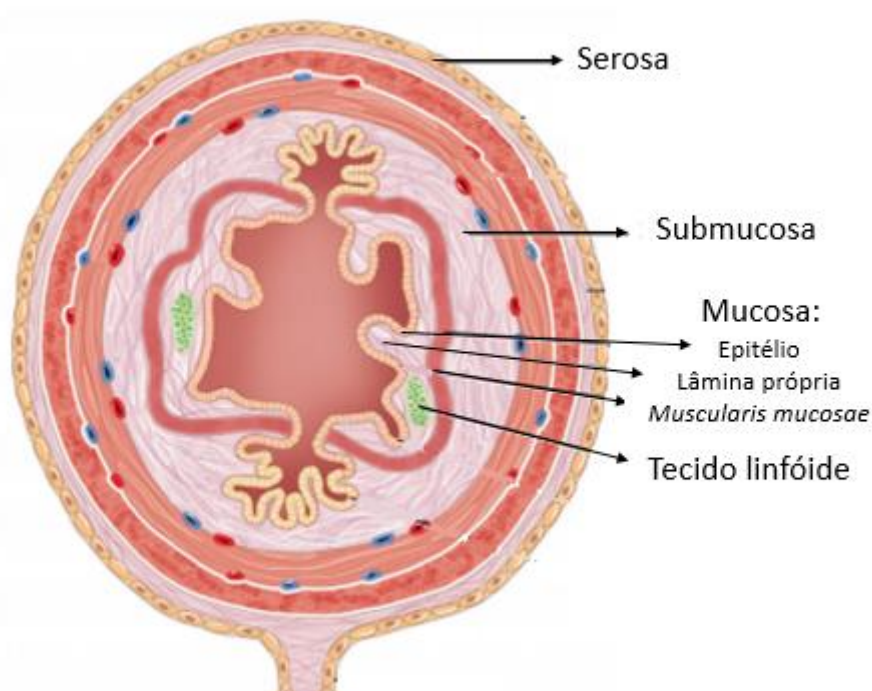


Figura 1 - Estrutura geral do trato gastrointestinal (adaptado de: Washabau & Day, 2014)

Embora várias populações de leucócitos possam ser encontradas no epitélio, incluindo eosinófilos, células inatas e células apresentadoras de antígenos, as células T constituem a população predominante, em comparação com qualquer outro tecido do corpo. As características marcantes destas células intra-epiteliais, definidas como IEL, incluem elevada expressão de marcadores de ativação, integrinas de *homing* de tecidos, recetores iguais aos recetores de células NK, moléculas relacionadas com linfócitos T citotóxicos e moléculas anti-inflamatórias (Konijnenburg & Mucida, 2017). Os IEL (Figura 2) não estão presentes apenas na mucosa intestinal, mas também na epiderme da pele e no epitélio de outras mucosas, como os brônquios e cavidade nasal (Abbas et al., 2015; Konijnenburg & Mucida, 2017).

Em gatos, os IEL intestinais possuem grânulos no interior do seu citoplasma, contendo perforinas, o que sugere que estas células sejam linfócitos granulares com função citotóxica, que podem estar associados a doenças ou neoplasias intestinais em felinos (Washabau & Day, 2014). Os IEL são também responsáveis pelo *turnover* das células epiteliais eliminando as células infetadas, desempenhando assim um papel importante na manutenção da barreira mucosa durante a infeção (Konijnenburg & Mucida, 2017; Rieger et al., 2015; Wijk & Cheroutre, 2009). O aumento do número de IEL pode estar relacionado com a idade avançada ou devido a uma estimulação antigénica persistente no intestino (Roccabianca et al., 2000).

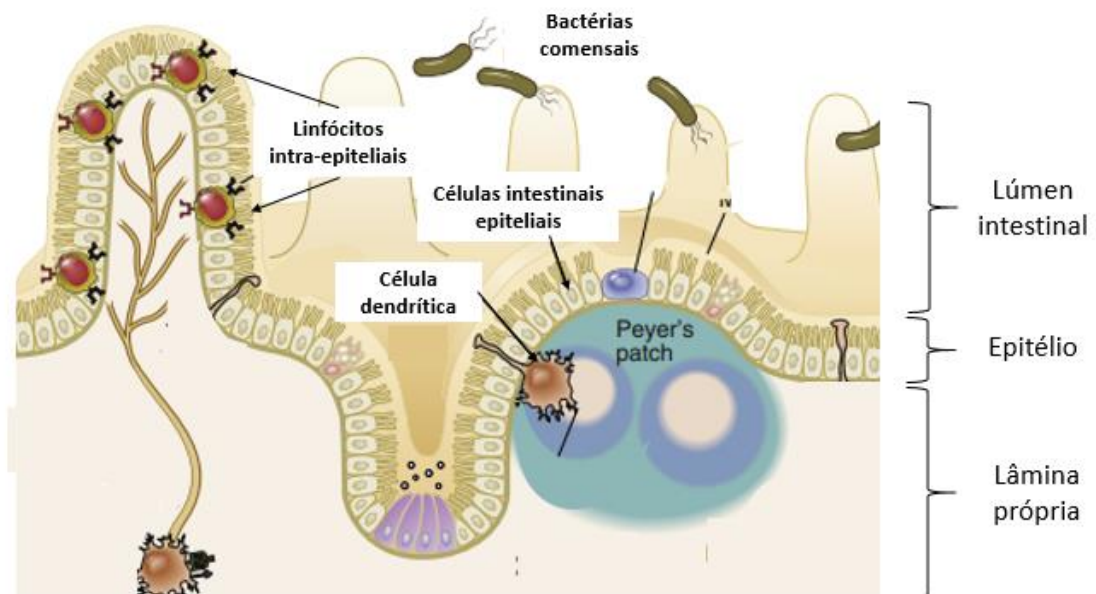


Figura 2 - Representação do sistema imunitário na mucosa do intestino (adaptado de: Abbas et al., 2015)

### 2.3. Imunofenótipo dos linfócitos intra-epiteliais

O MALT encontra-se dividido num compartimento intra-epitelial e no compartimento da lâmina própria. O compartimento intra-epitelial é constituído por IEL, que já foram descritos em muitas espécies, como ratos, humanos, porcos e também em gatos (Konijnenburg & Mucida, 2017; Rieger et al., 2015; Roccabianca et al., 2000).

Morfológicamente, uma grande percentagem de IEL tem grânulos azurófilos citoplasmáticos contendo granzimas e perforinas. Fenotipicamente, a maioria dos IEL são células T com fenótipo CD3+/CD8+, tanto os granulares como os agranulares expressam CD3+. No entanto um fenótipo heterogéneo é frequentemente observado, CD4+/CD8+, CD4-/CD8-, CD3-/CD8+, CD4+/CD8 $\alpha$ . A maioria dos IELs também expressa CD103, a integrina  $\alpha$ E $\beta$ 7, necessária para *homing* e retenção de linfócitos no epitélio da mucosa (Guy-Grand & Vassalli, 1993). Esta diversidade fenotípica pode estar associada à variedade de funções que os IEL desempenham, permitindo a manutenção da microbiota e epitélio intestinal. Em praticamente todas as espécies os IEL são principalmente células T CD3+ com expressão predominante de CD8+ (Konijnenburg & Mucida, 2017), contrariamente aos linfócitos da lâmina própria, em que predomina a expressão de CD4+ comparativamente ao CD8+. Outra característica importante é a predominância quantitativa de linfócitos duplos negativos (CD4-/CD8-) em comparação com linfócitos duplos positivos (CD4+/CD8+), que pode estar associada à presença de linfócitos NK. Todas as cadeias CD8 que não expressam a cadeia CD $\beta$  são consideradas CD8 $\alpha$  (Roccabianca et al., 2000).

Os gatos têm significativamente mais IEL do que os cães, sendo que a expressão destas células vai aumentando do duodeno para o íleo, contrariamente ao que acontece no cão. Foi sugerido que algumas dessas alterações podem refletir a natureza da microbiota existente no lúmen do intestino delgado do gato (Washabau & Day, 2014).

Na Tabela 1 encontram-se caracterizados os diferentes tipos de linfócitos encontrado no epitélio e na lâmina própria.

Tabela 1 - Diferença entre linfócitos intra-epiteliais e linfócitos da lâmina própria (Adaptado de (Roccabianca et al., 2000))

Características	Linfócitos Intra-epiteliais	Linfócitos da Lâmina Própria
Índice de CD4+	Baixo	Elevado
Índice de CD8+	Elevado	Baixo
Rácio CD4:CD8 $\alpha$	0,25	1
Dímero: domínio de $\alpha$ vs $\beta$	CD8 $\alpha$ ↑	CD8 $\alpha$ $\approx$ CD8 $\beta$

Na Tabela 2 encontra-se a caracterização dos linfócitos intra-epiteliais nas diferentes espécies.

Tabela 2–Caracterização fenotípica dos linfócitos intra-epiteliais em função da sua expressão nas diferentes espécies

Característica	Rato	Humano	Felino	Canino	Referências
CD8+	Sim	Sim	Sim	Sim	(Washabau & Day, 2014)
Duplos negativos (CD4-/CD8-)	10%	10%	40%	NE	(Roccabianca et al., 2000)
Duplos positivos (CD4+/CD8+)	Sim	Sim	Número reduzido	NE	(Roccabianca et al., 2000)
CD11d	NE	NE	Número reduzido	NE	(Roccabianca et al., 2000)
Integrina $\alpha E\beta 7$ (CD103)	99%	90%	95%	NE	(Guy-Grand & Vassalli, 1993; Roccabianca et al., 2000; Woo et al., 2002)

NE – Não encontrado;

#### 2.4. Papel da Leuointegrina $\beta 7$ no intestino

As integrinas são uma grande família de moléculas que permitem a adesão, migração e *homing* celular. São compostas por glicoproteínas  $\alpha$  e  $\beta$  que podem emparelhar e permutar entre si dando origem a diferentes tipos de integrinas. A subfamília  $\beta 7$  é expressa principalmente em linfócitos da mucosa do trato gastrointestinal, no entanto ela pode ser expressa por células epiteliais de tecidos não intestinais, tais como o sistema respiratório, pele e língua, tanto em gatos como em humanos (Woo et al., 2002). A subunidade  $\beta 7$  pode formar um dímero com  $\alpha 4$  ou  $\alpha E$  para formar a integrina  $\alpha 4\beta 7$  ou integrina  $\alpha E\beta 7$ . O *homing* de linfócitos no intestino é facilitado por interações entre  $\alpha 4\beta 7$  e a molécula de adesão celular-da mucosa (MAdCAM-1) que é expressa no endotélio vascular do intestino. A retenção de linfócitos T na superfície da mucosa é mediada pela ligação de  $\alpha E\beta 7$  (CD103) e a E-caderina (Figura 3), que é expressa pelos IEL (Lamb et al., 2018; Male et al., 2013) e a sua expressão é regulada pelo fator de crescimento TGF $\beta$  (Lamb et al., 2018). Esta integrina é expressa por 95% dos IEL, por 40% dos linfócitos da lâmina própria, e por apenas 2% dos linfócitos da corrente sanguínea (Lamb et al., 2017; Woo et al., 2002).

Em humanos, a inflamação do intestino reflete o resultado de uma alteração genética no sistema imunitário, bem como respostas amplificadas na imunidade adaptativa. Deste modo a integrina  $\alpha 4\beta 7$  é ativada na superfície dos linfócitos desencadeando todo o processo anteriormente descrito de *homing* e retenção de linfócitos (Lamb et al., 2018). Assim, em humanos, o aumento de CD103 está relacionado com patologias de origem inflamatória no intestino (Ishibashi et al., 2016; Lamb et al., 2018). Já em felinos, o aumento de CD103 está associada ao linfoma LGL (Roccabianca et al., 2006).

Um estudo realizado a partir de anticorpos monoclonais demonstrou que a integrina felina  $\alpha E$  é homologa da integrina  $\alpha E$  humana, denominada por CD103, pelo que a integrina  $\alpha E$  felina foi denominada integrina CD103 (Woo et al., 2002). Este estudo comprovou ainda a semelhança desta integrina felina com a integrina de frangos e ratos. O desenvolvimento e caracterização destes anticorpos monoclonais, usados para identificar  $\alpha E$  felina, permitiram aumentar a capacidade de caracterizar os IEL felinos. Isto tem particular relevância na investigação do envolvimento de IEL em linfomas e doenças inflamatórias intestinais em felinos, podendo levar à descoberta de novas formas terapêuticas em humanos e felinos (Woo et al., 2002).

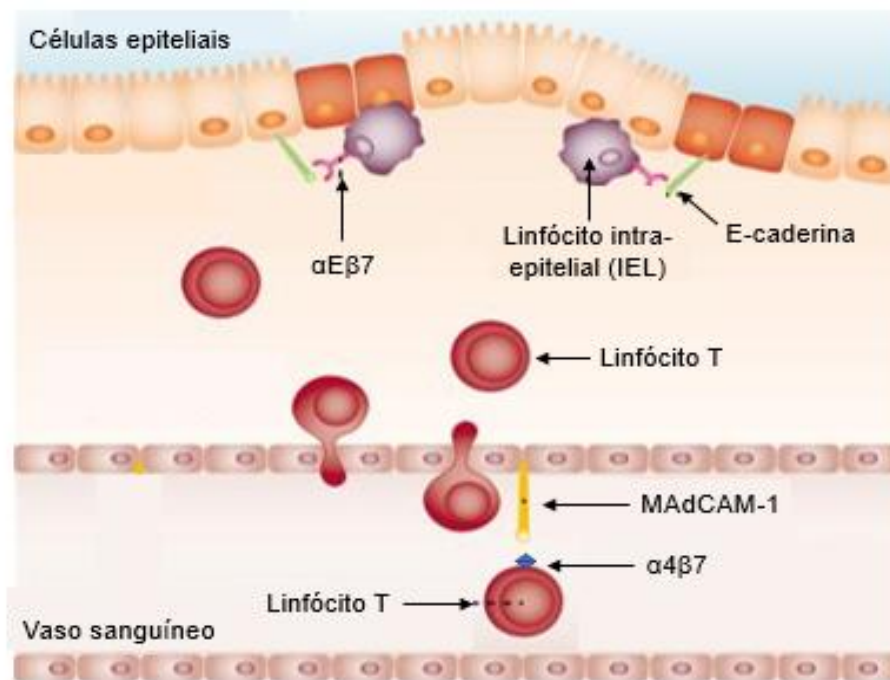


Figura 3 – Homing e retenção de linfócitos T através da interação entre  $\alpha 4\beta 7$  e a molécula de adesão celular- da mucosa (MAdCAM-1) e ligação de  $\alpha E\beta 7$  e a E-caderina (adaptado de <https://www.creativebiolabs.net/etrolizumab-overview.htm>)

### **3. Caracterização do linfoma granular de células grandes**

#### **3.1. Etiologia e epidemiologia**

Este linfoma é responsável por aproximadamente 6-7% dos casos de linfoma gastrointestinal felino, e afeta principalmente animais entre os 9 e 10 anos de idade (Mott & Morrison, 2019) embora alguns estudos tenham descrito casos de gatos com idades inferiores (Darbès et al., 1998; Kariya et al., 1997; Krick et al., 2008). Apresenta predisposição para raças de pelo curto, mas sem predisposição sexual aparente (Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006).

Na maioria dos estudos, os gatos são negativos tanto para o vírus da leucemia felina (FeLV do inglês *Feline leukaemia virus*) como para o vírus da imunodeficiência felina (FIV do inglês *Feline immunodeficiency virus*) (Daleck & Nardi, 2016; Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008; Withrow et al., 2007), no entanto existem estudos em que os animais são negativos para FeLV mas positivos para FIV. Este vírus pode permitir expansão maligna de um tipo de células devido a uma disfunção das células T, no entanto, até agora não foi sugerida uma relação entre a infecção pelo FIV e o aparecimento do tumor (Buracco et al., 1992; Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006; Sapierzyński et al., 2015).

O desenvolvimento do linfoma LGL pode estar relacionado com uma resposta inflamatória exagerada subjacente (Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006; Sapierzyński et al., 2015). Num estudo realizado com 20 gatos com linfoma LGL, sete apresentavam um histórico de doença inflamatória intestinal crónica (Roccabianca et al., 2006). Foi também descrito um caso de linfoma LGL nasal felino associado a sinais clínicos sugestivos de inflamação crónica da cavidade nasal, no entanto, não foi estabelecido se os sinais clínicos associados à doença nasal crónica eram uma consequência da neoplasia, ou se esta se desenvolveu como consequência da rinite crónica (Sapierzyński et al., 2015). Em humanos, foram descritos EATL, que estão associados a enteropatias e que têm comportamento clínico semelhante aos linfomas LGL felinos, o que poderá sugerir que estes linfomas felinos possam ser consequência de doença inflamatória e ter origem em IEL (Roccabianca et al., 2006).

## **3.2.Classificação**

### **3.2.1. Classificação anatômica**

Os linfomas podem ser classificados de acordo com a sua localização anatômica, em multicêntricos, mediastínicos, extra-nodais e alimentares (Daleck & Nardi, 2016; Nelson & Couto, 2020; Paulin et al., 2018; Withrow et al., 2007). A frequência das diferentes formas anatômicas difere entre cães e gatos, sendo a forma multicêntrica a mais comum em cães, responsável por mais de 80% de todos os linfomas nesta espécie e a forma alimentar a mais comum em gatos, representando mais de 70% dos gatos afetados por esta neoplasia (Nelson & Couto, 2020). A forma mediastínica ocorre principalmente em gatos mais jovens FeLV positivos, a forma alimentar e a forma extranodal ocorrem com mais frequência em gatos mais velhos, FeLV negativos (Vail et al., 2019).

Assim, o linfoma multicêntrico, caracteriza-se por linfadenopatia generalizada, com envolvimento hepático, esplênico ou da medula óssea, ou uma combinação destes; o mediastínico, caracteriza-se por linfadenopatia mediastínica, com ou sem infiltração da medula óssea; o linfoma alimentar, é caracterizado por infiltração do trato gastrointestinal, solitária, difusa ou multifocal, com ou sem linfadenopatia intra-abdominal, sendo que em algumas situações podem apresentar envolvimento hepatoesplênico, e raramente envolvimento extra-abdominal (Vail et al., 2019); por último o linfoma extra-nodal afeta qualquer órgão ou tecido (por exemplo, renal, neural, ocular, cutâneo) (Nelson & Couto, 2020).

O linfoma LGL representa uma forma menos comum de linfoma alimentar, que afeta principalmente o trato gastrointestinal, mais comumente o intestino delgado, linfonodos mesentéricos, e o fígado, mas com tendência a envolver outros órgãos como baço, rim, pâncreas, medula óssea e sangue periférico (Buracco et al., 1992; Cheney et al., 1990; Darbès et al., 1998; Franks et al., 1986; Kariya et al., 1997; Krick et al., 2008; Mário et al., 2018; Roccabianca et al., 2006; Vail et al., 2019). Outras formas anatômicas descritas incluem a forma extra-nodal, com envolvimento apenas da cavidade nasal (Sapierzyński et al., 2015) e outras com envolvimento do sistema nervoso central, ocular e sistêmico (Aitken-Palmer et al., 2011; Sapierzyński et al., 2015; Tsuboi et al., 2010).

### 3.2.2. Classificação imunofenotípica

A classificação da OMS permite uma caracterização mais detalhada da doença, para além da categorização segundo o grau, em baixo, intermédio ou alto grau (Valli et al., 2016). Nos últimos anos, a classificação da OMS tem organizado os linfomas de modo a permitir melhores orientações terapêuticas e prognósticas. Esta classificação baseia-se no princípio de que a classificação dos subtipos de linfoma não deve considerar apenas a morfologia celular, mas deve também incluir o fenótipo celular, tamanho da célula, a localização da lesão, o curso clínico e a arquitetura do tecido (Valli et al., 2016).

Na Tabela 3 encontra-se descrita a classificação das neoplasias linfóides adotada pela OMS.

*Tabela 3 - Classificação das neoplasias linfóides adotada pela OMS, aplicada para uso em animais (adaptada de: Valli et al., 2016)*

<b>Classificação das neoplasias linfóides adotada pela OMS, aplicada para uso em animais</b>
<b>Neoplasias de células B</b>
<b>Neoplasias de células B precursoras</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Leucemia linfoblástica de células B / linfoma linfoblástico de células B</b></li></ul>
<b>Neoplasias de células B maduras</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Leucemia linfocítica crónica de células B</b></li><li>• <b>Linfoma difuso de células B grandes</b><ul style="list-style-type: none"><li>○ <b>Centroblástico</b></li><li>○ <b>Imunoblástico</b></li><li>○ <b>Anaplásico</b></li><li>○ <b>Rico em células T</b></li><li>○ <b>Linfomatóide granulomatoso</b></li></ul></li><li>• <b>Linfoma folicular de células B</b><ul style="list-style-type: none"><li>○ <b>Grau I, II, III</b></li></ul></li><li>• <b>Linfoma de células B da zona marginal</b><ul style="list-style-type: none"><li>○ <b>Linfoma nodal da zona marginal</b></li><li>○ <b>Linfoma da zona marginal esplênica</b></li><li>○ <b>MALT</b></li></ul></li><li>• <b>Linfoma de células do manto</b></li><li>• <b>Linfoma Burkitt-like</b></li><li>• <b>Plasmocitoma extra-medular</b></li><li>• <b>Mieloma múltiplo</b></li></ul>
<b>Neoplasias de células T e células NK</b>
<b>Neoplasias de células T precursoras</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Leucemia linfoblástica T / linfoma linfoblástico T</b></li></ul>
<b>Neoplasias de células T maduras</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Linfoma nodal de células T</b><ul style="list-style-type: none"><li>○ <b>Linfoma da zona T</b></li><li>○ <b>Linfoma periférico de células T, não especificado</b></li><li>○ <b>Linfoma anaplásico de células T grandes</b></li></ul></li></ul>

- **Linfoma de células T angioimunoblástico**
- **Linfoma de células T associado a enteropatia (EATL)**
  - **Tipo de célula grande: EATL tipo 1**
  - **Tipo de célula pequena: EATL tipo 2**
- **Linfoma extra-nodal de células T**
  - **Linfoma hepatoesplênico de células T**
  - **Linfoma hepatocitotrópico de células T**
  - **Linfoma periférico de células T, não especificado**
- **Linfoma cutâneo de células T**
  - **Linfoma epiteliotrópico cutâneo de células T**
    - ***Mycosis fungoides***
    - ***Pagetoid reticulosis***
    - ***Sézary syndrome***
  - **Linfoma cutâneo não epiteliotrópico de células T**
    - **Linfoma periférico de células T, não especificado**
    - **Linfoma de células T subcutâneo “*panniculitis-like*”**
    - **Linfoma anaplásico de células T grandes**
- **Leucemia linfocítica granular de células T grandes**
  - **Leucemia linfocítica granular de células T grandes aguda**
  - **Leucemia linfocítica granular de células T grandes crônica**

Numa perspetiva histórica, de referir que em 2012 os linfomas gastrointestinais foram classificados em *linfoma da mucosa*, em que o infiltrado está confinado ao epitélio e lâmina própria com extensão mínima na submucosa, e em *linfoma transmural*, em que o infiltrado estende-se acentuadamente na submucosa e muscular própria (Moore et al., 2012).

No caso dos linfomas de células T da mucosa, ocorre envolvimento da lâmina própria com ou sem epiteliotropismo acentuado, com padrões que variam de infiltrados linfocíticos discretos a uma destruição total da lâmina própria. Com base nestas características, o linfoma de células T da mucosa foi considerado muito semelhante ao linfoma humano de células T associado à enteropatia, EATL tipo II, segundo a OMS (Swerdlow et al., 2008). O linfoma de células T transmural, em que a infiltração transmural varia com a gravidade da neoplasia, ocorre mais frequentemente no jejuno (Valli et al., 2016; B. Wolfesberger et al., 2018), e envolve toda a espessura da lâmina própria da mucosa e estende-se à submucosa. Nas lesões menos graves, o infiltrado linfocítico atravessa a *muscularis mucosa*. Em lesões avançadas, o infiltrado linfocítico oblitera a muscular própria e invade a serosa e mesentério adjacente. Com base nestas características, o linfoma de células T transmural foi considerado muito semelhante ao linfoma humano de células T associado a enteropatia, EATL tipo I segundo a OMS (Swerdlow et al., 2008).

Na maioria dos EATL tipo I, o infiltrado neoplásico foi caracterizado pela presença de grânulos citoplasmáticos que expressaram a proteína granular citotóxica granzima B, muito característico do linfoma LGL. Segundo Moore et al. (2012), a maioria dos linfomas transmuralis/ EATL tipo 1 possuem características de um linfoma LGL. Este autor concluiu que este linfoma transmural é mais frequentemente um linfoma LGL (Moore et al., 2012).

Em 2016, o linfoma LGL que já era considerado como uma entidade própria (Valli et al., 2002), passa a ser definido como um subtipo de EATL do tipo I (Valli et al., 2016). Os linfomas intestinais de linfócitos intra-epiteliais, foram subdivididos em EATL tipo I (neoplasias de células grandes) que são frequentemente associadas a necrose e inflamação e EATL tipo II (neoplasias de células pequenas a intermédias) não associados a inflamação ou necrose (Valli et al., 2016). Independentemente do tipo, os animais com EATL apresentam sinais clínicos gastrointestinais. O EATL tipo I apresenta um prognóstico mais desfavorável do que o EATL tipo II, sendo que animais afetados com EATL tipo I apresentam uma fraca resposta à terapia e o tempo de sobrevida é limitado a algumas semanas ou meses.

Deste modo, tal como foi considerado por Moore e colaboradores (2012), o linfoma LGL tem vindo a ser classificado como uma sub-entidade de EATL tipo I, e é comumente associada a leucemia (Valli et al., 2016).

Adicionalmente, o linfoma LGL felino é uma neoplasia com padrão epiteliotrópico, que pode ser pesquisado e destacado através da marcação com CD3 (Moore et al., 2012; Vail et al., 2019; Valli et al., 2016) e nesse aspeto é semelhante ao EATL humano (Dieter & Duque, 2000; Roccabianca et al., 2006; Wright DH, 1997). As semelhanças entre o EATL em humanos e o linfoma LGL felino serão discutidas mais à frente.

### 3.3. Sinais clínicos

Nos linfomas LGL gastrointestinais, para além do envolvimento intestinal, podem também estar afetados o baço, o fígado e os rins (Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008; Sapieryński et al., 2015). Os animais podem apresentar sinais clínicos relacionados com a localização do tumor tais como vômitos, diarreia e deteção de massas abdominais à palpação abdominal, mas também sinais clínicos inespecíficos, como hiporexia ou anorexia, perda de peso e letargia (Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006; Sapieryński et al., 2015). Outros sinais clínicos como espirros, secreção nasal serosa e sanguinolenta e deformidade facial foram descritos num estudo que relatou um caso de uma forma nasal deste linfoma (Sapieryński et al., 2015). No mesmo estudo, foi também descrita uma forma sistémica, com sinais clínicos inespecíficos tais como dispneia, linfadenomegalia submandibular e derrame pleural (Sapieryński et al., 2015). Os sinais clínicos inespecíficos poderão estar associados à invasão das células neoplásicas, à doença sistémica ou uma resposta inflamatória ao tumor (Krick et al., 2008).

O linfoma LGL foi também descrito noutras espécies de felinos, nomeadamente num lince do deserto (*Caracal caracal*), que apresentava uveíte anterior e sinais clínicos gastrointestinais, como anorexia, vômito e perda de peso; este foi o primeiro caso descrito de linfoma ocular nesta espécie (Aitken-Palmer et al., 2011).

A Tabela 4 apresenta uma associação entre os sinais clínicos e a localização do tumor LGL.

Tabela 4 - Associação entre os sinais clínicos e a localização do tumor

Estudo Número de animais (N)	Envolvimento anatómico (N)	Sinais clínicos principais
(Finotello et al., 2017) N=109 felinos	<b>Apenas envolvimento GI (n=15)</b> <b>Envolvimento GI e extra GI (n=100):</b> Intestino (n=100), estômago (n=NR), linfonodos abdominais (n=73), fígado (n=34), baço (n=21), rins (n=8), pulmão e linfonodos torácicos (n=11), linfonodos periféricos (n=2), pele (n=1), pericárdio (n=1), pâncreas (n=1), leucemia LGL (n=10)	Anorexia, vômito, perda de peso, diarreia, letargia, massa abdominal palpável Assintomáticos (n=2)
	<b>Sem envolvimento GI (n=9):</b> fígado (n=7), baço (n=5), rins (n=1), traqueia (n=1), leucemia LGL (n=3)	
(Sapieryński et al., 2015) N=6 felinos	<b>Apenas envolvimento GI (n=4):</b> Intestino delgado (n=4) Linfadenomegalia mesentérica (n=4), espessamento do intestino (n=2);	Anorexia, perda de peso, vômito, diarreia, massa abdominal palpável

	<b>Sem envolvimento GI (n=1):</b> Linfadenomegalia mesentérica, mandibular e mediastínica (n=1)	Sinais inespecíficos (dispneia, efusão torácica e linfadenomegalia generalizada)
	<b>Sem envolvimento GI (n=1):</b> Massa nasal (n=1)	Espirros, secreção nasal serosa e sanguinolenta
<b>(Tsuboi et al., 2010)</b> <b>N=1 felino</b>	<b>Envolvimento GI e extra GI (n=1):</b> Intestino, baço, rim, bexiga, pulmões, SNC (cérebro), coração, estômago, adrenais, tireoide e olho esquerdo	Vômito, anorexia, perda de peso e síndrome de Horner
<b>(Krick et al., 2008)</b> <b>N=45 felinos</b>	<b>Envolvimento GI e extra GI (n=30):</b> Intestino (n=15), linfonodos mesentéricos (n=20), rins (n=1), baço (n=3), fígado (n=14), medula óssea (n=8), pâncreas (n=1), leucemia LGL (n=1)	Anorexia, perda de peso, letargia, vômito, diarreia, massa abdominal palpável
<b>(Roccabianca et al., 2006)</b> <b>N=21 felinos</b>	<b>Envolvimento GI e extra GI (n=21):</b> Intestino (n=19/19), linfonodos mesentéricos (n=13/13), fígado (n=12/13), baço (n=8/13), rins (n=5/7), medula óssea (n=5/7), leucemia LGL (n=18/21)	Anorexia, perda de peso, letargia, vômito, diarreia, massa abdominal palpável Diagnóstico prévio de DII (n=7)
<b>(Darbès et al., 1998)</b> <b>N=6</b>	<b>Apenas envolvimento GI (n=1)</b> <b>Envolvimento GI e extra GI (n=5):</b> Intestino (n=6), linfonodos mesentéricos (n=6), baço (n=4), pâncreas (n=4), fígado (n=3), rim (n=4), estômago (n=2), pulmão (n=2), coração (n=2), glândula salivar (n=1), tireoide n=1, espinhal medula (n=1), leucemia LGL (n=2)	Anorexia, vômito, diarreia, convulsões, massa abdominal palpável
<b>(Kariya et al., 1997)</b> <b>N=4</b>	<b>Envolvimento GI e extra GI (n=4):</b> Intestino (n=4), linfonodos mesentéricos (n=4), baço (n=2), leucemia LGL (n=1)	Anorexia, vômito, diarreia, massa abdominal palpável
<b>(Buracco et al., 1992) N=1</b>	<b>Envolvimento GI e extra GI (n=1):</b> Intestino, leucemia	Febre, ruídos pulmonares, massa abdominal palpável

DII – Doença inflamatória intestinal; GI – Gastrointestinal; NR – Não referenciado;

### 3.4. Diagnóstico

O diagnóstico de linfoma LGL em gatos pode ser facilmente obtido por citologia com agulha fina, a partir de amostras de massas intestinais, massas renais ou exame citológico de efusões abdominais, efusões pleurais (Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006; Sapierzyński et al., 2015; Tsuboi et al., 2010) e até humor aquoso (Aitken-Palmer et al., 2011). Uma aspiração medular também poderá ser realizada para observação de infiltração medular pelo linfoma (Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006).

O diagnóstico citológico baseia-se na presença de linfócitos com grânulos azurófilos citoplasmáticos característicos. A presença destes grânulos é evidente em lâminas citológicas e menos em análise histológica, destacando-se assim o papel central da citologia no diagnóstico desta doença (Finotello et al., 2017; Sapierzyński et al., 2015). Estes grânulos podem ser vistos mais facilmente com colorações de Wright-Giemsa ou hematoxilina do ácido fosfotúngstico (PTAH) do que com Hematoxilina e Eosina ou Diff-Quik® (Krick et al., 2008; Valli et al., 2016). Em casos em que a citologia não permite o diagnóstico, pode ser necessário recorrer à análise imunohistoquímica usando anticorpos que detetam o antígeno CD3, presente em linfócitos T citotóxicos, mas não em células NK, ou granzima B e perforinas presentes em linfócitos T citotóxicos e NK (Darbès et al., 1998; Moore et al., 2012; Tsuboi et al., 2010).

### 3.5. Alterações laboratoriais

Este linfoma apresenta-se frequentemente com anemia e neutrofilia, este último pode representar uma síndrome paraneoplásica ou pode estar associado a uma resposta inflamatória local (Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008). A presença de linfócitos granulares na corrente sanguínea pode ocorrer em 10-15% dos casos (Finotello et al., 2017; Krick et al., 2008), ou até 86% (Roccabianca et al., 2006) segundo os estudos, com ou sem envolvimento da medula óssea. É difícil fazer uma distinção definitiva entre leucemia LGL ou linfoma LGL em gatos, pois as doenças sobrepõem-se apresentando um comportamento agressivo semelhante, independentemente da origem em linfócitos T citotóxico (CD3+/CD8+) ou linfócitos NK (Finotello et al., 2017). Normalmente estes animais apresentam também aumento das enzimas hepáticas, frequentemente associado a metástases hepáticas (Buracco et al., 1992; Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006). A hipoalbuminemia pode estar associada a enteropatias com perda de proteína (Sapierzyński et al., 2015). Parâmetros renais como ureia e creatinina (azotemia) também costumam estar aumentados, embora normalmente relacionados com a idade do animal (Sapierzyński et al., 2015). A azotemia também pode ser justificada por linfomas LGL renais (Buracco et al., 1992; Darbès et al., 1998; Kariya et al., 1997; Krick et al., 2008; Roccabianca et al., 2006). Um caso clínico descreve o aumento da lipase pancreática como único parâmetro bioquímico alterado, num gato com pancreatite associada a este subtipo de linfoma (Tsuboi et al., 2010).

#### 4. Comparação do linfoma granular de células grandes noutras espécies

##### 4.1. Linfoma de células T associado a enteropatia e linfoma LGL em humanos

O linfoma LGL felino foi considerado um subtipo de EATL tipo I em virtude das semelhanças existentes com o EATL em humanos, como já referido. Na Tabela 5 foi feita uma comparação entre o linfoma LGL felino e o EATL do tipo I em humanos, para esclarecer de forma mais detalhada as suas semelhanças.

Tabela 5 - Comparação do linfoma granular de células grandes em felinos com o linfoma associado a enteropatia em humanos

Características	Linfoma LGL felino	EATL humano
Expressão de CD103	Sim	Sim
Desenvolve-se predominantemente no jejuno	Sim	Sim
Etiologia	Doença inflamatória intestinal (?)	Doença celíaca, jejunita ulcerativa e DII crónica
Ulceração da mucosa	Sim	Sim
Possível Transformação clonal de IEL	Provavelmente	Sim
Processo epiteliotrópico	Sim	Sim
Referências	(Roccabianca et al., 2006)	(van Vliet & Spagnolo, 2020).

EATL–Linfoma de células T associado a enteropatia; IEL – Linfócitos intra-epiteliais; DII – Doença inflamatória intestinal

O EATL humano, anteriormente designado por EATL do tipo I, é igualmente um linfoma raro, compreendendo aproximadamente 5% de todos os linfomas periféricos de células T (Delabie et al., 2011), no entanto, é o tipo mais comum de linfoma intestinal primário de células T nos países ocidentais, sendo responsável por 66-80% de todos os casos (Daum et al., 2003; Delabie et al., 2011). Desenvolve-se principalmente no jejuno e íleo, deriva de IEL e ocorre em indivíduos com doença celíaca (van Vliet & Spagnolo, 2020). Na maioria dos EATL em humanos as células linfoides predominantes são CD3+, CD103+, sendo positivos a marcadores de moléculas envolvidas em processos de citotoxicidade, como as granzimas B e perforinas, e em alguns casos este linfoma é CD8+ (van Vliet & Spagnolo, 2020). Neste aspeto, estes dois linfomas diferem, pois, o linfoma LGL felino é predominantemente CD8+, no entanto ambos expressam a integrina CD103 (Roccabianca et al., 2006; van Vliet & Spagnolo, 2020).

Como já referido, alguns estudos referem a ocorrência do linfoma LGL em gatos com histórico de doença inflamatória intestinal (Roccabianca et al., 2006), e em humanos o EATL também é uma consequência de doença inflamatória intestinal crónica, assim como de doença celíaca e jejunita ulcerativa (Ashton-Key et al., 1997; Bagdi et al., 1999; Dieter & Duque, 2000; van Vliet & Spagnolo, 2020). Para além disto, em gatos, a ulceração da mucosa e perfuração

intestinal ocorre frequentemente associada ao linfoma LGL, tal como ocorre no EATL nos humanos (Roccabianca et al., 2006; van Vliet & Spagnolo, 2020). Como o EATL em humanos tem origem nos IEL, reforça a fundamentação da origem do linfoma LGL em IEL (Roccabianca et al., 2006).

Na medicina humana, o linfoma LGL é raro e não é classificado como um subtipo de EATL (Loughran, 1993; B. Wolfesberger et al., 2018). São poucos os casos descritos de linfoma LGL no trato gastrintestinal em humanos, com um comportamento clínico semelhante aos linfomas LGL dos gatos, sendo descrito como uma doença de progressão rápida, frequentemente associada a ascite (Lamy & Loughran, 2003). Foram descritos casos em 1990 e 1993 com localização no jejuno e no reto, respetivamente (Longacre et al., 1990; Nakamura et al., 1993). Em contraste com os felinos, em humanos os linfócitos granulares grandes estão mais frequentemente associados a leucemia linfocítica crónica que é caracterizada por linfoproliferação de linfócitos T citotóxicos ou células NK, com um curso indolente (Sanikommu et al., 2017).

#### **4.2. Leucemia/linfoma LGL em Cães**

A leucemia/linfoma LGL em cães ocorre em animais mais velhos, com idade média de 10 anos. Os sinais clínicos podem ser variáveis, desde o envolvimento do sistema gastrintestinal a um quadro de prostração. A maior parte destes animais apresenta linfocitose LGL e os grânulos não são tão evidentes em amostras citológicas como em gatos. A esplenomegalia geralmente está presente e pode ser palpável no exame físico. Ao contrário dos tumores LGL em humanos ou felinos, o número de neutrófilos no sangue periférico permanece dentro dos limites normais.

Cerca de 90% das neoplasias LGL são positivas para CD3, as que são negativas são considerados do tipo de células NK (<10%) (Valli et al., 2016). Em mais de 90% dos casos a integrina CD11d foi identificada, sugerindo uma origem esplênica. Esta integrina é expressa por macrófagos e células T da polpa vermelha do baço e por LGL do sangue periférico. A expressão de CD11d, esplenomegalia e envolvimento ligeiro da medula óssea, sugeriu que o baço é o local de origem deste linfoma LGL em cães (McDonough & Moore, 2000). A deteção de grânulos citoplasmáticos é igualmente a chave para diagnosticar neoplasias LGL e distingui-los de outros linfomas. Em humanos e em animais, considera-se uma neoplasia de células LGL se o aumento de LGL no sangue periférico estiver presente durante três ou mais meses (Valli et al., 2016).

Em cães, as neoplasias LGL têm um curso menos agressivo, alguns animais respondem positivamente aos tratamentos com quimioterapia e têm tempos de sobrevivência relativamente longos (Roccabianca et al., 2006; Valli et al., 2016). Os cães com erliquiose podem ter sinais clínicos e parâmetros sanguíneos semelhantes ao linfoma LGL, e em casos raros os linfócitos podem ser do tipo LGL. No entanto, esta patologia pode ser diferenciada por outros meios de diagnóstico (Valli et al., 2016).

Na Tabela 6 foi feita uma comparação entre o linfoma LGL felino e o linfoma/leucemia LGL em cães, para sistematizar as suas diferenças.

*Tabela 6 - Comparação entre o linfoma granular de células grandes em felinos com o linfoma/leucemia granular de células grandes em cães*

<b>Características</b>	<b>Linfoma LGL felino</b>	<b>Linfoma/leucemia LGL canino</b>
Origem	Intestino	Polpa vermelha do baço
Sinais clínicos	Maioritariamente gastrointestinais	Maioritariamente gastrointestinais
Imunofenótipo	CD3+/CD8αα e CD103	CD3+ e CD11d
Comportamento biológico	Agressivo	Indolente
<b>Referências</b>	(Roccabianca et al., 2006)	(Valli et al., 2016)

LGL– Linfócitos granulares grandes (Do inglês *Large granular lymphocytes*)

## 5. Fatores de prognóstico

Os gatos com linfoma LGL apresentam geralmente taxas de resposta ao tratamento mais baixas, do que qualquer outro tipo de linfoma gastrointestinal. O tempo mediano de sobrevida para estes animais é de 45-90 dias caso sejam submetidos a tratamento, e inferior no caso de não receberem tratamento (Finotello et al., 2017; Vail et al., 2019). No entanto existem casos reportados em que os gatos apresentam tempos de sobrevida após o diagnóstico superiores a seis meses (Finotello et al., 2017; Sapieryński et al., 2015; Tidd et al., 2019; Birgitt Wolfesberger et al., 2016).

Os LGL com morfologia madura e imatura foram observados, no entanto a morfologia das células observadas na citologia e histopatologia não estiveram relacionados com a evolução da doença, pelo que não foi possível afirmar que a maturidade ou imunofenotipo das células está associado ao prognóstico (Roccabianca et al., 2006).

Muitos gatos são eutanasiados no momento do diagnóstico, devido ao estado avançado da doença, mau estar geral e prognóstico desfavorável. Além disso, o envolvimento do linfoma a nível intestinal pode estar acompanhado por perfuração da parede intestinal e peritonite subsequente (Sapieryński et al., 2015). O aparecimento de leucemia LGL tem vindo a ser descrita como um fator de prognóstico negativo, assim como níveis elevados de lactato desidrogenase (LDH), ausência de administração de quimioterápicos e falta de resposta ao tratamento médico (Finotello et al., 2017). A localização da doença bicavitária, com envolvimento multiorgânico como o fígado e rim são considerados fatores de prognósticos negativos. Gatos com doença envolvendo a cavidade torácica e abdominal estão num estadio clínico muito avançado, e a diminuição da albumina sérica pode estar associada à gravidade do envolvimento hepático ou gastrointestinal (Krick et al., 2008).

A elevada mortalidade está associada não só ao comportamento biológico agressivo e falta de resposta à quimioterapia, mas também ao mau estado dos gatos, que acaba por comprometer a capacidade de administrar quimioterapia ou de realizar intervenção cirúrgica. Os casos em que os gatos tiveram respostas favoráveis à quimioterapia podem ser justificados pelo facto de não haver envolvimento que comprometa os órgãos internos ou envolvimento sistémico. A quimioterapia na forma de protocolos baseados em CHOP ou lomustina (CCNU) como agente único podem melhorar o controlo da doença e o tempo de sobrevida (Finotello et al., 2017; Sapieryński et al., 2015). O uso de cirurgia associada a quimioterapia também pode ser benéfico (Tidd et al., 2019; Birgitt Wolfesberger et al., 2016).

Na seguinte tabela, referente aos diferentes tratamentos utilizados e os repetitivos resultados obtidos, observamos que os tempos de sobrevida são muito variados, estando compreendidos entre 19 dias e 16 meses.

Tabela 7 - Diferentes tratamentos e respetivos tempos de sobrevida

Estudo Número de animais (N)	Tratamento (N)	Tempo mediano de sobrevida
<b>2019</b> (Tidd et al., 2019) <b>N=3</b>	Cirurgia e posterior quimioterapia (n=3)	MST de 370 dias
<b>2017</b> (Finotello et al., 2017) <b>N=79</b>	Enterectomia associada a CHOP (n=9) Enterectomia associada a corticosteroides (n=2) Enterectomia (n=1)	Enterectomia – 42 dias
	CHOP (n=20) Lomustina (n=5) Corticosteroides (n=42) semtratamento (n=30)	CHOP – 60 dias * Lomustina – 90 dias Corticosteroides – 15 dias Sem tratamento - 5 dias
<b>2016</b> (Birgitt Wolfsberger et al., 2016) <b>N=2</b>	Cirurgia associada a quimioterapia (n=2)	Cirurgia + VP – 19 dias Cirurgia + VELCAP – 455 dias
<b>2016</b> (Rau & Burgess, 2016) <b>N=9</b>	Lomustina (n=9)	129 dias
<b>2015</b> (Sapierzyński et al., 2015) <b>N=6</b>	Glucocorticoides (n=2)  COP (n=2)  Masitinib (n=1)  Sem tratamento (n=1)	Glucocorticoides – sem resposta  COP – Redução do tamanho da massa, sobreviveu 9 meses (n=1), redução e estabilização do tamanho da massa, sobreviveu 16 meses (n=1)  Masitinib – estabilização da doença, sobreviveu 6 meses  Sem tratamento – 1,5 meses
<b>2008</b> (Krick et al., 2008) <b>N=45</b>	Baseado em COP (n=20) Baseado em CHOP (n=4) Cirurgia (n=4) Radioterapia de ortovoltagem (n=1) Nenhum tratamento (n=19)	COP (n=1) – gato teve remissão completa por 17 dias Cirurgia – 91 dias Cirurgia e quimioterapia (n=2) – 34 e 126 dias Prednisolona + Ciclofosfamida – 288 dias Sem registo (n=14)

COP–Ciclofosfamida, vincristina e prednisona; CHOP– Ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona; VELCAP –Vincristina, L-asparaginase, ciclofosfamida, doxorubicina e prednisolona; VP – Vincristina, prednisolona; MST – Tempo mediano de sobrevida; \* exceções ver texto acima

Não obstante os resultados acima descritos, em quase todos os estudos realizados até à data, existem gatos que apresentam tempos de sobrevida muito favoráveis, de seis a nove meses, ou superiores.

De salientar que no estudo de Krick et al. (2008) o tratamento com prednisolona e ciclofosfamida permitiu a um felino viver por 288 dias, sendo o felino que viveu por mais tempo no estudo. No estudo de Sapieryński et al. (2015) dois gatos foram tratados com protocolo COP, num caso houve redução do tamanho da massa e sobrevivência de nove meses, enquanto o outro teve redução e estabilização do tamanho da massa e sobrevivência de 16 meses. Estes dois animais tinham um linfoma LGL nasal e intestinal, respetivamente. Ainda neste estudo um gato com linfoma LGL sistémico, sobreviveu por seis meses seguindo o tratamento com masitinib.

O protocolo CHOP também é muito utilizado em linfomas, no entanto foram reportadas fracas respostas com este tratamento (Krick et al., 2008). Contudo, seis gatos receberam este protocolo e sobreviveram por mais de seis meses num relato recente\* (Finotello et al., 2017). É ainda importante referir que o tratamento com lomustina no estudo de Finotello et al. (2017), foi o que permitiu aos animais viver mais tempo, como observado na Tabela 7.

A excisão cirúrgica de massas gastrointestinais discretas ou isoladas está recomendada em casos de obstrução intestinal, perfuração intestinal com peritonite ou em situações em que é necessário estabelecer um diagnóstico (Nelson & Couto, 2020). No entanto, a remoção cirúrgica de massas gastrointestinais isoladas em gatos tem mostrado, em alguns estudos, benefício no tratamento de linfomas em gatos. É importante considerar a ressecção cirúrgica de linfomas especialmente em gatos com envolvimento do intestino grosso porque a sobrevivência pós-cirúrgica e o resultado a longo prazo para estes gatos é especialmente promissor. O objetivo da cirurgia é a ressecção de massas gastrointestinais discretas, porque os gatos com margens cirúrgicas completas sobrevivem mais tempo (Tidd et al., 2019). A combinação de cirurgia com quimioterapia também pode trazer benefícios para animais com linfomas (Gouldin et al., 2017).

De destacar que no estudo de Birgitt Wolfesberger et al., 2016, foi realizada a ressecção cirúrgica da massa intestinal, linfadenectomia e posterior quimioterapia com vincristina, L-asparaginase, ciclofosfamida, doxorubicina e prednisolona (VELCAP), permitindo a um gato viver por 16 meses. Assim como no estudo de Tidd et al., (2019), o tempo mediano de sobrevida de três gatos, foi de 370 dias, com realização de cirurgia e posterior quimioterapia. No entanto, o estudo de Finotello et al. (2017) refere que a cirurgia não foi muito benéfica, com uma média de sobrevida de 42 dias, tornado a realização de cirurgia um procedimento controverso.

## 6. Considerações finais

O linfoma granular de células grandes felino é uma neoplasia maligna rara, de mau prognóstico, com um número restrito de publicações, e cujo tratamento ideal não está ainda estabelecido. O intestino delgado é a localização mais observada, no entanto existem casos em que não existe envolvimento gastrointestinal. A incidência desta neoplasia é baixa, contudo pode estar a ser subestimada devido à falha na observação de grânulos citoplasmáticos, pois estes são mais facilmente observados em amostras citológicas do que em histopatologia.

Os LGL neoplásicos são morfológica e fenotipicamente idênticos aos IEL, existindo uma forte possibilidade dos linfomas LGL em felinos terem origem nestas células. As semelhanças entre este linfoma e o EATL humano, corroboram esta teoria, pois este linfoma de células T associado a enteropatia humana tem origem em linfócitos intra-epiteliais. Para além disso, este linfoma LGL felino pode ter um processo inflamatório crónico na sua génese, no qual ocorre uma estimulação antigénica prolongada que origina uma transformação clonal das células T intra-epiteliais intestinais. Contudo, a origem numa inflamação crónica do intestino permanece por ser confirmada. Na medicina humana, está descrita uma associação entre as doenças inflamatórias intestinais e o desenvolvimento de EATL.

Em virtude das características desta doença e devido à falta de sinais clínicos precoces, os linfomas LGL são diagnosticados já numa fase avançada da doença. Consequentemente, considera-se que gatos de meia-idade que apresentam anorexia, perda de peso, função hepática anormal e aumento de LGL no sangue periférico devem ser monitorizados para linfoma LGL primário intestinal. Adicionalmente, deverão ser igualmente investigados os casos raros de linfoma LGL extra gastrointestinal, como no caso da cavidade nasal.

Com base na análise dos estudos publicados, foi possível concluir que este linfoma apresenta ainda muitas questões por responder. Torna-se necessário investigar eventuais fatores de prognósticos adicionais, que permitam justificar a longevidade de uma pequena percentagem de gatos encontrados nos vários estudos já realizados. Será também necessária uma investigação mais aprofundada, que permita aumentar o conhecimento sobre esta doença.

## 7. Referências bibliográficas

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2015). Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System. In *American Journal of Epidemiology* (Vol. 155, Issue 2, pp. 185-a-186). <https://doi.org/10.1093/aje/155.2.185-a>
- Aitken-Palmer, C., Isaza, R., Dunbar, M., Blackwood, S., Gerlach, T., & Russell, K. (2011). Anterior uveitis as an atypical presentation of large granular lymphoma in a caracal (Caracal caracal). *Veterinary Ophthalmology*, *14*(5), 337–340. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2011.00905.x>
- Ashton-Key, M., Diss, T. C., Pan, L., Du, M. Q., & Isaacson, P. G. (1997). Molecular analysis of T-cell clonality in ulcerative jejunitis and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *American Journal of Pathology*, *151*(2), 493–498.
- Bagdi, E., Diss, T. C., Philippa, M., & Isaacson, P. G. (1999). Mucosal Intra-epithelial Lymphocytes in Enteropathy-Associated T-Cell Lymphoma, Ulcerative Jejunitis, and Refractory Celiac Disease Constitute a Neoplastic Population. *Blood*, *94*(1), 260–264. <https://doi.org/10.1182/blood.V94.1.260.413k40>
- Buracco, P., Guglielmino, R., Abate, O., Bocchini, V., Cornaglia, E., DeNicolat, D. B., Cilli, M., & Ponzio, P. (1992). *Large granular lymphoma in i n FilV-positive and FeLV- negative cat.* 279–284.
- Cheney, C. M., Rojko, J. L., Kociba, G. J., Wellman, M. L., Bartola, S. P. D., Rezanka, L. J., Forman, L., & Mathes, L. E. (1990). *A feline large granular lymphoma and its derived cell line.* *May*, 455–463.
- Daleck, C. Ro., & Nardi, A. B. De. (2016). *Oncologia em cães e gatos.*
- Darbès, J., Majzoub, M., Breuer, W., & Hermanns, W. (1998). Large granular lymphocyte leukemia/lymphoma in six cats. *Veterinary Pathology*, *35*(5), 370–379. <https://doi.org/10.1177/030098589803500506>
- Daum, S., Ullrich, R., Heise, W., Dederke, B., Foss, H. D., Stein, H., Thiel, E., Zeitz, M., & Riecken, E. O. (2003). Intestinal non-Hodgkin's lymphoma: A multicenter prospective clinical study from the German Study Group on intestinal non-Hodgkin's lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*, *21*(14), 2740–2746. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.06.026>
- Delabie, J., Holte, H., Vose, J. M., Ullrich, F., Jaffe, E. S., Savage, K. J., Connors, J. M., Rimsza, L., Harris, N. L., Müller-Hermelink, K., Rüdiger, T., Coiffier, B., Gascoyne, R. D., Berger, F., Tobinai, K., Au, W. Y., Liang, R., Montserrat, E., Hochberg, E. P., ... Weisenburger, D. D. (2011). Enteropathy-associated T-cell lymphoma: Clinical and histological findings from the international peripheral T-Cell lymphoma project. *Blood*, *118*(1), 148–155. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-02-335216>
- Dieter, R., & Duque, K. (2000). *Enterotherapy associated T-cell lymphoma: a case report and literature review.*
- Finotello, R., Vasconi, M. E., Sabattini, S., Agnoli, C., Giacoboni, C., Annoni, M., Dentini, A., Bettini, G., Guazzi, P., Stefanello, D., Bottero, E., Mesto, P., Marinelli, R., De Feo, C., &

- Marconato, L. (2017). Feline large granular lymphocyte lymphoma: An Italian Society of Veterinary Oncology (SIONCOV) retrospective study. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(1), 159–166. <https://doi.org/10.1111/vco.12325>
- Franks, P. T., Harvey, J. W., Mays, M. C., Senior, D. F., Bowen, D. J., & Hall, B. J. (1986). *Feline Large Granular Lymphoma*. 200–202.
- Gouldin, E. D., Mullin, C., Morges, M., Mehler, S. J., de Lorimier, L. P., Oakley, C., Risbon, R., May, L., Kahn, S. A., & Clifford, C. (2017). Feline discrete high-grade gastrointestinal lymphoma treated with surgical resection and adjuvant CHOP-based chemotherapy: retrospective study of 20 cases. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(2), 328–335. <https://doi.org/10.1111/vco.12166>
- Guy-Grand, D., & Vassalli, P. (1993). Gut intraepithelial T lymphocytes. *Current Opinion in Immunology*, 5(2), 247–252. [https://doi.org/10.1016/0952-7915\(93\)90012-H](https://doi.org/10.1016/0952-7915(93)90012-H)
- Ishibashi, H., Nimura, S., Ishitsuka, K., Mihashi, Y., Mizoguchi, M., Nakamura, S., Okamura, S., Momosaki, S., Aoyagi, K., Sakisaka, S., & Takeshita, M. (2016). High expression of intestinal homing receptor CD103 in adult T-cell Leukemia/Lymphoma, similar to 2 other CD8+T-cell lymphomas. *American Journal of Surgical Pathology*, 40(4), 462–470. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000597>
- Kariya, K., Konno, A., & Ishida, T. (1997). Perforin-like Immunoreactivity in Four Cases of Lymphoma of Large Granular Lymphocytes in the Cat. *Veterinary Pathology*, 34(2), 156–159. <https://doi.org/10.1177/030098589703400210>
- Konijnenburg, D. P. H. Van, & Mucida, D. (2017). Intraepithelial lymphocytes. *Current Biology*, 27(15), R737–R739. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.073>
- Krick, E. L., Little, L., Patel, R., Shofer, F. S., Sorenmo, K., Clifford, C. A., & Baez, J. L. (2008). Description of clinical and pathological findings, treatment and outcome of feline large granular lymphocyte lymphoma (1996-2004). *Veterinary and Comparative Oncology*, 6(2), 102–110. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2007.00146.x>
- Lamb, C. A., Mansfield, J. C., Tew, G. W., Gibbons, D., Long, A. K., Irving, P., Diehl, L., Eastham-Anderson, J., Price, M. B., O'Boyle, G., Jones, D. E. J., O'Byrne, S., Hayday, A., Keir, M. E., Egen, J. G., & Kirby, J. A. (2017).  $\alpha$ E $\beta$ 7 Integrin Identifies Subsets of Pro-Inflammatory Colonic CD4+ T Lymphocytes in Ulcerative Colitis. *Journal of Crohn's & Colitis*, 11(5), 610–620. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw189>
- Lamb, C. A., O'Byrne, S., Keir, M. E., & Butcher, E. C. (2018). Gut-selective integrin-targeted therapies for inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 12, S653–S668. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy060>
- Lamy, T., & Loughran, T. P. (2003). Clinical features of large granular lymphocyte leukemia. *Seminars in Hematology*, 40(3), 185–195. [https://doi.org/10.1016/S0037-1963\(03\)00133-1](https://doi.org/10.1016/S0037-1963(03)00133-1)
- Longacre, T. A., Listrom, M. B., Spigel, J. H., Willman, C. L., Dressler, L., & Clark, D. (1990). Aggressive Jejunal Lymphoma of Large Granular Lymphocytes. *American Journal of Clinical Pathology*, 93(1), 124–132. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ajcp/93.1.124>
- Loughran, T. P. (1993). Clonal diseases of large granular lymphocytes. *Blood*, 82(1), 1–14.

<https://doi.org/10.1182/blood.v82.1.1.bloodjournal8211>

- Male, D., Brodtoff, J., Roth, D. B., & Roitt, I. (2013). *Immunology* (eight).
- Mário, J., Oliveira, B. De, Rozental, T., Regina, E., Lemos, S. De, Forneas, D., Ortega-mora, L. M., José, W., Porto, N., Alice, A., & Aparecido, R. (2018). Acta Tropica Coxiella burnetii in dairy goats with a history of reproductive disorders in Brazil. *Acta Tropica*, 183(November 2017), 19–22. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.04.010>
- Mcdonough, S. P., & Moore, R. F. (2000). Clinical, hematologic, and immunophenotypic characterization of canine large granular lymphocytosis. *Veterinary Pathology*, 37(6), 637–646. <https://doi.org/10.1354/vp.37-6-637>
- Moore, P. F., Rodriguez-Bertos, A., & Kass, P. H. (2012). Feline Gastrointestinal Lymphoma: Mucosal Architecture, Immunophenotype, and Molecular Clonality. *Veterinary Pathology*, 49(4), 658–668. <https://doi.org/10.1177/0300985811404712>
- Mott, J., & Morrison, J. A. (2019). *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult Clinical Companion Small Animal Gastrointestinal Diseases* (1st ed.).
- Nakamura, S., Suchi, T., Koshikawa, T., Takagi, N., Hayashi, K., Koike, K., Suzuki, H., Ogura, M., Kurita, S., Oyama, A., Ueda, R., & Takahashi, T. (1993). Aggressive rectal lymphoma of large granular lymphocytes with the histologic feature of an angiocentric growth pattern. *Cancer*, 71(1), 249–256. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19930101\)71:1<249::AID-CNCR2820710138>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19930101)71:1<249::AID-CNCR2820710138>3.0.CO;2-9)
- Nelson, R. W., & Couto, G. C. (2020). *Small animal internal medicine - 6th edition*. Elsevier.
- Paulin, M. V, Couronné, L., Beguin, J., Poder, S. Le, Delverdier, M., Semin, M., Bruneau, J., Cerfbensussan, N., Malamut, G., & Cellier, C. (2018). *Feline low-grade alimentary lymphoma : an emerging entity and a potential animal model for human disease*. 1–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12917-018-1635-5>
- Rau, S. E., & Burgess, K. E. (2016). A retrospective evaluation of lomustine (CeeNU) in 32 treatment naïve cats with intermediate to large cell gastrointestinal lymphoma (2006–2013). *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(3), 1019–1028. <https://doi.org/10.1111/vco.12243>
- Rieger, J., Janczyk, P., Hünigen, H., Neumann, K., & Plendl, J. (2015). Intraepithelial lymphocyte numbers and histomorphological parameters in the porcine gut after Enterococcus faecium NCIMB 10415 feeding in a Salmonella Typhimurium challenge. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 164(1–2), 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.12.013>
- Roccabianca, P., Vernau, W., Caniatti, M., & Moore, P. F. (2006). *Feline Large Granular Lymphocyte ( LGL ) Lymphoma with Secondary Leukemia : Primary Intestinal Origin with Predominance of a CD3 / CD8 aa Phenotype*. 28, 15–28.
- Roccabianca, P., Woo, J. C., & Moore, P. F. (2000). Characterization of the diffuse mucosal associated lymphoid tissue of feline small intestine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*.
- Sanikommu, S. R., Clemente, M. J., Chomczynski, P., Afable, M. G., Jerez, A., Thota, S., Patel, B., Hirsch, C., Nazha, A., Desamito, J., Lichtin, A., Pohlman, B., Sekeres, M. A.,

- Radvoyevitch, T., & Maciejewski, J. P. (2017). Clinical features and treatment outcomes in large granular lymphocytic leukemia (LGLL). *Leukemia and Lymphoma*, 59(2), 416–422. <https://doi.org/10.1080/10428194.2017.1339880>
- Sapierzyński, R., Jankowska, U., Jagielski, D., & Kliczkowska-Klarowicz, K. (2015). Large granular lymphoma in six cats. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 18(1), 163–169. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2015-0021>
- Swerdlow, S., Campo, E., & Harris, N. (2008). *WHO Classification of Tumors of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues* (fourth). International Agency for Research on Cancer (IARC).
- Tidd, K. S., Durham, A. C., Brown, D. C., Velovolu, S., Nagel, J., & Krick, E. L. (2019). Outcomes in 40 cats with discrete intermediate- or large-cell gastrointestinal lymphoma masses treated with surgical mass resection (2005-2015). *Veterinary Surgery*, 48(7), 1218–1228. <https://doi.org/10.1111/vsu.13281>
- Tsuboi, M., Uchida, K., Park, E. S., Kotera, Y., Seki, T., Takahashi, M., & Nakayama, H. (2010). Systemic T cell large granular lymphocyte lymphoma with multifocal white matter degeneration in the brain of a Japanese domestic cat. *Journal of Veterinary Medical Science*, 72(6), 795–799. <https://doi.org/10.1292/jvms.09-0525>
- Vail, D. M., Thamm, D. H., & Liptak, J. M. (2019). Hematopoietic Tumors. In *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology (Sixth Edition)*.
- Valli, V. E., Bienzle, D., & Meuten, D. J. (2016). Tumours of the haemolymphatic system. In *Tumors in Domestic Animals* (pp. 225–236). <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-2800-7.00026-1>
- Valli, V., Kiupel, M., Bienzle, D., & Darren Wood, R. (2016). Hematopoietic System. In *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals: Sixth Edition (Sixth Edit, Vol. 3, pp. 102-268.e1)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5319-1.00013-X>
- van Vliet, C., & Spagnolo, D. V. (2020). T- and NK-cell lymphoproliferative disorders of the gastrointestinal tract: review and update. *Pathology*, 52(1), 128–141. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2019.10.001>
- Washabau, R. J., & Day, M. J. (2014). Canine & Feline Gastroenterology. In *The Canadian Veterinary Journal. la Revue Veterinaire Canadienne* (Vol. 55, Issue 2).
- Wijk, F. Van, & Cheroutre, H. (2009). Intestinal T cells : Facing the mucosal immune dilemma with synergy and diversity. *Seminars in Immunology*, 21, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2009.03.003>
- Withrow, S. J., Vail, D. M., & Ofri, R. (2007). WITHROW AND MACEWEN'S SMALL ANIMAL CLINICAL ONCOLOGY. In *Materials Science and Engineering B* (Vol. 47, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/S0921-5107\(97\)00015-9](https://doi.org/10.1016/S0921-5107(97)00015-9)
- Wolfesberger, B., Fuchs-Baumgartinger, A., Greß, V., Hammer, S. E., Gradner, G., Knödl, K., Tichy, A., Rütgen, B. C., & Beham-Schmid, C. (2018). World Health Organisation Classification of Lymphoid Tumours in Veterinary and Human Medicine: a Comparative Evaluation of Gastrointestinal Lymphomas in 61 Cats. *Journal of Comparative Pathology*,

159, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2017.12.006>

- Wolfesberger, Birgitt, Skor, O., Hammer, S. E., Flickinger, I., Kleiter, M., Rütgen, B. C., Schwendenwein, I., Tichy, A., Hittmair, K. M., Degasperis, B., & Fuchs-Baumgartinger, A. (2016). Does categorisation of lymphoma subtypes according to the World Health Organization classification predict clinical outcome in cats? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(8), 897–906. <https://doi.org/10.1177/1098612X16666119>
- Woo, J. C., Roccabianca, P., Van Stijn, A., & Moore, P. F. (2002). Characterization of a feline homologue of the  $\beta$ E integrin subunit (CD103) reveals high specificity for intra-epithelial lymphocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85(1–2), 9–22. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00394-4](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00394-4)
- Wright DH. (1997). *Enteropathy associated T cell lymphoma*. *Cancer Surv.*