

PEDRO POL XIMENES

**EXAME DA MEDULA ÓSSEA EM LEUCEMIAS FELINAS – REVISÃO
DE LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP,
para obtenção do grau de Médico Veterinário

Preceptor: Profa Titular Noeme Sousa Rocha

Botucatu

2023

PEDRO POL XIMENES

**EXAME DA MEDULA ÓSSEA EM LEUCEMIAS FELINAS – REVISÃO
DE LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP,
para obtenção do grau de Médico Veterinário

Área de Concentração: Patologia Veterinária

Preceptor: Profa Titular Noeme Sousa Rocha
Coordenador de Estágios: Prof Ass José Paes de Oliveira Filho

Botucatu

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Ximenes, Pedro Pol.

Exame da medula óssea em leucemias felinas : revisão de literatura / Pedro Pol Ximenes. - Botucatu, 2023

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Noeme Sousa Rocha

Capes: 50503006

1. Diagnóstico. 2. Hematopoese. 3. Leucemia. 4. Medula óssea. 5. Retroviroses. 6. Vírus da leucemia felina.

Palavras-chave: Diagnóstico; Hematopoese; Leucemia; Medula óssea; Retroviroses felinas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha família. Sou o que sou hoje por conta de vocês, pai, mãe, meu irmão, tias, avós, que sempre estiveram junto a mim e sempre me apoiaram nos momentos mais difíceis da graduação. Amo muito todos vocês e espero algum dia poder retribuir tudo o que fizeram por mim.

Não poderia ter conhecido pessoas melhores em Botucatu. Agradeço a todos os amigos que fiz na cidade que se tornou uma casa para mim. Rimos juntos, estudamos juntos, enfrentamos juntos uma pandemia e, mais importante, vivemos experiências das quais sempre carregarei maravilhosas lembranças. Obrigado a todos vocês!

Agradeço muito a todos os professores da Unesp, que me permitiram uma formação sólida e me apresentaram tantas faces da Medicina Veterinária. Agradeço em especial à minha orientadora, que muito mais do que me ensinar, é alguém em quem posso confiar e um grande exemplo profissional e pessoal.

Sou muito grato à Unesp por ter proporcionado uma estrutura tão eficaz para a minha formação e tenho muito orgulho de ser unespiano. Por conta da Unesp e da Capes, tive a chance de viver a maior experiência da minha vida na França, que me trouxe ganhos não só profissionais, mas principalmente pessoais e culturais. Agradeço às pessoas maravilhosas que conheci em Toulouse, que dessa forma se tornou mais uma casa durante minha graduação.

Por fim, agradeço aos animais, tão presentes na minha vida desde a época em que comecei minhas atividades de educação ambiental no Zoológico de Bauru, instituição a quem devo tanto. Nos momentos mais difíceis da graduação, pensar no meu sonho de criança de trabalhar com animais me manteve firme. É pela Bolinha, Balu, Catatau e Mel, que hoje brincam junto às estrelas, pela Princesa, GG, Fubá e Lili, que compartilham seu amor conosco diariamente, e por tantos outros, que procurarei me tornar o melhor profissional possível.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Casos de leucemia em gatos entre 2000 e 2023	14
--	----

XIMENES, PEDRO POL. Exame da Medula Óssea em Leucemias Felinas – Revisão de Literatura. Botucatu, 2023. 20p. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Patologia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

RESUMO

A medula óssea é o órgão no qual ocorre a hematopoese. As linhagens das células hematopoiéticas – mieloide (eritroide, granulocítica, megacariocítica) e linfoide – são compostas por uma sucessão de células até chegarem ao estágio maduro. Alterações neoplásicas podem acometer tais células e, quando essa doença tem origem na medula óssea, dá-se o nome de leucemia. Esses distúrbios podem ser divididos em relação à linhagem (linfoide ou mieloide), ao grau de maturação da célula (aguda ou crônica) e à presença ou não de células neoplásicas na circulação (leucemia aleucêmica, subleucêmica ou leucêmica). Os distúrbios mieloides incluem leucemia mieloide aguda (com subdivisões), síndromes mielodisplásicas e neoplasias mieloproliferativas; os linfoides, leucemia linfoblástica aguda e leucemia linfocítica crônica. As leucemias possuem importância na Medicina Felina, uma vez que os principais retrovírus que acometem esses animais, o Vírus da Leucemia Felina e o Vírus da Imunodeficiência Felina, têm capacidade oncogênica, direta ou indiretamente, e estão associados a muitos dos casos de leucemias relatados na espécie. O diagnóstico da leucemia em felinos se baseia em alterações do hemograma e principalmente na análise da medula óssea, tanto por meio de Citopatologia e Histopatologia quanto pelo uso de técnicas especiais, como citometria de fluxo, imuno-histoquímica e PARR. Esse Trabalho de Conclusão de Curso discute os mecanismos da hematopoese, as classificações das leucemias, uma visão geral da doença em felinos domésticos e as técnicas existentes para o seu diagnóstico na espécie.

Palavras-chave: medula óssea, hematopoese, leucemia, retrovírus felinas, diagnóstico

XIMENES, PEDRO POL. Bone Marrow Evaluation for Feline Leukemias - Literature Review. Botucatu, 2023. 20p. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Patologia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

ABSTRACT

The hematopoiesis occurs in bone marrow. Hematopoietic cell lineages – myeloid (erythroid, granulocytic, megakaryocytic) and lymphoid – are composed of a succession of cells until the mature stage. Neoplastic alterations can affect these cells and, when this disease arises from bone marrow, it is called leukemia. These disorders can be divided according to lineage (lymphoid or myeloid), cell maturation (acute or chronic), and the presence or absence of neoplastic cells circulation (aleukemic, subleukemic, or leukemic leukemia). Myeloid disorders include acute myeloid leukemia (with subdivisions), myelodysplastic syndromes, and myeloproliferative neoplasms, while lymphoid disorders include acute lymphoblastic leukemia and chronic lymphocytic leukemia. Leukemias are important in Feline Medicine, since the main retroviruses that affect these animals, the Feline Leukemia Virus and the Feline Immunodeficiency Virus, have direct/indirect oncogenic capacity and are associated with many of the cases of leukemias reported in that species. The diagnosis of feline leukemia is based on alterations in the blood count and mainly on the analysis of the bone marrow, by cytopathology and histopathology and by special techniques, such as flow cytometry, immunohistochemistry and PARR. This study discusses the mechanisms of hematopoiesis, the classifications of leukemias, an overview of the disease in domestic felines and the possible techniques for its diagnosis in the species.

Key words: bone marrow, hematopoiesis, leukemia, feline retroviruses, diagnosis

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	3
Lista de Tabelas.....	4
Resumo.....	5
Abstract	6
1. Introdução	8
2. Desenvolvimento.....	9
2.1. A medula óssea: uma visão estrutural	9
2.2. As células hematopoiéticas.....	9
2.3. Leucemias na Medicina Veterinária	11
2.4. Leucemias em Felinos Domésticos	13
2.5. Diagnósticos de Leucemias	15
3. Conclusão.....	17
4. Referências Bibliográficas	18

1. INTRODUÇÃO

A medula óssea está contida no interior dos ossos e é um dos maiores tecidos no corpo dos animais. Nela, ocorre a hematopoese, que corresponde à produção de células sanguíneas: hemácias, leucócitos e plaquetas (DAY & KOHN, 2012; SANTOS, ALESSI, 2016). Na vida intrauterina, esse processo ocorre inicialmente no saco vitelínico e posteriormente no fígado e baço. Na fase adulta dos mamíferos, a hematopoese se dá exclusivamente na medula óssea (excetuando-se as situações de hematopoese extramedular) (SANTOS & ALESSI, 2016).

A medula óssea pode ser avaliada tanto por exames citopatológicos quanto histopatológicos. Reconhecer a morfologia das células hematopoiéticas é essencial para se realizar a contagem diferencial, bem como usar técnicas complementares, como aquelas que utilizam anticorpos, para caracterizar as células mais imaturas (STOCKHAM, SCOTT, 2008; JUBB *et al.*, 2016).

O gato é uma espécie doméstica que comumente apresenta distúrbios hematológicos, sejam eles inflamatórios, infecciosos, autoimunes, oriundos de intoxicações e neoplásicos (BYERS, 2017). Nesse contexto, as leucemias merecem destaque. Elas se caracterizam por proliferações neoplásicas, originadas na medula óssea, dos precursores hematopoiéticos. As leucemias mieloides estão relacionadas às séries granulocítica, eritroide e megacariocítica, e as leucemias linfoides, aos linfócitos. As retroviroses felinas estão relacionadas ao desenvolvimento de tais neoplasias (DAY & KOHN, 2012; JUBB *et al.*, 2016).

Esse Trabalho de Conclusão de Curso discute a análise da medula óssea no contexto das leucemias em felinos domésticos. Primeiramente, serão apresentadas a estrutura da medula óssea e a forma com que se dá a hematopoese. Em seguida, é abordada a classificação das leucemias na Medicina Veterinária. Por fim, foca-se na doença em gatos, destacando-se o papel dos vírus FeLV e FIV na sua etiologia, e na condução do diagnóstico dessa neoplasia.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. A MEDULA ÓSSEA: UMA VISÃO ESTRUTURAL

A medula óssea pode ser dividida em medula óssea vermelha, constituída pelas células hematopoiéticas e predominante na fase jovem, e medula óssea amarela, com adipócitos e que substitui a medula vermelha ao longo da vida dos animais. Quando adultos, a hematopoese fica restrita à medula dos ossos axiais e à porção proximal dos ossos longos (SANTOS & ALESSI, 2016; ZACHARY, 2017).

A medula óssea também é composta por trabéculas ósseas, células reticulares, células endoteliais, células nervosas e matriz extracelular. Esses componentes formam um microambiente, envolvendo, nutrindo e sustentando o tecido hematopoiético (WEISS & WARDROP, 2010).

O fornecimento sanguíneo chega por artérias nos canais nutrientes e por uma rede vascular que penetra o córtex ósseo. Essas duas fontes convergem e formam uma rede de sinusoides. No espaço extravascular entre tais sinusoides ocorre a hematopoese. Não há drenagem linfática e a inervação se dá por fibras nervosas não mielinizadas e mielinizadas. A drenagem venosa ocorre a partir de veias paralelas às artérias nutrientes (WEISS & WARDROP, 2010; ZACHARY, 2017).

2.2. AS CÉLULAS HEMATOPOIÉTICAS

Há dois termos importantes, mieloide e linfoide, a serem definidos. Ainda que “mieloide” possa se referir a qualquer célula da medula óssea, a definição mais usual é a referência para qualquer célula hematopoiética não linfoide – ou seja, células da linhagem granulócica, eritroide e megacariocítica. A linhagem linfoide, por sua vez, refere-se a linfócitos e plasmócitos (SANTOS & ALESSI, 2016).

Dentre as células imaturas, são reconhecidas células-tronco, células progenitoras e células precursoras. As células-tronco são células pluripotentes com capacidade de autorrenovação que formam os progenitores mieloides e linfoides. Os progenitores originam as unidades formadoras de colônia que, posteriormente, diferenciam-se nos precursores de cada linhagem. Por conta dessa forma de divisão hierarquizada, as células mais indiferenciadas estão em menor número em relação

às diferenciadas (WEISS & WARDROP, 2010; STOCKHAM & SCOTT, 2008; ZACHARY, 2017; JUBB *et al.*, 2016).

Sequencialmente, na linhagem eritroide, reconhecem-se rubriblastos, pro-rubríctos, rubrícto basofílico, rubrícto policromatofílico, rubrícto normocrômico e metarrubrícto. A partir desse último estágio, formam-se reticulócitos e eritrócitos maduros. Ao longo desse processo de diferenciação, as células diminuem de tamanho e, conforme vão acumulando hemoglobina e perdendo organelas, perdem a basofilia citoplasmática e se tornam progressivamente eosinofílicos. Os eritrócitos maduros são anucleados (WEISS & WARDROP, 2010; STOCKHAM & SCOTT, 2008; ZACHARY, 2017).

A linhagem dos granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) inclui mieloblastos, pró-mielócitos, mielócitos, metamielócitos, bastonetes e as células maduras segmentadas. Progressivamente, na diferenciação de tais células, ocorre segmentação e condensação do núcleo. A distinção morfológica entre precursores de cada granulócito pode ser feita a partir do estágio de mielócito, momento no qual a célula adquire seus grânulos (e pode ser denominada mielócito neutrofilico, eosinofílico ou basofílico). O núcleo passa a se tornar edentado a partir dos metamielócitos, processo que progride até a segmentação nuclear típica das células maduras. Os neutrófilos são predominantes (STOCKHAM & SCOTT, 2008; JUBB *et al.*, 2016; ZACHARY, 2017).

A linhagem megacariocítica dá origem às plaquetas. As primeiras células são os megacarioblastos, que sofrem endomitose (sucessivas mitoses sem citocinese). Por conta disso, conforme as divisões celulares ocorrem, formam-se células maiores e poliploides. Os promegacariócitos possuem de 2 a 4 núcleos e os megacariócitos têm tamanho e número de núcleos variáveis. Essas últimas células são grandes e com citoplasma extenso, que se fragmenta para formar plaquetas (elementos anucleados) (STOCKHAM & SCOTT, 2008; JUBB *et al.*, 2016).

Os monócitos derivam de precursores em comum aos granulócitos. Três estágios são reconhecidos na linhagem: monoblastos, promonócitos e monócitos. Tais células são encontradas em baixa quantidade na medula óssea de animais

saudáveis. Nos tecidos, os monócitos se diferenciam em macrófagos (STOCKHAM & SCOTT, 2008; ZACHARY, 2017).

O progenitor linfoide comum dá origem aos progenitores de linfócitos B (maturam na medula óssea) e linfócitos T/NK (maturam no timo). Os linfoblastos são células maiores do que os linfócitos maduros e com um ou mais nucléolos evidentes. Essas células, junto com plasmócitos e mastócitos, são encontradas em baixo número na medula (STOCKHAM & SCOTT, 2008; JUBB *et al.*, 2016).

2.3. LEUCEMIAS NA MEDICINA VETERINÁRIA

Leucemia, seja mieloide ou linfoide, refere-se a uma proliferação maligna das células hematopoiéticas que se origina na medula óssea (DAY & KOHN, 2012). Há leucemias agudas, nas quais há blastos na medula óssea e baixo tempo de sobrevida dos pacientes, e crônicas, que se caracterizam pelo predomínio de células maduras e maior sobrevida. Há leucemias aleucêmicas (ausência de células neoplásicas circulantes) leucemias subleucêmicas (poucas células neoplásicas circulantes) e leucemias leucêmicas (alto número de células neoplásicas circulantes) (THRALL *et al.*, 2015).

Os distúrbios mieloides dividem-se em leucemias mieloides agudas, síndromes mielodisplásicas e distúrbios mieloproliferativos. O primeiro critério para defini-los foi construído pelo Animal Leukemia Study Group (JAIN *et al.*, 1991), que estabeleceu como ponto de corte para a classificação de leucemia mieloide aguda (LMA) a presença de no mínimo 30% de blastos entre as células nucleadas na medula (excluindo-se plasmócitos, linfócitos, macrófagos e mastócitos). Tal ponto de corte foi revisado e atualizado para 20% (MCMANUS, 2005). As categorias existentes e consecutivas características celulares, de acordo com Jain *et al.* (1991) e McManus (2005), para as leucemias agudas são:

- **Leucemia indiferenciada (M0):** cerca de 100% de blastos, com células totalmente indiferenciadas;
- **Leucemia mieloblástica (M1):** 90% de mieloblastos, com predominância de mieloblastos tipo I, e menos de 10 % de granulócitos diferenciados;

- **Leucemia mieloblástica com maturação (M2):** 20% a menos de 90% de mieloblastos, com variável quantidade de mieloblastos tipo II, além de mais de 10% de granulócitos diferenciados;
- **Leucemia mieloblástica com maturação e granulação atípica de promielócitos (M3):** presença de promielócitos (não reportado em animais domésticos);
- **Leucemia mielomonocítica (M4):** mais de 20% de mieloblastos + monoblastos entre as células nucleadas e mais de 20% de monócitos + granulócitos entre células não eritroides;
- **Leucemia monocítica (M5):** mais de 80% de monoblastos + promonócitos entre células não eritroides (M5a) ou mais de 20% e menos de 80% (M5b), além menos de 20% de granulócitos;
- **Eritroleucemia (M6):** mais de 50% de células eritroides entre as células nucleadas; mais de 20% de mieloblastos + monoblastos entre células não eritroides; eritroleucemia com predominância eritroide quando mais de 20% de blastos (incluindo rubriblastos) entre células nucleadas;
- **Leucemia megacarioblástica (M7):** mais de 20% de megacarioblastos entre células nucleadas / células não eritroides

Síndromes mielodisplásicas (SMD) envolvem casos em que a quantidade de blastos é inferior a 20%, há evidências de dishematopoiese (como dismielopoiese, diseritropoiese e dismegacariopoiese) e há citopenias. Essas síndromes podem ser categorizadas em 3 tipos: SMD com excesso de blastos (quantidade de blastos maior que 5%), com citopenia refratária (quantidade de blastos menor que 5%) e SMD-Er (com razão mieloide:eritroide menor que 1) (THRALL *et al.*, 2015).

Neoplasias mieloproliferativas (antigas leucemias mieloides crônicas) são raras nos animais domésticos e se caracterizam pela proliferação de células maduras e ligeira a ausente citopenia. Dentro desse grupo, encontram-se a policitemia vera, leucemia neutrofílica crônica, leucemia mielógena crônica, trombocitopenia essencial, leucemia monocítica crônica, mastocitose, leucemia eosinofílica crônica, neoplasia mieloproliferativa não classificável. Existe a possibilidade de a crise

blástica ocorrer, na qual aparecem blastos e a doença progride de forma mais rápida e desfavorável (THRALL *et al.*, 2015; JUBB *et al.*, 2016).

As leucemias linfoides, mais comuns que as mieloides, incluem as leucemias linfoblásticas agudas (LLA) e as leucemias linfocíticas crônicas (LLC). A diferenciação de leucemia e linfoma reside na localização anatômica (linfomas formam massas sólidas); mas essa distinção pode não ser possível, por exemplo, na fase do linfoma multicêntrico (THRALL *et al.*, 2015; JUBB *et al.*, 2016).

2.4. LEUCEMIAS EM FELINOS DOMÉSTICOS

Na Medicina Felina, são também mais comuns as leucemias linfoides (DALECK & DE NARDI, 2016; WITHROW *et al.*, 2013). Segundo Cristo *et al.* (2019), as leucemias agudas são mais comuns (73%) do que as crônicas (27%).

Os retrovírus mais comuns da espécie, o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e o Vírus da Leucemia Felina (FeLV), são apontados como agentes etiológicos. (DAY & KOHN, 2012) A neoplasia mais comum relacionada a esses vírus é o linfoma, seguido por leucemias (HARTMANN, 2012). Ainda que, globalmente, considere-se que esses vírus já tenham uma prevalência reduzida (WITHROW *et al.*, 2013), no Brasil eles ainda são importantes, com destaque para o FeLV. Estudos desenvolvidos em diferentes regiões do país apontam uma prevalência que varia de 4,5% a 33,7% para o FeLV e 2,2% a 12,5% para o FIV (POFFO *et al.*, 2017; ALMEIDA *et al.*, 2020; TEIXEIRA *et al.*, 2007; BIEZUS *et al.*, 2019).

Gatos infectados com o vírus FeLV têm 62 vezes mais chance de desenvolver linfomas e leucemias em comparação a gatos saudáveis. A oncogênese está relacionada à inserção do genoma na célula infectada próximo a oncogenes, ativando-os, assim como a características das LTR (repetições terminais longas) de determinadas variantes virais, que ativa vias relacionadas ao desenvolvimento de cânceres (HARTMANN, 2012; HISASUE *et al.*, 2009). Hisasue *et al.* (2000) identificaram hematopoese clonal em 4/4 casos de AML e 6/9 de síndrome mielodisplásica em gatos FeLV positivos. A infecção pelo vírus também é

comprovada em 60 a 80% dos animais com leucemia linfoblástica aguda (DALECK & DE NARDI, 2016). Na realidade, gatos infectados com o FeLV têm mais risco de desenvolver diversas alterações hematológicas, como anemia, neutropenia, trombocitopenia e linfocitose (GLEICH & HARTMANN, 2009).

Gatos infectados pelo vírus FIV têm 5 vezes mais chances de desenvolverem neoplasias em comparação a gatos saudáveis. Geralmente isso se dá indiretamente, a partir da diminuição da resposta imune celular (HARTMANN, 2012).

Em um estudo de avaliação citológica da medula óssea de 152 gatos com alterações hematológicas, 17 casos neoplásicos foram reportados; desses, além de 8 linfomas e 2 mielomas múltiplos, 5 eram casos de LMA, 1 de LLA e 1 de LLC (TURINELLI & GAVAZZA, 2018). Em outro estudo com 602 casos de distúrbios linfoproliferativos, 1,7% corresponderam a LLC e 3,7% a LLA (VALLI *et al.*, 2000). Um estudo determinou a distribuição de frequência entre 181 casos suspeitos de distúrbios mieloproliferativos: 30,9% de leucemia M1+M2, 17,1% de eritroleucemia e menos de 5% para leucemias indiferenciadas, leucemias monoblásticas e leucemia mielomonocítica, além de 21,5% casos de síndromes mielodisplásicas (JAIN, 1993). A tabela 1 mostra a quantidade de casos descritos entre 2000 e 2023 publicados no site Pubmed de leucemias em felinos domésticos.

Tabela 1 Casos de leucemia em gatos entre 2000 e 2023

Tipos de Leucemia	Número de casos	Infecção por FIV	Infecção por FeLV
Leucemia mieloide aguda	10	0	6
Leucemia mieloide crônica	1	0	0
Leucemia linfocítica crônica	2	0	1
Síndrome mielodisplásica	1	0	0

Fonte: COMAZZI *et al.*, 2000 ; MASHITA *et al.*, 2005 ; PRIHIRUNKIT *et al.*, 2008 ; SHIRANI *et al.*, 2011 ; GILROY *et al.*, 2011; FISCHER *et al.*, 2012; MOCHIZUKI *et al.*, 2014; TAGAWA *et al.*, 2020; CHOI *et al.*, 2020; SHIMODA *et al.*, 2021; Suzuki *et al.*, 2021.; PARK *et al.*, 2022 ; HISASUE *et al.*, 2022

É frequente a invasão por células neoplásicas de outros órgãos além da medula óssea nas leucemias dos felinos domésticos. Os sinais clínicos não são específicos, incluindo perda de peso, hipertermia, palidez, fraqueza e anorexia. Pode haver também hepatomegalia e linfadenopatia. As leucemias agudas têm prognósticos sombrios, com tentativas de tratamento quase sempre malsucedidas e comumente o animal vem a óbito ou é submetido à eutanásia após o diagnóstico. O tratamento de leucemias crônicas mieloides é controverso, pois o animal pode não apresentar uma crise blástica durante muito tempo após o diagnóstico (DALECK & DE NARDI, 2016; WITHROW *et al.*, 2013).

2.5. DIAGNÓSTICOS DE LEUCEMIAS

O diagnóstico de leucemia deve abranger a análise do sangue periférico e da medula óssea, a partir da utilização de diferentes técnicas, sendo difícil diferenciar leucemias e outros tumores hematopoéticos cujas células infiltraram a medula óssea. (ZACHARY, 2017; DAY & KOHN, 2012)

Exames hematológicos de rotina podem revelar citopenias (anemias não regenerativas, neutropenias e trombocitopenias), provocadas pela substituição do tecido hematopoiético normal pelas células neoplásicas (mieloftise). Sinais clínicos e distúrbios inespecíficos presentes nos quadros leucêmicos, como mucosas pálidas, hemorragias e infecções secundárias, são reflexos dessas citopenias. (ZACHARY, 2017; DAY & KOHN, 2012, WITHROW *et al.*, 2013)

Ao mesmo tempo, é possível observar o aumento de uma linhagem celular. O animal pode apresentar leucocitoses com concentrações de leucócitos na faixa de 70000 células por μL . Células atípicas e imaturas podem estar presentes na circulação nas leucemias agudas e nem sempre é possível diferenciar a origem com base na morfologia. Nas leucemias crônicas, as células possuem características morfológicas normais. Nesses casos, deve-se excluir outras causas de proliferação de células diferenciadas, como processos reativos (ZACHARY, 2017).

O exame da medula óssea é essencial. No caso de leucemias não leucêmicas, por exemplo, células neoplásicas podem ser poucas ou estarem ausentes na corrente

sanguínea. Em gatos, as amostras de medula óssea são comumente obtidas do tubérculo maior do úmero, na crista ilíaca e na fossa trocantérica do fêmur. Pode-se realizar tanto a aspiração, para a realização de exames citológicos, quanto coletas de biópsias para exames histopatológicos (BYERS, 2017).

A análise citopatológica permite melhor análise das características celulares morfológicas e assim a identificação os estágios de maturação. É feita a contagem diferencial de 500 células nucleadas para se obter a proporção de blastos e de células diferenciadas. O exame citopatológico também permite o cálculo da razão mieloide:eritroide (que, em gatos, deve estar em torno de 1,63). A medula óssea de animais saudáveis deve conter um predomínio de células diferenciadas e, nas leucemias, esse fato se altera por conta da proliferação das células neoplásicas (STOCKHAM, SCOTT, 2008; JUBB *et al.*, 2016).

O exame citopatológico, no entanto, não permite a avaliação da estrutura da medula óssea. Isso é possível com a histopatologia, que permite a visualização da celularidade da medula óssea, da invasividade e de fenômenos como mielofibrose e mielofitose (STOCKHAM, SCOTT, 2008).

A diferenciação de células imaturas, no entanto, pode não ser possível com esses exames. Nesse caso, técnicas como citometria de fluxo, imuno-histoquímica e PARR (PCR para rearranjos de receptores de antígenos), são úteis para a caracterização das células. Diferentes anticorpos foram testados por ARAGHI *et al.*, 2014, em citometrias de fluxo com amostras de gatos com diferentes neoplasias hematopoéticas. Entre alguns dos anticorpos que serviram como marcadores de células progenitoras, estão CD45, CD33, CD235a e CD18. O anticorpo CD34, nesse estudo em específico, não foi eficaz para demonstrar as células de leucemias agudas, ainda que ele o seja em grande parte da literatura existente (JUBB *et al.*, 2016). A técnica PARR, por sua vez, permite estabelecer se há ou não uma multiplicação clonal de células da linhagem linfóide (DAY & KOHN, 2012) e já foi usada em casos de leucemia felina (CHOI *et al.*, 2020).

3. CONCLUSÃO

Esse Trabalho de Conclusão de Curso trouxe uma discussão acerca do exame de medula óssea no contexto das Leucemias Felinas. Para tal tarefa, é essencial conhecer como acontece a hematopoese e as características morfológicas das linhagens celulares. A Leucemia Felina deve ser encarada como uma doença importante no Brasil, haja vista a prevalência das retrovirose que acometem essa espécie. Os prognósticos das leucemias agudas são muito desfavoráveis. A categorização desses distúrbios é complexa e é válida a expansão de estudos sobre o assunto. A continuidade do desenvolvimento e de pesquisa de técnicas especiais é muito importante, já que a diferenciação morfológica não é simples dependendo do grau de indiferenciação das células.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, I. O. et al. Estudo retrospectivo de retrovírus por teste imunoenzimático em gatos na Grande Vitória (ES, Brasil) e neoplasias associadas. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, v. 43, e104220, 2020
- ARAGHI A. *et al.* Flow cytometric immunophenotyping of feline bone marrow cells and haematopoietic progenitor cells using anti-human antibodies. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 16, n. 4, p. 265-274, 2014.
- BIEZUS, G. *et al.* Prevalence of and factors associated with feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) in cats of the state of Santa Catarina, Brazil. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 63, p. 17-21, 2019
- BYERS, C. G. Diagnostic Bone Marrow Sampling in Cats – Currently accepted best practices. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 19, n. 7, p. 759-767, 2017.
- CHOI, S. et al. CD5+/CD21- Chronic Lymphocytic Leukemia in a Cat. *Journal of Veterinary Clinics*, v. 37, n. 6, p. 350-354, 2020
- COMAZZI S. *et al.* Erythremic myelosis (AML6er) in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 2, n. 4, p. 213-215, 2000
- CRISTO, T. G. et al. Feline Leukaemia Virus Associated with Leukaemia in Cats in Santa Catarina, Brazil. *Journal of Comparative Pathology*, v. 170, p. 10-21, 2019
- DALECK, C. R. ; DE NARDI, A. B. *Oncologia em Cães e Gatos*. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA, 2016. p. 617-631
- DAY, M. J.; KOHN, B. *BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. 2 ed. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association, 2012. p. 21, 131-143
- FISCHER, C.; TAN, E.; BIENZLE, C. Erythroleukemia in a retrovirus-negative cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 240, n. 3, p. 294-297, 2012
- GAVAZZA, A.; TURINELLI, V. Retrospective study of 152 feline cytological bone marrow examinations: preliminary classification and ranges. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 20, n. 12, p. 1158-1168, 2018.
- GILROY, C. *et al.* Eosinophilia in a cat with acute leukemia. *Canadian Veterinary Journal*, v. 52, n. 9, p. 1004-1008, 2011.
- GLEICH, S.; HARTMANN, K. Hematology and Serum Biochemistry of Feline Immunodeficiency Virus-Infected and Feline Leukemia Virus-Infected Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 23, n. 3, p. 552-558, 2009.
- HARTMANN, K. Clinical Aspects of Feline Retroviruses: A Review. *Viruses*, v. 4, n. 11, p. 2684-2710, 2012
- HISASUE, M. *et al.* Clonality analysis of various hematopoietic disorders in cats naturally infected with feline leukemia virus. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 62, n. 10, p. 1059-1065, 2000.
- HISASUE, M. *et al.* Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia in cats infected with feline leukemia virus clone33 containing a unique long terminal repeat. *International Journal of Cancer*, v. 124, n. 5, 1133-1141, 2009.
- HISASUE, M.; TANAKA, M.; NEO, S. A cat with myelodysplastic syndrome by administration of the methylation inhibitor Azacytidine. *The Journal of Veterinary Medical Science*, v.84, n.1, p. 142-148, 2022.
- JAIN, N. C. Classification of Myeloproliferative Disorders in Cats Using Criteria Proposed by the Animal Leukaemia Study Group: A Retrospective Study of 181 Cases (1969-1992). *Comparative Haematology International*, v. 3, p. 125-134, 1993.

- JAIN, N. C. et al. Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 20, n. 3, p. 63-82, 1991.
- JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. C. **Jubb, Kennedy, and Palmers's Pathology of Domestic Animals**. 6 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, v. 3, 2016. p. 102-136
- MASHITA, T. *et al.* A cat with acute myeloblastic leukemia without maturation (M1) treated with combination chemotherapy. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 68, n. 1, p. 97-101, 2006.
- MCMANUS, P. M. Classification of myeloid neoplasms: a comparative review. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 34, n. 3, p. 189-212, 2005.
- MOCHIZUKI, H. *et al.* Chronic myelogenous leukaemia with persistent neutrophilia, eosinophilia and basophilia in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 16, n. 6, p. 517-521, 2014
- PARK, D. S. et al. Treatment of acute erythroleukaemia with high-dose cytarabine in a cat with feline leukaemia virus infection. **Veterinary Medicine Science**, v. 8, n. 1, p. 9-13, 2022
- POFFO D. et al. Feline immunodeficiency virus (FIV), feline leukaemia virus (FeLV) and Leishmania sp. in domestic cats in the Midwest of Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 5, p. 491-494, 2017.
- PRIHIRUNKIT, K.; NARKKONG, N. A.; APIBAL, S. Acute monoblastic leukemia in a FeLV-positive cat. **Journal of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 109-111. 2008.
- SANTOS, R. DE L.; ALESSI, A. C (org). **Patologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA, 2016. p. 534-563
- SHIMODA, M. *et al.* Monoblastic leukemia (M5a) with chronic basophilic leukemia in a cat. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 84, n. 2, p. 251-256, 2022.
- SHIRANI D. et al. Acute erythroid leukemia with multilineage dysplasia in a cat. **Canadian Veterinary Journal**, v. 52, n. 4, p. 389-393, 2011.
- STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology**. 2 ed. Ames: Blackwell Publishing, 2008. p. 324-358
- SUZUKI, S. *et al.* Anti-CD71 antibody immunohistochemistry in the diagnosis of acute myeloid leukemia, subtype acute erythroid leukemia with erythroid dominance (AML M6-Er), in a retrovirus-negative cat. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 33, n. 1, p. 87-94, 2021.
- TAGAWA, M. *et al.* Acute monoblastic leukemia in a feline leukemia virus-negative cat. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 82, n. 7, p. 1000-1005, 2020.
- TEIXEIRA, B. M. et al. Ocorrência do vírus da imunodeficiência felina e do vírus da leucemia felina em gatos domésticos mantidos em abrigos no município de Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.939-942, 2007.
- THRALL, M. A. *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Roca LTDA, 2015. p. 143-158
- VALLI, V. E. *et al.* A. The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute working formulation. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 12, n. 4, p. 295-306, 2000.
- WEISS, D. J.; WARDROP, J (ed.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. p. 8-13.
- WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; PAGE, R. L. **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 5 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013. p. 650-662
- ZACHARY, J. F. **Pathology Basis of Veterinary Diseases**. 6 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2017. p. 724-75