

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE RETROSPECTIVA DOS DIAGNÓSTICOS
HISTOPATOLÓGICOS DE 304 BIOPSIAS INTESTINAIS
FELINAS E AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE CD3 E
KI67 NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL E NO
LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU**

Verônica Maria Teixeira de Castro Terrabuio

Médica Veterinária

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE RETROSPECTIVA DOS DIAGNÓSTICOS
HISTOPATOLÓGICOS DE 304 BIOPSIAS INTESTINAIS
FELINAS E AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE CD3 E
KI67 NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL E NO
LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU**

Verônica Maria Teixeira de Castro Terrabuio

Orientador: Prof. Dr. Andrigo Barboza de Nardi

Coorientador: Dr. Paulo Cesar Jark

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

FICHA CATALOGRÁFICA

T323a

Terrabuio, Verônica M T Castro

Análise retrospectiva dos diagnósticos histopatológicos de 304 biopsias intestinais felinas e avaliação da imunoeexpressão de cd3 e ki67 na doença inflamatória intestinal e no linfoma intestinal de baixo grau / Verônica M T Castro Terrabuio. -- Jaboticabal, 2023

113 f. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Andriago Barboza de Nardi

Coorientador: Paulo Cesar Jark

1. Oncologia Veterinária. 2. Imuno-histoquímica. 3. Gastroenterologia veterinária. 4. Linfoma. 5. Patologia Veterinária. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESSA PESQUISA

O felino doméstico vem ganhando cada vez mais espaço nos lares brasileiros, dados publicados pelo Censo Pet IPB (2022), apontam que a população de gatos em lares domésticos no país subiu de 25,6 milhões (2020) para 27,1 milhões de indivíduos em 2021 (SOLLITTO; 2022) com estimativa de contínuo crescimento médio anual. As enteropatias crônicas felinas, são doenças extremamente comuns, especialmente no gato de meia-idade a idoso, nesse caso a diferenciação entre uma doença de caráter inflamatório e tumoral pode ser difícil, pois elas apresentam sinais clínicos e achados laboratoriais muito similares. No entanto, essa diferenciação é fundamental, já que o tratamento e o desfecho esperado muda de acordo com o diagnóstico. Essa pesquisa visa contribuir, com o estabelecimento de métodos de diagnóstico que permitam a identificação mais precoce dessas afecções, bem como, para estabelecer ferramentas adicionais que auxiliem na diferenciação dessas doenças tão prevalentes. O objetivo de identificar métodos de diagnóstico mais acurados, por fim consiste na promoção de maior qualidade e prolongamento da sobrevida desses animais, para que desfrutem por mais tempo na companhia de suas famílias.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The domestic feline has been gaining more and more space in Brazilian homes, data published by the Censo Pet IPB (2022), indicate that the population of cats in domestic homes in the country rose from 25.6 million (2020) to 27.1 million individuals in 2021 (SOLLITTO; 2022) with an estimate of continuous average annual growth. Feline chronic enteropathies are extremely common diseases, especially in middle-aged to elderly cats, in which case the differentiation between an inflammatory and a tumoral disease can be difficult, as they present very similar clinical signs and laboratory findings. However, this differentiation is fundamental, since the treatment and the expected outcome change according to the diagnosis. This research aims to contribute with the establishment of diagnostic methods that allow the earlier identification of these conditions, as well as to establish additional tools that help in the differentiation of these prevalent diseases. The objective of identifying more accurate diagnostic methods, ultimately, consists of promoting higher quality and prolonging the survival of these animals, so that they enjoy longer in the company of their families.

unesp

Challenges to Individualism



qonlbr

ACQUISITION MANAGEMENT PRACTICES
 During the past year, the following practices were used to acquire new business:

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Verônica Maria Teixeira de Castro Terrabuio – Nascida em Jacareí-SP, Brasil em 19 de maio de 1992. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes/ RJ (2011 – 2016). Concluiu programa de aprimoramento profissional em Clínica Médica de Pequenos Animais na Unesp Câmpus de Jaboticabal (2017-2019). Realizou estágio de residência nas áreas de Neurologia de Cães e Gatos, na Unesp Campus de Botucatu-SP (2017), Emergências e Terapia Intensiva na UTIVET em Ribeirão Preto-SP, Nefrologia e Urologia de Pequenos Animais e Oncologia veterinária na UFMG em Belo Horizonte-MG (2018) e Clínica Médica em Pequenos Animais na USP de São Paulo-SP (2019). Concluiu o II Curso de Aperfeiçoamento em Oncologia Clínica de Cães e Gatos (2020-2022). Atualmente é mestranda pelo programa de Cirurgia Veterinária, com ênfase em Oncologia Veterinária, na Unesp Campus de Jaboticabal. Docente de módulos em cursos de pós graduação com temas relacionados a área de Clínica Médica de Pequenos Animais.

EPÍGRAFE

*I've loved, I've laughed, and cried,
I've had my fill, my share of losing.
And now, as tears subside,
I find it all so amusing
to think I did all that,
And may I say, not in a shy way.
Oh no, oh no, not me
I did it my way "*
(Frank Sinatra)

AGRADECIMENTOS

Os passos que percorri até a conclusão do mestrado foram muito valiosos para minha formação pessoal e profissional, foi muito além da aquisição de apenas um título, ou conhecimentos técnicos relacionados ao tema da pesquisa, aprendi tanto sobre mim mesma nessa trajetória. Aprendi sobre como silenciar um pouco as vozes da autocrítica excessiva, sobre resiliência, vulnerabilidade e autocompaixão.

Foram muitas pessoas envolvidas que me ajudaram a conquistar esses aprendizados e me ajudaram de diferentes maneiras. Tenho muita gratidão a Deus, pela existência de todas elas, mas por questões de espaço dedicarei essas linhas a apenas algumas delas, que representam um todo maior.

Agradeço à minha família, por sempre confiarem em mim, pelo incentivo, e por sempre apoiarem as minhas decisões. Agradeço ao meu companheiro de vida, Caio, por todo companheirismo, amizade, colo e apoio incondicional, você esteve comigo desde o dia que tomei a decisão de prestar o mestrado, até o dia em que o sonho se concretizou.

Agradeço a minha grande amiga Natália Martins, seu apoio, amizade e empatia me sustentaram nos dias mais desafiadores dessa trajetória, você me trouxe força e motivação. Obrigada minha amiga!

Agradeço a minha grande amiga e profissional maravilhosa Rafaela Bortolotti, que se dispôs a me ajudar em diversos momentos dessa trajetória, sempre muito incentivadora e solícita. Obrigada de todo coração.

Agradeço ao João Fornasieri, meu amado terapeuta, agente promotor ativo de tantos avanços na minha jornada de autoconhecimento. Você é brilhante e foi fundamental nessa fase.

Agradeço ao laboratório VETPAT, na figura do incrível patologista Felipe Sueiro, que desde o princípio foi muito generoso em suas contribuições para o desenvolvimento dessa pesquisa, obrigada por tudo. Agradeço também ao Frederico Lobão, patologista gabaritado, que se propôs a me auxiliar com as leituras imunoistoquímicas.

Agradeço à Professora Annelise Carla Camplesi dos Santos, por todas as contribuições tanto na banca de qualificação quanto na de defesa, e sobretudo, por ser um exemplo de profissionalismo.

Agradeço à Professora Josiane Moraes Pazzini pelo aceite para participar da banca de defesa e por todas as suas relevantes considerações e contribuições à essa pesquisa.

Agradeço imensamente aos meus orientadores Andrigo Barboza de Nardi e Paulo Cesar Jark, pela oportunidade e confiança, vocês são profissionais que admiro muito, e tenho muito orgulho de ter sido orientada por vocês.

Gratidão pelos queridos funcionários da FCAV e do Hospital Veterinário, aos professores e pós-graduandos de todas as especialidades que tive a oportunidade de conviver, com um agradecimento especial a todos os membros do serviço de Oncologia Veterinária (SOV).

Por fim, agradeço ao Hospital Veterinário Governador Laudo Natel e a Unesp de Jaboticabal, essa cidade e tudo que ela me proporcionou estarão para sempre em meu coração.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA	3
LISTA DE TABELAS	6
LISTA DE GRÁFICOS	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA	11
1.1 INTRODUÇÃO	11
1.2 TIPOS DE ENTEROPATIAS CRÔNICAS FELINAS	13
1.3 ENTERITE LINFOPLASMOCITÁRIA	15
1.4 LINFOMA GASTROINTESTINAL FELINO.....	20
1.5 LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU (LIBG)	22
1.6 DIFERENCIAÇÃO DE DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL LINFOPLASMOCITÁRIA E LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU.....	24
1.6.1 Obtenção de biópsias intestinais	24
1.6.2 Avaliação histopatológica.....	26
1.6.3 Avaliação imunoistoquímica.....	28
1.6.4 Testes de clonalidade	29
1.7 REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 2 – ESTUDO RETROSPECTIVO DOS DIAGNÓSTICOS HISTOPATOLÓGICOS DE 304 BIÓPSIAS INTESTINAIS FELINAS	38
2.1 INTRODUÇÃO	38
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
2.2.1 Análise estatística	42
2.3 RESULTADOS.....	42
2.3.1 Dados da população	42
2.3.3 Métodos de obtenção de biópsias	47
2.3.4 Análise comparativa entre neoplásicos x não neoplásicos x borderlines	48
2.4.4 Idades - Média e desvio padrão de cada diagnóstico histológico	49
2.4.5 Distribuição de raças de acordo com o diagnóstico	51
2.4 DISCUSSÃO	52
2.5 CONCLUSÕES	60
2.6 REFERÊNCIAS.....	62
CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE CD3 E KI67 NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL LINFOPLASMOCITÁRIA E NO LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU T EM FELINOS	68

3.1	INTRODUÇÃO	68
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	70
3.2.1	Seleção de amostras	70
3.2.2	Técnica de imunoistoquímica.....	71
3.2.3	Avaliação imunoistoquímica.....	72
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
3.4	RESULTADOS	73
3.4.1	Dados epidemiológicos da população do grupo DII diagnosticado por histopatologia	73
3.4.2	Dados epidemiológicos da população do grupo LIB	75
3.4.3	Análise imunoistoquímica de CD3 no grupo DII e LIBG.....	76
3.4.4	Dados epidemiológicos do grupo DII após diagnóstico final da IHQ	77
3.4.6	Imunomarcacão de Ki67 (epitélio e lâmina) no grupo DII	79
3.5.5	Imunomarcacão de Ki67 (epitélio e lâmina) no grupo de pacientes que tiveram diagnóstico realocado após IHQ.....	81
3.5.6	Imunomarcacão de Ki67 (epitélio e lâmina) no grupo LIBG-T	83
3.5.6	Análise geral – DII x LIBG-T	86
3.5	DISCUSSÃO	88
3.6	CONCLUSÕES	96
	CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	102

CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



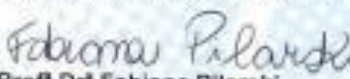
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Caracterização das principais enteropatias crônicas em felinos e aplicação da imunoistoquímica na diferenciação da doença inflamatória intestinal e linfoma intestinal**", protocolo nº 015737/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 18 de dezembro de 2019.

Vigência do Projeto	01/01/2020 a 01/08/2021
Espécie / Linhagem	Não se aplica
Nº de animais	Não se aplica
Peso / Idade	Não se aplica
Sexo	Não se aplica
Origem	Não se aplica

Jaboticabal, 18 de dezembro de 2019.


Profª Drª Fabiana Pilarski
 Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via do Acaço Prof. Paulo Donato Castellani, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209-7100 - www.fcav.unesp.br

ANÁLISE RETROSPECTIVA DOS DIAGNÓSTICOS HISTOPATOLÓGICOS DE 304 BIÓPSIAS INTESTINAIS FELINAS E AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE CD3 E KI67 NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL E NO LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU

RESUMO - As enteropatias crônicas felinas são um conjunto de distúrbios de grande importância para a gastroenterologia felina, e dentre as afecções mais comumente diagnosticadas figuram a doença inflamatória intestinal (DII) linfoplasmocitária e o linfoma intestinal de baixo grau T (LIBG-T). Ambas as afecções, apesar de possuírem tratamentos e prognósticos distintos, possuem muitas similaridades no âmbito clínico e histomorfológico, tornando sua diferenciação um grande desafio diagnóstico. O objetivo do presente estudo foi caracterizar as principais enteropatias crônicas felinas por meio da avaliação retrospectiva dos diagnósticos histopatológicos de 304 amostras de biópsias intestinais. As lesões foram segregadas de acordo com sua origem em neoplásicas, não neoplásicas e borderlines. Foram analisados e comparados dados de resenha como raça, idade, sexo e o método de obtenção das biópsias. O diagnóstico mais prevalente foi o de DII linfoplasmocitária representando 42,76%(n=130) das amostras, seguido pelos linfomas intestinais que representaram 20,73% (n=63), o linfoma de baixo grau representou 10,53%(n=32) das amostras, enquanto o de alto grau representou 10,2% (n=31). Na sequência, o carcinoma intestinal prevaleceu em 11,84% (n=36) dos casos, em 5,26% (n=16) dos casos, os resultados foram ambíguos e a histopatologia isoladamente não foi capaz de diferenciar DII e LIBG. Os pacientes com lesões neoplásicas apresentaram média de idade (10,4 anos) significativamente superior em relação ao grupo de pacientes com lesões não neoplásicas (6,6 anos). A segunda parte dessa pesquisa, se dedicou a comparar os resultados histológicos e imunoistoquímicos obtidos de pacientes com DII linfoplasmocitária e LIBG-T, para tal, cada grupo foi constituído por 25 amostras. Após a imunoistoquímica, 32% (n=8) dos casos mudaram o diagnóstico, de DII linfoplasmocitária para LIBG-T. Todos os pacientes que foram diagnosticados com LIBG-T pela histologia permaneceram com o mesmo diagnóstico após a IHQ. Os pacientes do grupo LIBG-T tiveram uma média de idade (11,9 anos) significativamente superior em relação ao grupo DII linfoplasmocitária (5,5 anos), os felinos sem raça definida prevaleceram e não foi verificada uma predisposição sexual em ambos os grupos. A concordância entre os resultados obtidos pela histopatologia e IHQ foi de 68%. As médias de imunomarcagem de Ki67, que representam o índice de proliferação, foram substancialmente superiores no grupo LIBG-T em relação ao grupo DII linfoplasmocitária, tanto em epitélio quanto em lâmina própria. Verificou-se que o índice de proliferação pode ser empregado como uma ferramenta complementar para auxiliar na diferenciação de distúrbios inflamatórios ou neoplásicos que acometem o trato gastrointestinal felino.

Palavras-chave: Enterite linfoplasmocitária, imunoistoquímica, endoscopia, índice de proliferação, histopatologia.

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF HISTOPATHOLOGICAL DIAGNOSES OF 304 FELINE INTESTINAL BIOPSES AND EVALUATION OF IMMUNOEXPRESSION OF CD3 AND KI67 IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE AND LOW-GRADE INTESTINAL LYMPHOMA

ABSTRACT – Feline chronic enteropathies are a set of disorders of great importance for feline gastroenterology, and among the most diagnosed conditions are lymphoplasmacytic inflammatory bowel disease (IBD) and low-grade intestinal lymphoma T (LIBG-T). Both conditions, despite having different treatments and prognoses, have many similarities in the clinical and histomorphological scope, making their differentiation a major diagnostic challenge. The objective of the present study was to characterize the main feline chronic enteropathies through the retrospective evaluation of the histopathological diagnoses of 304 intestinal biopsy samples. Lesions were segregated according to their origin into neoplastic, non-neoplastic and borderline. Review data such as race, age, sex, and method of obtaining biopsies were analyzed and compared. The most prevalent diagnosis was lymphoplasmacytic IBD representing 42.76% (n=130) of the samples, followed by intestinal lymphomas which represented 20.73% (n=63), low-grade lymphoma represented 10.53% (n =32) of the samples, while the high grade represented 10.2% (n=31). Subsequently, intestinal carcinoma prevailed in 11.84% (n=36) of the cases, in 5.26% (n=16) of the cases, the results were ambiguous, and histopathology alone was unable to differentiate IBD and LIBG. Patients with neoplastic lesions had a mean age (10.4 years) significantly higher than the group of patients with non-neoplastic lesions (6.6 years). The second part of this research was dedicated to comparing the histological and immunohistochemical results obtained from patients with lymphoplasmacytic IBD and T-LIBG, for this purpose, each group consisted of 25 samples. After immunohistochemistry, 32% (n=8) of the cases changed the diagnosis, from lymphoplasmacytic IBD to T-LIBG. All patients who were diagnosed with T-LIBG by histology remained with the same diagnosis after IHC. Patients in the LIBG-T group had a significantly higher mean age (11.9 years) than the lymphoplasmacytic IBD group (5.5 years), mixed-breed cats prevailed, and no sexual predisposition was found in both groups. The agreement between the results obtained by histopathology and IHC was 68%. Ki67 immunostaining averages, which represent the proliferation index, were substantially higher in the LIBG-T group than in the lymphoplasmacytic IBD group, both in the epithelium and in the lamina propria. It was found that the proliferation index can be used as a complementary tool to help differentiate inflammatory or neoplastic disorders that affect the feline gastrointestinal tract.

Keywords: Lymphoplasmacytic enteritis, immunohistochemistry, endoscopy, proliferation index, histopathology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Distribuição das amostras de biopsias intestinais felinas de acordo com o estado de origem.....	43
Tabela 2 - Distribuição de sexo dos pacientes felinos submetidos a biopsias intestinais	43
Tabela 3 - Distribuição das raças dos pacientes felinos submetidos a coleta de biopsias intestinais.	44
Tabela 4 – Distribuição das lesões de acordo com origem inflamatória ou neoplásica, provenientes de 304 amostras intestinais felinas.	45
Tabela 5 - Distribuição dos diagnósticos histológicos obtidos das 304 amostras de biopsias intestinais felinas.	47
Tabela 6 – Métodos de obtenção de amostras intestinais de 304 pacientes felinos.	48
Tabela 7 - Especificações dos anticorpos, diluições e tipo de recuperação antigênica empregados nos procedimentos de imunoistoquímica em casos de linfoma felino.	71
Tabela 8 – Distribuição sexual dos pacientes felinos alocados no Grupo A (Doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária) pela histopatologia.	73
Tabela 9 – Distribuição dos segmentos intestinais dos pacientes felinos alocados no Grupo A (Doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária) pela histopatologia.	74
Tabela 10 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do Grupo A (Doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária) pela histopatologia.	74
Tabela 11 – Distribuição sexual dos pacientes felinos alocados no Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau) pela histopatologia.	75
Tabela 12 – Distribuição racial dos pacientes felinos alocados no Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau) pela histopatologia.	75
Tabela 13 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau).	76
Tabela 14 – Distribuição da imunomarcagem de CD3 em amostras intestinais felinas alocadas no grupo A (Doença inflamatória intestinal) pela histopatologia.	76
Tabela 15 – Distribuição sexual dos pacientes felinos alocados no grupo doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária após IHQ.	77
Tabela 16 – Distribuição racial dos pacientes felinos alocados no grupo Doença	

inflamatória intestinal após IHQ.....	78
Tabela 17 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do grupo doença inflamatória intestinal após IHQ.....	78
Tabela 18 – Distribuição sexual dos pacientes felinos alocados no grupo linfoma intestinal de baixo grau após IHQ.	79
Tabela 19 – Distribuição racial dos pacientes felinos alocados no grupo Linfoma intestinal de baixo grau após IHQ.	79
Tabela 20 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do grupo doença inflamatória intestinal após IHQ.....	79
Tabela 21 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do grupo doença inflamatória intestinal após IHQ.....	80
Tabela 22 – Distribuição da imunomarcacão de Ki67 localizada em lâmina própria de amostras intestinais felinas alocadas no grupo doença inflamatória intestinal.....	81
Tabela 23 – Distribuição da imunomarcacão de Ki67 localizada em epitélio de amostras intestinais felinas que tiveram o diagnóstico realocado após IHQ.	82
Tabela 24 – Distribuição da imunomarcacão de Ki67 localizada em lâmina própria de amostras intestinais felinas que tiveram o diagnóstico realocado após IHQ.....	83
Tabela 25 – Distribuição da imunomarcacão de Ki67 localizada em epitélio de amostras intestinais felinas alocadas no grupo linfoma intestinal de baixo grau T....	84
Tabela 26 – Distribuição da imunomarcacão de Ki67 localizada em lâmina própria de amostras intestinais felinas alocadas no grupo Linfoma intestinal de baixo grau.	86

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1– Representação gráfica da média e desvio padrão da idade dos pacientes submetidos a biopsias intestinais felinas.....	45
Gráfico 2 – Média e desvio padrão de idade dos pacientes felinos de acordo com a classificação em neoplásicos, não neoplásicos e borderlines.....	48
Gráfico 3 – Distribuição da idade (média e desvio) de acordo com cada diagnóstico histológico oriundo de amostras intestinais felinas.....	50
Gráfico 4 - Comparação das médias de idade dos pacientes felinos alocados no Grupo A (Doença inflamatória intestinal) x Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau)	87
Gráfico 5 – Média dos valores percentuais de imunomarcacão de Ki67 em epitélio e lâmina própria dos pacientes alocados no Grupo A (Doença inflamatória intestinal) x Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau)	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- A) Fotomicrografia no aumento de 20x de amostra intestinal felina submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo CD3 evidenciando imunomarcção intensa, compatível com o diagnóstico de linfoma intestinal de baixo grau T. B) Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina, demonstrando forte expressão de CD3.....	77
Figura 2 - Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina, alocada no grupo A, submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1 evidenciando 5% de expressão de Ki67 em epitélio.	80
Figura 3 - Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina, previamente alocada no grupo A (DII), submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1 evidenciando 40% de marcação de Ki67 em epitélio, com novo diagnóstico de LIBG após IHQ.....	82
Figura 4 - Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina, alocada no grupo A, submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1 evidenciando 20% de imunomarcção de Ki67 em epitélio e 30% em lâmina própria.	83
Figura 5- Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1, evidenciando imunomarcção de 30% de Ki67 em lâmina própria.	85
Figura 6 - Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1, evidenciando imunomarcção de 5% de Ki67 em lâmina própria.	85

LISTA DE ABREVIATURAS

CGA	Campos de grande aumento
CAAF	Citologia aspiraiva por agulha fina
DRC	Doença renal crônica
EATL	Linfoma de células T associados à enteropatia
ECC	Escore de condição corporal
ELP	Enterite linfoplasmocitária
ERA	Enteropatia responsiva a esteróides
ERA	Enteropatia responsiva ao alimento
FEEF	Fibroplasia esclerosante eosinofílica felina
FELV	Vírus da Leucemia viral felina
FIV	Vírus da imunodeficiência felina
GIST	Tumor gastrointestinal estromal
IHQ	Imunoistoquímica
ITCL, NOS	Linfoma intestinal de células T não especificado
TLPD	Distúrbio linfoproliferativo indolente de células T do TGI
LIAG	Linfoma intestinal de alto grau
LIBG	Linfoma intestinal de baixo grau
LIBG-T	Linfoma intestinal de baixo grau
MEITL	Linfoma intestinal de células T epiteliotrópico monofórmico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAAR	Rearranjos gênicos do receptor de antígeno
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PIF	Peritonite infecciosa felina
TGI	Trato gastrointestinal
WHO	World Health Organizations
WSAVA	Associação mundial de pequenos animais

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1.1 INTRODUÇÃO

Os gatos são animais afetuosos que vêm ganhando notoriedade e espaço nos lares ao redor do mundo. Nos EUA, Canadá e Norte Europeu, o gato doméstico já é o animal de maior presença e popularidade (Rodan, 2016).

No Brasil, dados do Censo Pet, realizado pelo Instituto Pet Brasil demonstram que apesar da população canina ainda ser superior, são 58,1 milhões de cães contra 27,1 milhões de gatos, entre 2020 e 2021, a população de felinos aumentou mais que a de cães, o aumento da população felina foi de 6%, em relação a população canina que cresceu apenas 4% no mesmo período.

Esses dados atuais, em parte explicam o crescimento e a evolução da medicina felina, no que concerne às ferramentas diagnósticas e terapêuticas e na promoção de saúde e bem-estar. Dentro desse contexto, o estudo das enteropatias crônicas ganha destaque, já que correspondem ao distúrbio gastrointestinal mais comumente diagnosticado na espécie felina, principalmente em pacientes idosos (Marsílio, 2019).

O termo enteropatia crônica é um termo genérico que engloba diversas doenças, com destaque para duas afecções, o linfoma intestinal de pequenas células ou também nomeado como linfoma intestinal de baixogrado (LIBG), e a doença inflamatória intestinal (DII), sendo que ambas as doenças ganharam destaque na última década, devido ao crescente número de pacientes diagnosticados (Marsílio, 2021).

O principal tipo de DII que acomete os felinos é a chamada enterite linfoplasmocitária (ELP), que consiste na infiltração de pequenos linfócitos maduros e plasmócitos na lâmina própria, e por vezes, em

epitélio intestinal.

Essa característica torna a diferenciação entre a ELP e o LIBG desafiadora, já que histologicamente, o LIBG também se caracteriza como a infiltração de pequenos linfócitos na lâmina própria, podendo haver comprometimento de epitélio e mucosa (Day et al., 2008, Washabau et al., 2010).

Os gatos com DII tendem a ser ligeiramente mais jovens, com mediana de idade de 8 anos (Waly et al., 2004; Janeczko et al., 2008; Jergens et al., 2010; Marsílio et al., 2019) enquanto os gatos com linfoma intestinal tendem a apresentar idade superior ao diagnóstico, com mediana de 12,5 anos (Kiselow et al., 2008; Lingard et al., 2009; Stein et al., 2010), no entanto, as faixas etárias tendem a se sobrepor em ambas as afecções (Marsílio, 2021).

Clinicamente, DII e LIBG induzem manifestações gastrointestinais inespecíficas e crônicas, como episódios eméticos, inapetência, emagrecimento progressivo com ou sem a presença de diarreia concomitante (Waly et al., 2005; Burke et al., 2013; Norsworthy et al., 2015).

O exame físico tende a revelar anormalidades similares em ambas as doenças, como baixo escore de condição corporal, sarcopenia, espessamento de alças intestinais e eventualmente desconforto abdominal (Lingard et al., 2009; Jergens, 2012). Além disso, exames complementares, tanto hematológicos quanto os de imagem, também apresentam achados inespecíficos e que não permitem a definitiva diferenciação entre ambos os distúrbios (Marsílio, 2021).

Nesse contexto, a busca por ferramentas diagnósticas mais assertivas para diferenciar essas patologias são contínuas, haja vista, que elas possuem opções terapêuticas e fatores prognósticos distintos entre si (Marsílio, 2021).

O diagnóstico definitivo, obrigatoriamente passa pela realização de biopsias intestinais com posterior análise histopatológica, porém pacientes com LIBG também podem apresentar um forte componente inflamatório,

además, a possibilidade de progressão de DII para LIBG, torna essa diferenciação desafiadora também para o patologista (Kiupel et al., 2011; Moore et al., 2012).

A avaliação imunoistoquímica é uma ferramenta útil para auxiliar na definição diagnóstica, especialmente em casos histopatologicamente inconclusivos. Em humanos, mais de 85% dos casos de linfoma intestinal são de linfócitos B (Matnani et al., 2017), em contraste com o que ocorre em felinos, nos quais o linfoma intestinal predominante é o de linfócito T (Carreras et al., 2003; Paulin et al., 2018; Freiche et al., 2021b).

O Ki67 é um marcador de proliferação celular, sendo comumente utilizado como fator prognóstico em diversas neoplasias, em humanos (Yerushalmi et al., 2010; Dowsett et al., 2011) cães (Broyde et al., 2009; Rout et al., 2022) e gatos (Fu et al., 2016; Soares et al., 2016).

Estudos recentes têm documentado o emprego do Ki67 para identificar a atividade proliferativa em epitélio e lâmina própria e auxiliar na diferenciação entre DII e LIBG (Freiche et al., 2021a; Freiche et al., 2021b).

De forma que, o objetivo do presente estudo é 1) apresentar dados epidemiológicos de uma coorte de gatos submetidos à biopsia intestinal devido quadro de enteropatia crônica e 2) avaliar a imunoexpressão de CD3 e Ki67 em amostras de pacientes com diagnóstico histopatológico de DII e LIBG, com a finalidade de identificar e comparar os padrões de imunomarcagem de Ki67, em lâmina própria e epitélio, a fim de avaliar a contribuição dessa ferramenta diagnóstica adicional para a diferenciação entre ambos os distúrbios.

1.2 TIPOS DE ENTEROPATIAS CRÔNICAS FELINAS

As chamadas enteropatias crônicas felinas, representam um grupo de patologias que se caracterizam pela ocorrência de sinais gastrointestinais inespecíficos como vômito, anorexia ou hiporexia, diarreia e emagrecimento progressivo (Marsílio, 2021a).

O termo “crônico” refere-se aos quadros que ocorrem com evolução

superior a 3 semanas, mesmo que de forma intermitente; na ausência de doença extra intestinal obstrutiva, neoplásica ou infecciosa (Jergens, 2003; Marsílio, 2021a).

Dentre as patologias classificadas dentro do grupo das enteropatias crônicas, ganham destaque a enteropatia responsiva ao alimento (ERA), enteropatia responsiva a esteroides (ERE) que é um termo atual que corresponde à DII, e o LIBG (Marsílio, 2021a).

A fisiopatogenia das enteropatias crônicas ainda não está bem estabelecida, mas há suspeita de uma complexa interação entre quatro fatores principais: susceptibilidade genética, ambiente, resposta imunológica alterada e composição anormal do microbioma intestinal (Kathrani et al., 2022).

O diagnóstico definitivo das enteropatias crônicas felinas requer uma abordagem sequencial ou conjunta, com uso de drogas anti-parasitárias, alterações dietéticas, uso de antimicrobianos, e por fim, através da coleta de biopsias intestinais para análise histopatológica, há que se considerar que o diagnóstico de enteropatia crônica é considerado um diagnóstico de exclusão (Guilford et al., 2001; Jergens, 2012).

Alguns pacientes respondem com melhora total dos sinais clínicos após o passo inicial da triagem diagnóstica das enteropatias crônicas, que corresponde a troca da dieta de manutenção por uma dieta com fonte de proteína hidrolisada, ou uma nova fonte proteica a qual o paciente não foi anteriormente exposto, excluindo as causas parasitárias (Kathrani et al., 2022).

Quando isso ocorre, o diagnóstico é de ERA, que corresponde a uma parcela significativa dos casos de enteropatia crônica. Os achados clínicos, laboratoriais, lesões intestinais macro e microscópicas não conseguem diferenciar a ERA da DII, para tal finalidade, ensaio terapêutico dietético deve ser realizado em todos os casos, antes da introdução de imunossuppressores esteróides (Kathrani et al., 2022).

Em cães é bem caracterizada um outro subtipo de enteropatia crônica que é a enteropatia responsiva à antibióticos, essa entidade não é

bem reconhecida na espécie felina, apesar disso, muitos autores recomendam a utilização de teste terapêutico com antimicrobianos antes da coleta de biopsias intestinais e após um teste dietético não bem-sucedido (Jergens, 2012).

Outras enteropatias crônicas como a chamada ERE, termo sinônimo de DII, e os linfomas gastrointestinais serão discutidos em tópicos isolados a seguir, já que eles compartilham características clínico-patológicas relevantes, havendo necessidade do auxílio de ferramentas complementares para diferenciação entre ambos.

1.3 ENTERITE LINFOPLASMOCITÁRIA

A chamada enterite linfoplasmocitária (ELP), também conhecida DII ou recentemente nomeada como ERE, engloba um grupo de doenças que o afetam o trato gastrointestinal (TGI), possuem caráter idiopático, e são caracterizadas pela presença de infiltrado inflamatório intestinal (Jergens, 1999; Jergens, 2012; Ettinger et al., 2017; Marsílio, 2021a).

A etiologia da DII não é completamente elucidada, suspeita-se de alterações na complexa interação entre fatores imunológicos, ambiente e microbioma intestinal do hospedeiro (Kathrani et al., 2022), que resultam em maior predisposição ao desenvolvimento de inflamação intestinal crônica. O trato intestinal e seu tecido linfoide associado, são considerados o maior órgão linfoide conhecido, havendo uma íntima relação entre o sistema imunológico e o trato intestinal (Brucklacher-Waldert et al., 2014).

O chamado microbioma é representado pelo conjunto de microorganismos vivos que residem o trato intestinal, incluindo a presença de numerosas bactérias, fungos, protozoários e vírus (Kathrani et al., 2022).

Diversos estudos têm associado adisbiose, que é o desequilíbrio na composição ou abundância desses agentes, ao desenvolvimento de distúrbios gastrointestinais, embora o mecanismo não seja completamente elucidado, ainda se desconhece se a disbiose é uma

causa, uma consequência, ou ambas, da presença das enteropatias crônicas (Suchodolski, 2016; Marsílio, 2019).

Em humanos e cães, uma falha genética do sistema imunológico em distinguir bactérias comensais e bactérias patogênicas, parece impactar a patogênese da DII linfoplasmocitária, em felinos esse mecanismo não está completamente elucidado, mas o desequilíbrio do microbioma intestinal, aparentemente se associa com diversos eventos, incluindo a produção citocinas que predisõem ao desenvolvimento de inflamação crônica (Janeczko et al., 2008).

Além dos fatores genéticos que podem afetar indivíduos susceptíveis, os fatores ambientais como exposição a antígenos presentes no alimento, exposição a patógenos que afetem o TGI, e uso fármacos como anti-inflamatórios e principalmente antibióticos que podem gerar disbiose, também parecem contribuir com a patogênese da DII felina, à medida que podem agir como fator desencadeador ou reativador de um processo inflamatório crônico (Suchodolski et al., 2008; Jergens, 2012).

Aparentemente, uma exacerbada resposta imunológica dos linfócitos T contra patógenos, tanto bacterianos quanto fúngicos, em pacientes com defeitos na função de barreira, os torna mais susceptíveis (Suchodolski et al., 2008).

Os pacientes felinos mais susceptíveis ao desenvolvimento da DII são os pacientes de meia-idade a idosos, embora pacientes jovens também possam ser afetados (Jergens et al., 2010). Gatos de todas as raças podem ser acometidos, embora os siameses e outras raças asiáticas pareçam super-representadas em alguns estudos (Guilford et al., 1996; Jergens, 2012).

Os felinos afetados pela DII costumam exibir sinais inespecíficos relacionados ao TGI, que variam de acordo com a localização das lesões, os sinais mais comuns envolvem a presença de vômito, emagrecimento progressivo e redução do apetite, que podem se manifestar de forma intermitente ou progressiva (Jergens, 2012).

O intestino delgado é o sítio mais comumente afetado (Moore et al., 2012; Paulin et al., 2018), diarreia volumosa com ou sem a presença de melena podem ocorrer, enquanto a diarreia de intestino grosso que geralmente se manifesta com urgência em defecar, hematoquesia, presença de muco e disquesia, ocorre com menor frequência. A doença difusa do TGI, pode gerar sinais compatíveis com alterações concomitantes de intestino delgado e grosso (Jergens, 2012).

Clinicamente, a DII tende a apresentar-se com um caráter cíclico, de forma que agudizações periódicas são frequentes. A identificação dos fatores desencadeantes das crises pode não ser facilmente reconhecido, mas fatores como indiscrição alimentar, uso de medicações, ou exposição a enteropatógenos podem estar envolvidos (Jergens, 1999; Jergens, 2012).

O diagnóstico de DII é considerado um diagnóstico de exclusão (Barrs e Beatty, 2012), ou seja, devido aos sinais clínicos inespecíficos e compatíveis com diversos outros diagnósticos diferenciais, a realização de exames complementares de maneira sistemática, se torna mandatória.

Os exames hematológicos devem incluir a realização de hemograma, perfil renal, hepático, mensuração das proteínas séricas, urinálise e dosagem sérica de T4 total, com intuito de avaliar a saúde geral e identificar possíveis comorbidades (Evans et al., 2006), como a doença renal crônica (DRC), doença hepática, pancreatite e o hipertireoidismo, que também podem cursar com a manifestação de sinais gastrointestinais crônicos (Khare et al., 2018).

Exames coproparasitológicos e/ou a realização de ensaio terapêutico com o uso de antiparasitários são indicados em todos os pacientes com diarreia crônica, para descartar a presença de patógenos que possam ser os responsáveis pelo desencadeamento dos sinais clínicos (Evans et al., 2006). Essa etapa é muito importante na triagem diagnóstica de pacientes felinos com suspeita de DII (Marsílio, 2021).

A realização de exames de imagem, como as radiografias abdominais podem ser realizados, com o intuito de descartar outras

possibilidades diagnósticas como a presença de corpo estranho ou processos obstrutivos intestinais, entretanto, o exame radiográfico é menos elucidativo diante da suspeita de DII (Adams et al., 2010).

O exame ultrassonográfico, em contrapartida, é sempre indicado, por ser uma ferramenta útil na identificação de lesões isoladas ou concomitantes, em focos extra intestinais como o fígado, pâncreas e a vesícula biliar, e em focos intestinais propriamente ditos (Daniaux et al., 2014).

Nos pacientes felinos com suspeita de DII, a realização de ultrassonografia com um profissional experiente é indicada, isso porque esse método diagnóstico é operador dependente. A avaliação abdominal completa deve ser realizada, com foco na mensuração do espessamento de todos os segmentos intestinais, avaliação da estratificação das camadas intestinais e a identificação de linfonodomegalia mesentérica (Zwingenberger et al., 2010).

As inflamações de trato gastrointestinal frequentemente desencadeiam espessamentos de parede intestinal, focais ou difusos, embora um exame ultrassonográfico sem anormalidades não seja suficiente para descartar uma suspeita de doença inflamatória, assim como um exame com alterações de espessamento não é suficiente para confirmar tal suspeita (Terragni et al., 2016).

O achado ultrassonográfico de perda da estratificação em camadas do intestino é mais consistente com a presença de neoplasia, porém, embora seja considerado raro, inflamações muito severas também podem cursar com a perda de definição das camadas intestinais (Griffin, 2019).

O espessamento da camada muscular do intestino delgado, sem perda da estratificação das camadas e na ausência de neoformações parece se relacionar especialmente com a infiltração inflamatória de eosinófilos em trato intestinal, e em menor proporção com as infiltrações linfoplasmocitárias e com o LIBG (Zwingenberger et al., 2010; Daniaux et al., 2014; Tucker et al., 2014).

Em um estudo, o espessamento difuso é situado apenas na

camada muscular, foi mais encontrado em felinos portadores de LIBG em relação a DII (Daniaux et al., 2014). Outros distúrbios patológicos como mastocitomas intestinais e histoplasmose intestinal são diagnósticos diferenciais para a presença de espessamento focal de camada muscular na ultrassonografia (Mavropoulou et al., 2010; Laurenson et al., 2011).

A reatividade e consequente aumento de linfonodos mesentéricos pode ocorrer tanto na DII quanto no LIBG, mas costuma ser mais proeminente nas condições neoplásicas em relação às inflamatórias (Evans et al., 2006), entretanto a ausência de linfadenopatia mesentérica, não descarta a possibilidade de LIBG.

A cobalamina (vitamina B12) é considerada como um cofator de diversas reações enzimáticas, sua deficiência tende a estar presente em pacientes que apresentem síndrome de má-absorção intestinal (Ruau, 2013). Em doenças que afetam o íleo, a redução das concentrações de cobalamina pode ocorrer devido a deficiências em sua absorção, enquanto a deficiência de folato tende a estar associada principalmente com doenças situadas em duodeno (Ruau et al., 2005).

Na DII, a hipocobalaminemia pode resultar na perpetuação dos sinais clínicos gastrointestinais, mesmo que o paciente já esteja recebendo terapia específica com imunossupressores, de forma que a identificação da baixa concentração de cobalamina e sua correção, é um passo importante para estabilização clínica (Ruau et al., 2005; Kook et al., 2012).

Apesar da citologia ser uma técnica amplamente empregada na oncologia veterinária, a sua adequação para os casos de enteropatias crônicas é baixa, exceto na presença de formações intestinais, nas quais a coleta de amostra citológica guiada por ultrassonografia pode ser uma ferramenta de triagem para auxiliar na identificação de linfomas de alto grau (Sabattini et al., 2016).

Entretanto, para as suspeitas de LIBG ou DII, nos quais a apresentação de massas intestinais não é comum, a análise citológica não

é vantajosa, por apresentar baixa sensibilidade para diferenciação entre ambos os distúrbios (Sabattini et al., 2016; Irving et al., 2019).

1.4 LINFOMA GASTROINTESTINAL FELINO

No que concerne a presença de massas intestinais em felinos, os linfomas são os tumores mais comumente diagnosticados na espécie, seguidos pelo adenocarcinoma e o mastocitoma intestinal (Rivers et al., 1997; Rissetto et al., 2011; Barrs & Beatty, 2012; Graf et al., 2016).

Em um estudo que avaliou 1129 amostras histológicas intestinais, o linfoma representou 55% dos casos diagnosticados, enquanto o adenocarcinoma correspondeu a 32%, e o mastocitoma intestinal foi identificado em apenas 4% das amostras (Rissetto et al., 2011).

Lesões benignas também podem estar entre as causas do desenvolvimento de formações gastrointestinais na espécie, dentre as formações benignas possíveis em TGI felino, destacam-se granulomas decorrentes da presença do vírus da peritonite infecciosa felina (PIF), pólipos em duodeno e fibroplasia esclerosante eosinofílica felina (FEEF) (MacDonald et al., 1993; Penninck et al., 2015).

A FEEF é uma condição inflamatória benigna que mimetiza uma neoplasia, costuma afetar especialmente gatos de meia-idade de qualquer raça, sendo que os ragdolls parecem ser mais frequentemente acometidos que outras raças felinas (Munday et al., 2014; Linton et al., 2015). É muito importante o clínico se atentar para os potenciais diagnósticos diferenciais diante da presença de massas intestinais felinas.

Falando especificamente do linfoma localizado em trato gastrointestinal, ele também é nomeado como linfoma alimentar, e é a forma anatômica mais comum de linfoma na espécie felina, seguida pelo linfoma mediastinal e multicêntrico (Louwerens et al., 2005; Norsworthy, 2018) e houve significativo aumento da sua incidência nos últimos 20 anos (Paulin et al., 2018).

Os gatos geriátricos são os mais afetados, a faixa etária mais acometida varia entre 10-13 anos. Gatos de qualquer raça ou sexo podem

ser diagnosticados (Louwerens et al., 2005; Stein et al., 2010; Barrs & Beatty, 2012; Norsworthy, 2018).

O linfoma gastrointestinal não é diretamente influenciado pela antigenicidade e posterior carcinogênese envolvida com a presença da infecção pelo vírus da leucemia felina (FELV), de forma que os gatos portadores de LIBG ou LIAG frequentemente são negativos para o FELV (Weiss et al., 2010; Meichner et al., 2012).

Em relação ao vírus da imunodeficiência felina (FIV) sabe-se que felinos positivos possuem até 5x mais chance de desenvolver linfomas. Porém, não há uma relação direta entre a presença do vírus e o desenvolvimento da forma gastrointestinal (Richter, 2003).

A infiltração neoplásica oriunda dos linfomas de trato gastrointestinal pode afetar o estômago, intestino delgado, intestino grosso, fígado e pâncreas, sendo o intestino delgado o sítio mais comumente envolvido, principalmente as áreas correspondentes ao jejuno e ao íleo (Moore et al., 2012; Paulin et al., 2018). O comprometimento concomitante dos linfonodos mesentéricos pode ou não estar presente (Gieger, 2011).

Em um estudo que avaliou 47 gatos com linfoma gastrointestinal de imunofenótipo T, 91% dos pacientes apresentavam acometimento do intestino delgado, 19% dos linfonodos mesentéricos, em 8,5% o estômago era o órgão acometido e em apenas 2% dos casos o intestino grosso estava afetado (Wolfesberger et al., 2018).

Os linfomas intestinais podem ocorrer na forma de espessamentos focais ou difusos, ou através da manifestação de massas intestinais únicas ou múltiplas. O LIBG comumente cursa com a presença de espessamentos intestinais, enquanto os linfomas de grandes células ou de células intermediárias, que são de alto grau se relacionam mais frequentemente com a formação de massas em trato gastrointestinal (Griffin et al., 2019).

Histologicamente, o linfoma felino pode ser classificado através do Sistema WHO (World Health Organizations) utilizado também na

classificação dos linfomas humanos e caninos (Washabau et al., 2010; Wolfesberger et al., 2018).

O linfoma de trato gastrointestinal felino pode ser classificado em alto ou baixo grau. O LIBG, também é nomeado de linfoma linfocítico ou linfoma intestinal de pequenas células, e se constitui com uma apresentação mais branda ou indolente em relação ao linfoma de alto grau (LIAG), também denominado como linfoma linfoblástico ou linfoma intestinal de grandes células (Kiupel et al., 2011).

De forma que, ambos os tipos de linfomas intestinais se diferenciam não apenas na histopatologia, mas possuem diferentes apresentações clínicas, bem como tratamento e prognósticos distintos (Marsílio, 2021a).

1.5 LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU (LIBG)

Como já discutido, a apresentação clínica envolve sinais inespecíficos que frequentemente são intermitentes, incluindo vômito, emagrecimento progressivo, anorexia e diarreia. Sinais como poliúria, polidipsia, polifagia e letargia são descritos, porém ocorrem com menor frequência (Kiselow et al., 2008; Wilson, 2008; Lingard et al., 2009; Barrs e Beatty, 2012; Pope et al., 2015).

No LIBG, o principal achado do exame físico é o espessamento das alças intestinais, que pode ser reconhecido em até 70% dos casos (Daniaux et al., 2014). Massas abdominais podem ser encontradas, porém são muito infrequentes, enquanto os espessamentos de parede intestinal são comuns (Daniaux et al., 2014) e podem frequentemente serem identificados através da palpação abdominal.

Outros achados que podem estar presentes no exame físico são desidratação, devido as perdas por vômito e/ou diarreia, e baixo escore de condição corporal (ECC) induzido pela presença do câncer (Lingard et al., 2009; Gieger, 2011; Barrs e Beatty, 2012).

A triagem diagnóstica para o LIBG se inicia com a realização de exames hematológicos, para verificar o estado geral de saúde do

paciente, entretanto, os achados tendem a ser inespecíficos. No hemograma pode ser constatada a presença de anemia, principalmente a arregenerativa, relacionada com a presença de doença crônica, de forma que a contagem de reticulócitos deve ser sempre que possível preconizada (Evans et al., 2006).

Outro achado frequente no hemograma de felinos portadores de linfomas é a neutrofilia, que pode ocorrer de forma secundária a presença de neoplasias, inflamações ou estresse (Gieger, 2011; Norsworthy, 2018).

Alterações no perfil hepático podem estar presentes no caso de infiltração neoplásica hepática, mas também podem ser indicadores da necessidade de investigar doenças concomitantes como a lipidose hepática e as colangites (Gieger, 2011).

O perfil de proteínas séricas pode sofrer alterações, devido a indução de enteropatia associada à perda proteica secundariamente a neoplasia intestinal, em um estudo, cerca de 49% dos gatos com LIBG apresentavam hipoalbuminemia (Gieger, 2011).

No paciente felino, as síndromes paraneoplásicas, como a hipercalcemia ocorrem em cerca de 10% dos pacientes (Vail, 2013), contrastando com o que comumente ocorre em pacientes caninos diagnosticados com linfoma, nos quais achados como poliúria e polidipsia secundários a hipercalcemia são mais frequentes (Fighera et al., 2002).

Quando a suspeita é DII ou LIBG, a análise citológica não é conclusiva, por revelar a presença de infiltração de linfócitos pequenos ou intermediários, que podem estar presentes em ambas as condições (Amores-Fuster et al., 2015).

Assim como na DII outras doenças que afetem a região do íleo inclusive o LIBG, podem desencadear a hipocobalaminemia, uma vez que esse segmento intestinal é responsável pela absorção dessa vitamina (Ruaux, 2013). Em um estudo, 78% dos gatos diagnosticados com LIBG apresentavam hipocobalaminemia (Kiselow et al., 2008), e, portanto, essa deficiência sempre deve ser investigada e corrigida nos pacientes com suspeita de linfoma intestinal e enteropatias crônicas.

Os exames de imagem, especialmente a ultrassonografia abdominal é um recurso fundamental na avaliação do paciente com suspeita de linfoma intestinal. O ultrassom pode revelar a presença de formações ou anormalidades em trato gastrointestinal, rins, baço, fígado e pâncreas, é um exame fundamental na investigação e no estadiamento tumoral (Daniaux et al., 2014).

As alterações ultrassonográficas são muito comuns e semelhantes na DII e no LIBG. O espessamento das alças intestinais é o achado ultrassonográfico mais consistente, estando presente em cerca de 81% dos casos, embora as camadas intestinais tendam a apresentar-se preservadas, diferentemente do que ocorre no LIAG, no qual comumente há perda da estratificação das camadas (Freiche et al., 2021b).

Ocasionalmente, outros achados ultrassonográficos como formação de massa intestinal, aumento da ecogenicidade da camada mucosa e presença de intussuscepção são relatados em gatos com LIBG (Carreras et al., 2003; Lingard et al., 2009).

O diagnóstico definitivo do LIBG envolve obrigatoriamente a realização de exame histopatológico, a partir da coleta de biópsias incisionais. A possibilidade da coexistência de ambas as afecções, DII e LIBG, em um mesmo paciente é um fator desafiante adicional (Gieger, 2011).

Ademais, outros fatores como o método eleito para obtenção das biópsias, qualidade das amostras e ausência de padronização na interpretação histopatológica, são fatores que podem impactar o diagnóstico.

1.6 DIFERENCIAÇÃO DE DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL LINFOPLASMOCITÁRIA E LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU

1.6.1 Obtenção de biópsias intestinais

Invariavelmente, o diagnóstico das enteropatias crônicas se

constitui como um diagnóstico de exclusão, de forma que as biopsias intestinais devem ser realizadas após uma sequência lógica envolvendo a realização de uma triagem terapêutica bem direcionada.

Isso é especialmente importante, diante da suspeita de DII linfoplasmocitária e LIBG, já que fatores como a avaliação clínica, laboratorial e ultrassonográfica tendem a ser muito similares (Marsílio, 2021a). Somente após a exclusão dos potenciais diagnósticos diferenciais, o paciente felino deve ser direcionado para a coleta de biopsias intestinais.

A obtenção de biopsias intestinais pode ser realizada através de endoscopia, laparoscopia ou laparotomia (Cerquetella et al., 2010). Dentre as vantagens da endoscopia estão, baixa invasividade, menor morbidade e extensa visualização da mucosa do trato gastrointestinal (Mansell et al., 2003; Evans et al., 2006), entretanto, apesar da endoscopia ser a ferramenta de eleição para diagnóstico e tratamento de diversas doenças na gastroenterologia veterinária, quando o assunto são biópsias intestinais felinas, devemos ressaltar algumas considerações.

As amostras endoscópicas são diminutas, e não englobam todas as camadas intestinais, isso pode dificultar o diagnóstico, pois um dos critérios histológicos empregados pelos patologistas para diferenciar a DII linfoplasmocitária do LIBG é identificar a presença de infiltrados celulares que se estendem para lâmina própria, submucosa e muscular nos casos de linfoma intestinal (Briscoe et al., 2011).

Além disso, há de se considerar que os locais do TGI mais acometidos pela infiltração celular tanto inflamatória (DII) quanto neoplásica (LIBG) são o íleo e o jejuno (Moore et al., 2012; Paulin et al., 2018), ou seja, a obtenção de amostras desses locais é sempre desejada. As biópsias endoscópicas se limitam a alcançar o duodeno, ou no máximo o jejuno proximal, a depender do aparelho e do operador, o que limita bastante a indicação das biópsias endoscópicas altas diante dessas suspeitas.

Em relação a seleção do melhor método de obtenção de biópsias,

o estudo de Kiupel e colaboradores (2011) demonstrou que as biópsias cirúrgicas são preferidas a fim de avaliar todas as camadas intestinais, e a presença de infiltração linfocítica nas camadas profundas, sendo uma ferramenta adicional para auxiliar na diferenciação de linfoma intestinal e enteropatia linfoplasmocitária.

Outra vantagem da obtenção de amostras via laparotomia consiste na possibilidade de coletar amostras dos diferentes segmentos do intestino delgado, incluindo jejuno e íleo, além da inspeção direta de outros órgãos e a possibilidade de coletar biópsias de outros sítios, se necessário. No estudo de Freiche et al (2021) apenas 13% das lesões compatíveis com LIBG foram identificadas em duodeno e 22% foram encontradas em íleo.

A inspeção cirúrgica também pode atuar como guia para identificar os melhores locais para obtenção das biópsias, por permitir a identificação dos segmentos macroscopicamente alterados, bem como a análise das alterações ultrassonográficas também pode auxiliar na definição dos melhores locais a serem biopsiados (Freiche et al., 2021b).

1.6.2 Avaliação histopatológica

A diferenciação morfológica dos linfomas intestinais de células B e dos linfomas intestinais de células T não costuma ser dificultosa, nos linfomas B ou de alto grau, os linfócitos são histologicamente grandes, entretanto, tanto os linfomas T quanto os infiltrados inflamatórios linfoplasmocitários são representados pelo predomínio de pequenos linfócitos (Carreras et al., 2003).

Histologicamente, a DII linfoplasmocitária se caracteriza pela presença de infiltrados polimorfos, incluindo linfócitos, plasmócitos, neutrófilos, com presença de raros eosinófilos e macrófagos (Freiche et al., 2021b).

O LIBG e a DII linfoplasmocitária possuem características muito semelhantes no exame histopatológico, tornando sua diferenciação desafiadora, quando apenas essa metodologia diagnóstica é empregada

(Ragaini et al., 2003; Valli, 2007). A avaliação histológica se baseia na padronização proposta pela World Small Animal Veterinary Association (WSAVA).

A classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) publicada em 2017 subclassifica os linfomas intestinais de células T humanos, em 1) linfoma de células T associados à enteropatia (EATL), 2) linfoma intestinal de células T epiteliotrópico monofórmico (MEITL), 3) distúrbio linfoproliferativo indolente de células T do trato gastrointestinal (ITLPD) e 4) linfoma intestinal de células T, não especificado de outra forma (ITCL, NOS), porém essa nomenclatura ainda não foi validada para animais domésticos (Àlvares-Lesmes et al., 2021; Rebollada-Merino et al., 2022).

O principal desafio ao patologista é o estabelecimento de padronização nas análises de biopsias intestinais felinas e a ocorrência do compartilhamento de achados histológicos similares entre distúrbios distintos.

Em um estudo, desenvolvimento por Briscoe e colaboradores (2011) 41% dos pacientes diagnosticados com LIBG também apresentavam características histopatológicas compatíveis com DII linfoplasmocitária.

As principais características a nível histológico encontradas nos casos de LIBG se relacionam com envolvimento da camada muscular e/ou serosa, presença de epiteliotropismo e alterações graves em vilosidades e criptas com ruptura da arquitetura normal (Briscoe et al., 2011).

A infiltração de células na mucosa, parece estar mais atrelada à presença de DII linfoplasmocitária (29%) do que de LIBG (7%) (Briscoe et al., 2011). A presença de epiteliotropismo é uma característica mais evidente no LIBG em relação a DII linfoplasmocitária, sendo até 35x mais predominante nas infiltrações neoplásicas em relação as inflamatórias (Briscoe et al., 2011).

Outro ponto importante na avaliação histológica de tecidos

intestinais felinos inclui a avaliação da morfologia das vilosidades e criptas, a atrofia das vilosidades pode se manifestar de forma leve, moderada ou intensa tanto na DII linfoplasmocitária quanto no LIBG, embora sua presença seja mais proeminente nos quadros neoplásicos (Rebollada-Merino et al., 2022).

Os linfomas intestinais têm até 17x mais propensão de desencadear alterações morfológicas graves nessas estruturas. Casos de LIBG são até 6x mais propensos a causar alterações moderadas as severas nas criptas intestinais em relação a DII linfoplasmocitária (Briscoe et al., 2011).

O embotamento de vilosidades, infiltração neutrofílica das criptas no epitélio, ea presença de plasmócitos localizados na lâmina própria, são achados histológicos relacionados com a presença de LIBG (Carreras et al., 2003; Rebollada-Merino et al., 2022).

A avaliação das infiltrações celulares nas diferentes camadas intestinais costuma revelar algumas diferenças entre LIBG e DII linfoplasmocitária. A infiltração isolada da lâmina própria é mais comum na DII que no LIBG, as infiltrações que se estendem pela lâmina própria, submucosa e muscular estão presentes em mais de 50% dos casos de LIBG (Briscoe et al., 2011).

O fígado e o linfonodo mesentérico podem ser focos das infiltrações celulares, no estudo de Briscoe e colaboradores (2011) 31,3% dos pacientes com DII apresentavam a presença de infiltrados no fígado e 11,8% no linfonodo mesentérico. A infiltração de baço ou pâncreas não é um achado comum em ambas as enfermidades.

Quando a análise histopatológica isolada não é conclusiva para diferenciar a DII linfoplasmocitária do LIBG, o emprego de técnicas imunoistoquímicas e moleculares deve ser indicado.

1.6.3 Avaliação imunoistoquímica

A avaliação morfológica e imunoistoquímica conjunta permite avaliar a distribuição, localização e densidade da população linfocítica. Tanto as análises imunoistoquímicas quanto as análises moleculares

podem ser realizadas a partir da mesma amostra de biópsia intestinal que concedeu o diagnóstico histológico (Sabattini et al., 2016).

A avaliação imunoistoquímica identifica a fenótipo da linhagem linfóide, classificando os linfomas intestinais em linfomas de células T (CD3+) ou linfomas intestinais de células B (Cd79a+/ CD20+), sendo que os linfomas intestinais de linfócitos T representam o imunofenótipo mais prevalente nos linfomas diagnosticados no trato gastrointestinal felino (Pohlman et al., 2009; Kiupel et al., 2010; Briscoe et al., 2011; Moore et al., 2011; Sabattini et al., 2016; Paulin et al., 2018).

Na DII linfoplasmocitária, os fenótipos podem ser mistos, com a presença de infiltrados contendo linfócitos B (CD79a +) e T (CD3+) (Moore et al., 2012; Kiupel et al., 2011; Gianella et al., 2017).

O Ki-67 é um marcador nuclear ativo durante todas as fases da divisão celular, especialmente na fase M, após a mitose a sua expressão tende a desaparecer (Paulin et al., 2018). É largamente empregado como marcador prognóstico nos linfomas humanos (Menon et al., 2019; Kohri et al., 2020) e caninos (Poggi et al., 2017; Sierra et al., 2018; Estaller et al., 2022).

Em estudos humanos, o índice Ki-67 é considerado útil para distinguir entre distúrbios linfoproliferativos benignos e malignos (Bryant et al., 2006), e essa mesma aplicabilidade tem sido investigada em felinos (Carrasco et al., 2014; Freiche et al., 2021a; Freiche et al., 2021b).

Estudos recentes apontam que os linfomas intestinais tendem a apresentar valores de Ki-67 substancialmente mais elevados que as enterites linfoplasmocitárias, de forma que a avaliação do Ki-67 pode ser uma ferramenta complementar útil para diferenciar os processos neoplásicos dos inflamatórios (Carrasco et al., 2014; Freiche et al., 2021b).

1.6.4 Testes de clonalidade

Os testes moleculares que atuam como uma ferramenta adicional para auxiliara diferenciação entre DII linfoplasmocitária e LIBG através da identificação de clonalidade dos linfócitos T ou B presentes na

amostra.

A análise histomorfológica e imunoistoquímica devem preceder a realização dos testes de clonalidade, que é útil para auxiliar na definição diagnóstica de casos desafiadores (Kiupel et al., 2011; Carrasco et al., 2014).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é utilizada para detectar os rearranjos de genes do receptor de antígeno (PAAR), tratando-se de uma análise molecular da cadeia TCR γ para células T e gene de cadeia pesada de imunoglobulinas para células B (Keller et al., 2016; Hammer et al., 2017).

A definição de rearranjo policlonal se dá pela presença de quatro picos ou mais na ausência de picos, a oligoclonalidade ocorre diante da presença de 1 a 3 picos, enquanto o rearranjo monoclonal é detectado diante da presença de um único pico aparente. Estudos prévios demonstraram que a DII linfoplasmocitária geralmente demonstra um padrão policlonal, enquanto o LIBG apresenta um padrão monoclonal ou oligoclonal (Moore et al., 2012).

Os resultados dos testes de clonalidade devem ser interpretados com cautela, pois expansões oligoclonais ou monoclonais não são exclusivas de processos neoplásicos, as infecções intestinais crônicas também podem gerar clonalidade linfoide (Sabattini et al., 2016).

Além disso, resultados PAAR negativo não são suficientes para descartar completamente a hipótese de linfoma, podem ocorrer resultados falso negativos nos casos em que houve fragmentação do DNA devido a erros pré-analíticos ou administração de glicocorticoides que geram linfocitose (Sabattini et al., 2016).

1.7 REFERÊNCIAS

- 1 Amores-Fuster I, Cripps P, Graham P, et al (2015) The diagnostic utility of lymph node cytology samples in dogs and cats. **J Small Anim Pract.** Feb;56(2):125- 9.

- 2 Adams WM, Sisterman LA, Klauer JM, Kirby BM, Lin TL 2010 Association of intestinal disorders in cats with findings of abdominal radiography. **J Am Vet Med Assoc**.
- 3 Barrs VR and Beatty JA (2012) Feline alimentary lymphoma: Classification, risk factors, clinical signs and non-invasive diagnostics. **J Feline Med Surg**; 14: 182–190.
- 4 Briscoe KA, Krockenberger M, Beatty JA, et al (2011) Histopathological and immunohistochemical evaluation of 53 cases of feline lymphoplasmacytic enteritis and low-grade alimentary lymphoma. **J Comp Pathol**; 145:187-198.
- 5 Broyde A, Boycov O, Strenov Y, et al (2009) Role and prognostic significance of the Ki-67 index in non-Hodgkin's lymphoma. **Am J Hematol**. 84:338–343.
- 6 Brucklacher-Waldert V, Carr EJ, Linterman MA, et al (2014) Cellular plasticity of CD4+ T cells in the Intestine. **Front Immunol** ;5:488.
- 7 Carrasco, V.; Rodríguez-Bertos, A.; Rodríguez-Franco, F.; Wise, A.G.; Maes, R.; Mullaney, T.; Kiupel, M (2014) Distinguishing intestinal lymphoma from inflammatory bowel disease in canine duodenal endoscopic biopsy samples. **Vet. Pathol**, 52, 668–675.
- 8 Carreras JK, Goldschmidt M, Lamb M, et al (2003) Feline epitheliotropic intestinal malignant lymphoma: 10 cases (1997–2000). **J Vet Intern Med**; 17: 326–331.
- 9 Cotter SM, Hardy Jr WD, Essex M (1975) Association of feline leukemia virus with lymphosarcoma and other disorders in the cat. **J Am Vet Med Assoc**; 166:449 e 54.
- 10 Couto, C.G (2000) Advances in the treatment of the cat with lymphoma in practice. **J. Feline Med. Surg**, 2, 95–100.
- 11 Daleck, C. R., Fonseca, C. S., & Canola, J. C. (2016) **Oncologia em cães e gatos**. Roca
- 12 Daniaux LA, Laurenson MP, Marks SL, et al (2014) Ultrasonographic thickening of the muscularis propria in feline small intestinal small cell T-cell lymphoma and inflammatory bowel disease. **J Feline Med Surg**; 16: 89–98.
- 13 DS Khare, DK Gupta, PC Shukla, NS Meena, Ravi Khare (2018) Feline hyperthyroidism: An overview. **J Entomol Zool Stud** ;6(6):418-423.
- 14 Day MJ, Bilzer T, Mansell J, et al (2008) Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. **J Comp Pathol**.;138(Suppl 1): S1-S43.

- 15 Evans SE, Bonczynski JJ, Broussard JD, et al (2006) Comparison of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. **J Am Vet Med Assoc**; 229: 1447–1450.
- 16 Fabrizio, F; Calam, AE.; Dobson, JM.; et al (2013) Feline mediastinal lymphoma: A retrospective study of signalment, retroviral status, response to chemotherapy and prognostic indicators. **J. Feline Med. Surg**, 16, 637–644.
- 17 Fondacaro JV, Richter KP, Carpenter JL, et al (1999) Feline gastrointestinal lymphoma: 67 cases (1988 e 1996). **European Journal of Comparative Gastroenterology**, 4, 5 e 11.
- 18 Freiche V, Cordonnier N, Paulin MV, et al (2021a) Feline low-grade intestinal T cell lymphoma: a unique natural model of human indolent T cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract. **Lab Invest**; 101:794- 804.
- 19 Freiche V, Paulin MV, Cordonnier N, Huet H et al (2021b) Histopathologic, phenotypic, and molecular criteria to discriminate low-grade intestinal T-cell lymphoma in cats from lymphoplasmacytic enteritis. **J Vet Intern Med**. Nov;35(6):2673-2684.
- 20 Gianella P, Pietra M, Crisi PE, et al (2017) Evaluation of clinicopathological features in cats with chronic gastrointestinal signs. **Pol J Vet Sci**.; 20:403-410.
- 21 Gieger, T (2011) Alimentary lymphoma in cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America- Small Animal Practice**, v.41, p. 419-432.
- 22 Graf R, Gruntzig K, Boo G, et al (2016) Swiss Feline Cancer Registry 1965– 2008: the influence of sex, breed and age on tumour types and tumour locations. **J Comp Pathol**; 154: 195–210.
- 23 Griffin S (2019) Feline abdominal ultrasonography: What's normal? What's abnormal? The normal gastrointestinal tract. **J Feline Med Surg**; 21(11):1039-1046.
- 24 Guilford WG, Jones BR, Markwell PJ, Arthur DG, Collett MG and Harte JG (2001) Food sensitivity in cats with chronic idiopathic gastrointestinal problems. **J Vet Intern Med**; 15: 7–13.
- 25 Guilford WG (1996) Idiopathic inflammatory bowel diseases. In: Guilford WG (ed). Strombeck's **Small animal gastroenterology**. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, pp 451–486.
- 26 Hammer SE, Groiss S, Fuchs-Baumgartinger A, et al (2017) Characterization of a PCR-based lymphocyte clonality assay as a complementary tool for the diagnosis of feline lymphoma. **Vet Comp Oncol** ;15:1354-1369.
- 27 Irving, JR, Melanie JD; Holmes, E (2019) Feline alimentary

lymphoma: a guide to cytological and histopathological diagnosis for the general practitioner. **Companion Animal**.

- 28 Janeczko S, Atwater D, Bogel E, Greiter-Wilke A, Gerold A, Baumgart M, et al (2008) The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. **Vet Microbiol**; 128: 178–193.
- 29 Jergens AE (2012) Feline idiopathic inflammatory bowel disease: what we know and what remains to be unraveled. **J Feline Med Surg** ;14(7):445-58.
- 30 Jergens AE (1999) Inflammatory bowel disease: Current perspectives. **Vet ClinNorth Am Small Anim Pract**; 29:501–521.
- 31 Jergens, A. E. et al (2003) A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. **J. Vet. Intern. Med.** 17, 291–297.
- 32 Kathrani A, Yen S, Swann JR, Hall EJ (2022) The effect of a hydrolyzed protein diet on the fecal microbiota in cats with chronic enteropathy. **Sci Rep**;12(1):2746.
- 33 Keller SM, Vernau W, Moore PF (2016) Clonality testing in veterinary medicine: a review with diagnostic guidelines. **Vet Pathol**;53: 711-725.
- 34 Kiselow MA, Rassnick KM, McDonough SP et al (2008) Outcome of cats with low-grade lymphocytic lymphoma: 41 cases (1995 e 2005). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 232, 405 e 410.
- 35 Kiupel M, Smedley RC, Pfent C, et al (2011) Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. **Vet Pathol**; 48:212-222.
- 36 Kleinschmidt S, Harder J, Nolte I, et al (2010) Chronic inflammatory and noninflammatory diseases of the gastrointestinal tract in cats: diagnostic advantages of full-thickness intestinal and extraintestinal biopsies. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 12, 97 e 103.
- 37 Kook PH, Lutz S, Sewell AC, et al (2012) Evaluation of serum cobalamin concentration in cats with clinical signs of gastrointestinal disease. **Schweiz Arch Tierheilkd.** Nov;154(11):479-86.
- 38 Krecic MR, Black SS (2000) Epitheliotropic T-cell gastrointestinal tract lymphosarcoma with metastases to lung and skeletal muscle in a cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 216, 524 e 529.
- 39 Laurenson MP, Skorupski KA, Moore PF, et al (2011) Ultrasonography of intestinal mast cell tumors in the cat. **Vet Radiol Ultrasound**; 52: 330–334.

- 40 Lingard AE, Briscoe K, Beatty JA, et al (2009) Low-grade alimentary lymphoma: clinicopathological findings and response to treatment in 17 cases. **J Feline Med Surg**; 11:692-700.
- 41 Linton M, Nimmo JS, Norris JM, et al (2015) Feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia: 13 cases and review of an emerging clinical entity. **J Feline Med Surg**; 17: 392–404.
- 42 Louwerens M, London CA, Pedersen NC, et al (2005) Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. **J Vet Intern Med**; 19: 329–335.
- 43 MacDonald JM, Mullen HS, Moroff SD (1993) Adenomatous polyps of the duodenum in cats: 18 cases (1985–1990). **J Am Vet Med Assoc**; 202: 647–651.
- 44 Mahony OM, Moore AS, Cotter SM, et al (1995) Alimentary lymphoma in cats: 28 cases (1988–1993). **J Am Vet Med Assoc**; 207: 1593–1598.
- 45 Marsilio, S (2021) Feline Chronic Enteropathy. **J. Small Anim. Pract**, 62, 409–419.
- 46 Marsilio, S., Pilla, R., Sarawichitr, B. et al (2019) Characterization of the fecal microbiome in cats with inflammatory bowel disease or alimentary small cell lymphoma. **Sci Rep** 9, 19208.
- 47 Mavropoulou A, Grandi G, Calvi L, et al (2010) Disseminated histoplasmosis in a cat in Europe. **J Small Anim Pract**; 51: 176–180.
- 48 Meichner K, Kruse D, Hirschberger J, et al (2012) Changes in prevalence of progressive feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma in Germany. **Vet Rec**; 171(14):348.
- 49 Meuten DJ (5^a ed.) (2017) **Tumors in domestic animals**. Ames: John Wiley & Sons Inc, 989p.
- 50 Miller, I Min M, Yang C, Tian C, Gookin S, Carter D, Spencer SL (2018) Ki67 is a graded rather than a binary marker of proliferation versus quiescence. **Cell Reports** 24(5): 1105-1112.
- 51 Moore PF, Rodriguez-Bertos A, Kass PH (2012) Feline gastrointestinal lymphoma: mucosal architecture, immunophenotype, and molecular clonality. **Vet Pathol**; 49:658-668.
- 52 Munday JS, Martinez AW, Soo M (2014) A case of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia mimicking metastatic neoplasia. **N Z Vet J**; 62: 356–360.
- 53 Norsworthy, G. (2018) **The Feline Patient**. 5ed. Wiley Blackwell, p. 381-384 e 935- 939.

- 54 Oetelaar GS, Lim CK, Heng HG, et al. (2018) Ultrasonographic features of colonic B-cell lymphoma with mesenteric lymphomatosis in a cat. **Vet Radiol Ultrasound**.
- 55 Paulin MV, Couronne L, Beguin J, et al (2018) Feline low-grade alimentary lymphoma: an emerging entity and a potential animal model for human disease. **BMC Vet Res**; 14:306-319.
- 56 Penninck D, d'Anjou MA (2015) Gastrointestinal tract. In: Penninck D and d'Anjou MA (eds). **Atlas of small animal ultrasonography**. 2nd ed. Iowa: Wiley-Blackwell, pp 259–308.
- 57 Pohlman LM, Higginbotham ML, Welles EG, et al (2009) Immunophenotypic and histologic classification of 50 cases of feline gastrointestinal lymphoma. **Veterinary Pathology**, 46, 259 e 268.
- 58 Pope, K.V; Tun, A.E; McNeill, et al (2015) Outcome and toxicity assessment of feline small cell lymphoma: 56 cases (2000-2010). **Veterinary Medicine and Science**, v.1, n.2, p. 51-62.
- 59 Ragaini L, Aste G, Cavicchioli L, et al (2003) Inflammatory bowel disease mimicking alimentary lymphosarcoma in a cat. **Veterinary Research Communications**, 27(Suppl. 1), 791 e 793.
- 60 Richter KP (2003) Feline gastrointestinal lymphoma. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 33, 1083 e 1098.
- 61 Risetto K, Villamil JA, Selting KA, et al (2011) Recent trends in feline intestinal neoplasia: an epidemiologic study of 1,129 cases in the veterinary medical database from 1964 to 2004. **J Am Anim Hosp Assoc**; 47: 28–36.
- 62 Rivers BJ, Walter PA, Feeney DA, et al (1997) Ultrasonographic features of intestinal adenocarcinoma in five cats. **Vet Radiol Ultrasound**; 38: 300–306.
- 63 Ruaux CG, Steiner JM, Williams DA (2005) Early biochemical and clinical responses to cobalamin supplementation in cats with signs of gastrointestinal disease and severe hypocobalaminemia. **J Vet Intern Med**; 19: 155–160.
- 64 Ruaux CG (2013) Cobalamin in companion animals: diagnostic marker, deficiency states and therapeutic implications. **Vet J**;196(2):145-152.
- 65 Sabattini S, Bottero E, Turba ME, Vicchi F, Bo S, Bettini G (2016) Differentiating feline inflammatory bowel disease from alimentary lymphoma in duodenal endoscopic biopsies. **J Small Anim Pract**. Aug;57(8):396-401.
- 66 Scott KD, Zoran DL, Mansell J, et al (2011) Utility of endoscopic biopsies of the duodenum and ileum for diagnosis of inflammatory bowel disease and small cell lymphoma in cats. **J Vet Intern Med**; 25(6):1253-7.

- 67 Stein, TJ; Pellin; Mackenzie Pellin, BS; Howard, S et al (2010) Treatment of Feline Gastrointestinal Small-Cell Lymphoma with Chlorambucil and Glucocorticoids. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 46, n.6, p. 413-417.
- 68 Stutzer B, Lutz H, Majzoub M, Hermans W, Hirschberger J, Sauter-Louis C, et al (2011) Incidence of persistent viraemia and latent feline leukemia virus infection in cats with lymphoma. **J Feline Med Surg**; 13: 81–87.
- 69 Suchodolski JS, Morris EK, Allenspach K, et al (2008) Prevalence and identification of fungal DNA in the small intestine of healthy dogs and dogs with chronic enteropathies. **Vet Microbiol**; 132: 379–388.
- 70 Suchodolski JS (2016) Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. **Vet J**; 215:30-7.
- 71 Terragni R, Morselli-Labate AM, Vignoli M (2016) Is Serum Total LDH Evaluation Able to Differentiate between Alimentary Lymphoma and Inflammatory Bowel Disease in a Real World Clinical Setting? **Plos one** 11(3):e0151641.
- 72 Tucker S, Penninck DG, Keating JH, et al (2014) Clinicopathological and ultrasonographic features of cats with eosinophilic enteritis. **J Feline Med Surg**; 16: 950–956.
- 73 Valenciano AC, Cowell RL (2014) Cowell and Tyler's **Diagnostic Cytology and Haematology of the Dog and Cat**. 4th edn. Amsterdam: Elsevier.
- 74 Valli, VE. Enteropathy-type T-cell lymphoma (2007) In: **Veterinary Comparative Hematopathology**, VE Valli, Ed., Blackwell, Ames, pp. 318 e 327.
- 75 Vezzali E, Parodi AL, Marcato OS, Bettini G (2010) Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. **Vet Comp Oncol**; 8: 38–49.
- 76 Waly NE, Gruffydd-Jones TJ, Stokes CR, Day MJ (2005) Immunohistochemical diagnosis of alimentary lymphomas and severe intestinal inflammation in cats. **Journal of Comparative Pathology**, 133, 253 e 260.
- 77 Waly NE, Stokes CR, Gruffydd-Jones TJ et al (2004) Immune cell populations in the duodenal mucosa of cats with inflammatory bowel disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 18, 816 e 825.
- 78 Washabau RJ, Day MJ, Willard MD, et al (2010) Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals. **J Vet Intern Med**; 24: 10–26.

- 79 Weiss ATA, Klopffleisch R, Gruber AD (2010) Prevalence of feline leukaemia provirus DNA in feline lymphomas. **J Feline Med Surg**;12(12):929–935.
- 80 Willard MD, Mansell J, Fosgate GT, et al (2008) Effect of sample quality on the sensitivity of endoscopic biopsy for detecting gastric and duodenal lesions in dogs and cats. **J Vet Intern Med**; 22: 1084–1089.
- 81 Willard MD, Moore GE, Denton BD, et al (2010) Effect of tissue processing on assessment of endoscopic intestinal biopsies in dogs and cats. **J Vet Intern Med**;24:84-89.
- 82 Wilson, H.M (2008) Feline Alimentary Lymphoma: Demystifying the Enigma.
Topics in companion animal medicine, v.23, n.4, p. 177-184.
- 83 Wolfesberger, B; Fuchsbaumgartinger, A; Greb, V et al (2018) World Health Organization Classification of Lymphoid Tumors in Veterinary and Human Medicine: a Comparative Evaluation of Gastrointestinal Lymphomas in 61 cats. **Journal of Comparative Pathology**, v. 159, p. 1-10.
- 84 Zwingenberger AL, Marks SL, Baker TW, et al (2010) Ultrasonographic evaluation of the muscularis propria in cats with diffuse small intestinal lymphoma or inflammatory bowel disease. **J Vet Intern Med**; 24: 289–292.

CAPÍTULO 2 – ESTUDO RETROSPECTIVO DOS DIAGNÓSTICOS HISTOPATOLÓGICOS DE 304 BIOPSIAS INTESTINAIS FELINAS

2.1 INTRODUÇÃO

As chamadas enteropatias crônicas possuem grande importância na medicina felina devido a sua alta prevalência. Apesar da doença inflamatória intestinal (DII) linfoplasmocitária e o linfoma intestinal serem as principais afecções, muitos outros distúrbios inflamatórios e neoplásicos podem afetar o intestino felino (Marsílio, 2021).

No que concerne a classificação histológica da DII, a nomenclatura empregada tende a refletir a distribuição anatômica e o tipo celular predominante em lâmina própria (Jergens e Simpson, 2012). A DII linfoplasmocitária que é o tipo mais comum, é caracterizada pela presença de enterite na qual há infiltração massiva de células inflamatórias, especialmente linfócitos e plasmócitos (Jergens et al., 1992).

Enquanto que diante da predominância de infiltrados eosinofílicos em lâmina própria, a DII eosinofílica é caracterizada, os principais diagnósticos diferenciais para a presença de infiltrados eosinofílicos massivos incluem a presença de endoparasitismo, larva migrans visceral e sensibilidade dietética (Kleinschmidt et al., 2010; Jergens, 2012; Tucker et al., 2014).

A DII supurativa ou neutrofílica primária é caracterizada pelo predomínio de populações neutrofílicas em amostra intestinal e pode ser esporadicamente encontrada em pacientes felinos, porém diversos fatores como presença de corpos estranhos, granulomas associados à PIF e infecções em geral, costumam cursar com respostas reativas envolvendo a presença de infiltrado neutrofílico.

De forma geral, condições em que há perda da barreira mucosa como nas lesões erosivas, podem induzir o aparecimento de infiltrados

neutrófilos, inclusive estudos recentes encontraram uma associação da presença de *Campylobacter coli* e a DII neutrofílica em gatos (Maunder et al., 2016).

A DII granulomatosa é uma forma incomum de enterite, caracterizada pelo predomínio de macrófagos, que desencadeiam a formação de granulomas, essa subclassificação é mais importante na espécie canina, devido a presença da colite granulomatosa dos boxers, mas pode raramente ser encontrada em felinos (Hostutler et al., 2004; Jergens e Simpson, 2012).

A chamada DII mista é caracterizada pela presença de infiltrado inflamatório misto consistindo no predomínio de neutrófilos e linfócitos ou eosinófilos e linfócitos em uma mesma amostra, geralmente acompanhada por algum grau de distorção da arquitetura tecidual (Kleinschmidt et., 2010).

As lesões que se associam com a presença de formações em TGI felino podem ser benignas ou malignas. Dentre as benignas, se destaca a fibroplasia esclerosante eosinofílica felina (FEEF) que se constitui como uma afecção idiopática que cursa com a presença de massa(s) eosinofílica(s) que pode afetar o trato intestinal felino e os linfonodos mesentéricos, sendo um importante diagnóstico diferencial para a presença de formações intestinais de origem neoplásica (Linton et al., 2015).

Entretanto, apesar da existência de formações benignas, as neoplasias malignas predominam no trato gastrointestinal felino (Turk et al., 1981; Bonfanti et al., 2006; Kehl et al., 2022). Sendo que os linfomas alimentares são as neoplasias mais prevalentes, com incidência variando de 41% a 79% de todas as formações que afetam esse sítio (Bonfanti et al., 2006; Rissetto et al., 2011; Kehl et al., 2022).

Os linfomas de trato gastrointestinal são categorizados em relação ao grau histológico em baixo, médio e alto grau, essa graduação se relaciona apenas com a atividade mitótica, deve-se evitar o emprego desses termos com a finalidade de classificar o curso clínico previsto, para

tal, o comportamento do linfoma alimentar pode ser classificado em indolente, intermediário e agressivo (Avallone et al., 2021).

Os linfomas de forma geral, são histologicamente classificados como baixo grau, quando possuem <5 figuras de mitose/campos de grande aumento (CGA), os de grau intermediário possuem entre 5 e 10 figuras/CGA e os de alto grau possuem >10 figuras/CGA (Gabor et al., 1999; Valli et al., 2011; Kehl et al., 2022). Apesar disso, ainda não existem estudos controlados que definam o número de mitoses em linfomas intestinais de médio e alto grau (Kehl et al., 2022).

O estudo de Kiupel et al (2011) identificou que os linfomas intestinais de pequenas células apresentavam 0-2 figuras mitóticas/CGA, entretanto, o estudo de Kehl et al (2022) demonstrou um número significativo de linfomas de pequenas células com índices mitóticos mais altos (2-10 figuras/CGA).

O linfoma de grandes linfócitos granulares, é um subtipo de linfoma menos frequente e que pode apresentar-se em qualquer grau, mas geralmente está associado com um curso clínico mais agressivo.

Na sequência, carcinomas, sarcomas e mastocitomas intestinais (Barrs e Beatty 2012; Thamm 2015; Suwa e Shimoda 2017) representam os demais tipos histológicos malignos mais frequentemente encontrados em amostras intestinais felinas.

O diagnóstico definitivo de lesões inflamatórias e neoplásicas do TGI felino passam obrigatoriamente pela coleta de biopsias intestinais para análise histopatológica. No que concerne a coleta das biopsias intestinais felinas, o método de obtenção, tamanho da amostra e localização anatômica eleita para coleta podem impactar diretamente na qualidade do diagnóstico (Barrs e Beatty, 2012).

O objetivo desse estudo é caracterizar os principais diagnósticos histopatológicos de origem neoplásica e não neoplásica, oriundos de biopsias intestinais felinas, correlacionando a distribuição de dados epidemiológicos como a cidade de origem do paciente, raça, idade, sexo e método de obtenção das biopsias intestinais com cada diagnóstico

obtido, a fim de verificar a prevalência das principais lesões que acometem o trato gastrointestinal felino.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os registros histopatológicos oriundos de biopsias intestinais felinas obtidas pelo laboratório parceiro VETPAT, localizado em Campinas-SP, no período de Janeiro de 2017 a Dezembro de 2018 foram avaliados. Todas as amostras foram processadas no mesmo laboratório e avaliadas uma equipe coesa de patologistas experientes que forneceram o diagnóstico final.

Esses registros foram selecionados através da busca pelas palavras-chave: enterite linfoplasmocitária, neoplasia intestinal, biopsia intestinal, linfoma intestinal e doença inflamatória intestinal, filtrando apenas amostras de pacientes da espécie felina, no banco de dados do laboratório.

Os critérios para inclusão dos diagnósticos histopatológicos foram a presença de alterações intestinais de origem neoplásica e/ou inflamatória, que não tivessem associação com a presença de corpos estranhos e granulomas relacionados com a peritonite infecciosa felina (PIF). Casos em que a hiperplasia tecidual era o único achado histológico ou casos em que o estômago era a única porção do TGI amostrada também foram excluídos da análise.

Ao todo foram selecionadas 346 fichas de diagnóstico histopatológico de afecções no trato gastrointestinal felino, distribuídas ao longo de 23 meses. Porém, 42 casos foram excluídos por se enquadrarem nos critérios de exclusão descritos.

Os dados coletados foram idade, sexo, raça, cidade de origem, segmento intestinal biopsiado, método de obtenção da biopsia intestinal e o diagnóstico histopatológico obtido.

Acerca do método de obtenção das amostras, os pacientes que passaram por laparotomia exploratória e/ou enterectomias foram incluídos no mesmo grupo, segregados dos pacientes que foram submetidos a

endoscopia, colonoscopia ou ambos.

Após coleta dos dados, esses foram tabulados para verificar a distribuição e classificação das lesões em neoplásicas ou inflamatórias. Todas as lesões foram enquadradas em alguma das categorias listadas: Doença inflamatória intestinal (DII) linfoplasmocitária; DII granulomatosa, DII mista; DII eosinofílica, Linfoma intestinal de baixo grau, Linfoma intestinal de alto grau, Carcinoma intestinal; Sarcoma intestinal; Mastocitoma intestinal, Neoplasia indiferenciada de células redondas, Fibroplasia ou hiperplasia fibroesclerosante ou linfangiectasia intestinal.

2.2.1 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do pacote estatístico SPSS Statistics 21® (IBM, Nova Iorque, Estados Unidos) e para todos os testes realizados considerou-se 95% como nível de confiança ($P \leq 0.05$).

Foi realizada análise descritiva em número e porcentagem dos estados de origem, raças, sexo, idade, métodos de obtenção de biopsia e diagnósticos histopatológicos dos registros obtidos. Em relação à idade dos pacientes, calculou-se a média e desvio padrão da média de todos os diagnósticos encontrados, as raças mais comumente afetadas também foram elencadas de acordo com o diagnóstico histológico.

As lesões foram segregadas de acordo com sua origem em neoplásicas, não neoplásicas e borderlines, as médias e desvios-padrões das idades de todos os grupos foram calculadas. A diferença entre as médias das idades foi obtida por teste U de Mann-Whitney.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Dados da população

A população do estudo consistiu em amostras provenientes de biopsias intestinais oriundas de diferentes estados do país, o laboratório parceiro se localiza no estado de São Paulo, na cidade de Campinas,

talvez por esse motivo o estado de São Paulo foi o maior representado com 125 amostras (41,12%), seguido pelo Rio Grande do Sul com 79 amostras (25,98%). A distribuição das amostras de acordo como estado de origem do paciente é ilustrada na Tabela 1.

Tabela 1- Distribuição das amostras de biopsias intestinais felinas de acordo com o estado de origem.

Estado de origem	Número de pacientes	(%)
Distrito Federal	4	1,32
Goiás	1	0,33
Maranhão	2	0,66
Minas Gerais	20	6,58
Paraná	6	1,97
Rio de Janeiro	30	9,87
Rio Grande do Sul	79	25,99
Santa Catarina	35	11,51
Sergipe	2	0,66
São Paulo	125	41,12
Total	304	100,00

Dos 304 pacientes envolvidos no estudo, 164 (53,95%) eram machos, 137 (45,06%) eram fêmeas e em 3 casos (0,99%) o sexo não foi informado, conforme ilustrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição de sexo dos pacientes felinos submetidos biopsias intestinais

Sexo	Número de pacientes	(%)
Fêmeas	137	45,07
Machos	164	53,95
Não informado	3	0,99
Total	304	100,00

Em relação as raças, os gatos sem raça definida, representaram 73,68% das amostras (n=224), seguidos pelo persa representando 11,51% (n=35) da população, na sequência vem o siamês representando 5,59%(n=17) das amostras, 3,29% (n=10) da população não teve a raça informada na requisição laboratorial. Himalaios representaram 1,64%

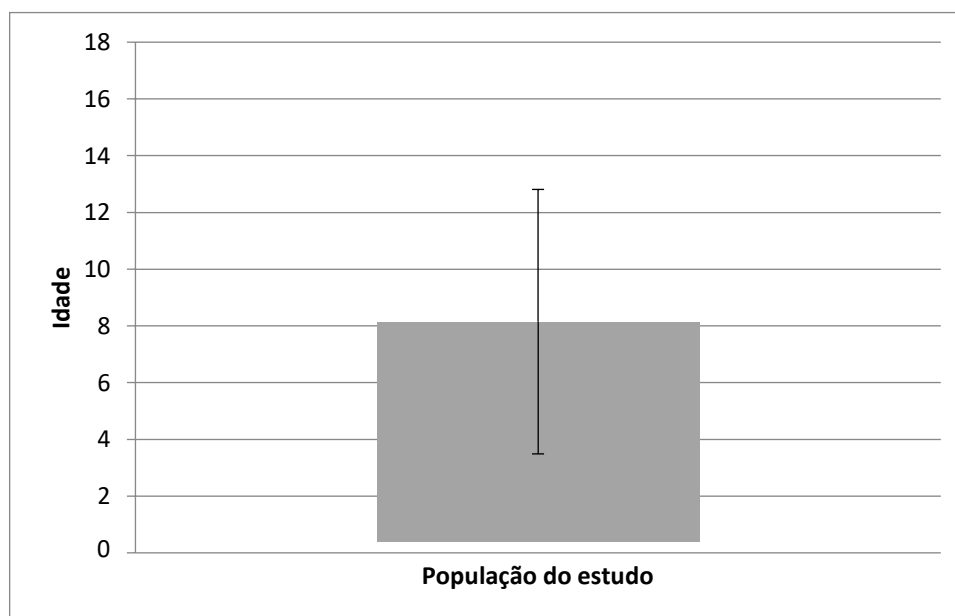
(n=5) das amostras, pelo curto brasileiro e ragdolls representaram 0,99% (n=3) cada um, Exotic Short Hair representaram 0,66% (n=2) das amostras, enquanto as raças Bengal (n=1), British (n=1), Sagrado da Birmania (n=1), American Short Hair (n=1) e Maine Coon (n=1), representaram 0,33% das amostras cada um. As raças presentes no estudo são ilustradas na Tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição das raças dos pacientes felinos submetidos a coleta de biopsias intestinais.

Raça	Número de pacientes	(%)
American Short Hair	1	0,33
Bengal	1	0,33
British	1	0,33
Exotic Short Hair	2	0,66
Himalaia	5	1,64
Maine Coon	1	0,33
Pelo Curto Brasileiro	3	0,99
Persa	35	11,51
Ragdoll	3	0,99
Sagrado da Birmania	1	0,33
Siamês	17	5,59
SRD	224	73,68
Não informado	10	3,29
Total	304	100,00

Os pacientes submetidos a biopsias intestinais tinham idade variando entre 4 meses a 18 anos, com média de 8.15 anos $\pm$ 4.66 conforme ilustrado no Gráfico 1.

Gráfico 1– Representação gráfica da média e desvio padrão da idade dos pacientes submetidos a biopsias intestinais felinas.



2.3.2 Classificação das lesões histopatológicas

Após tabulação e análise dos resultados histológicos de 304 amostras intestinais felinas, verificou-se que os distúrbios de origem inflamatória foram os mais comuns, representando 56,59% de todas as amostras avaliadas, as doenças neoplásicas representaram 38,16% dos casos e 5,25% dos casos foram classificados como borderlines. A tabela 4 ilustra a distribuição das lesões em inflamatórias ou neoplásicas.

Tabela 4 – Distribuição das lesões de acordo com origem inflamatória ou neoplásica, provenientes de 304 amostras intestinais felinas.

Diagnósticos	(%)
Doenças Inflamatórias	56,59
Doenças Neoplásicas	38,16
Borderline (DII x LIBG)	5,25
Total	100,00

O diagnóstico mais prevalente foi o de DII linfoplasmocitária correspondendo a 42,76% (n=130) dos casos, seguido pelo diagnóstico de linfoma intestinal, representando 20,73% dos casos (n=63), desses 10,53% (n=32) eram linfomas de baixo grau e 10,2% (n=31) eram linfomas de alto grau.

O terceiro diagnóstico mais comum foi de carcinoma intestinal representando 11,84% das amostras (n=36), seguidos pela DII mista que correspondeu a 7,57% (n=23) dos diagnósticos.

Pacientes para os quais a histopatologia isoladamente não era capaz de fornecer o diagnóstico definitivo entre DII linfoplasmocitária e LIBG foram nomeados como Bordelines, nesses casos, o patologista apontava a suspeita principal, porém, indicava a realização de exame imunoistoquímico para diferenciar as afecções, esse grupo correspondeu a 5,26% (n=16) dos casos.

A DII eosinofílica foi representou 3,29% (n=10) dos casos, o sarcoma intestinal afetou 2,96% (n=9) da população, em 1,64% (n=5) dos casos o diagnóstico final de qual neoplasia de células redondas estava presente não foi definitivo, devido ao baixo grau de diferenciação celular, esse grupo foi nomeado como neoplasia indiferenciada de células redondas.

A fibroplasia esclerosante correspondeu a 1,65% (n=5) dos diagnósticos. O mastocitoma intestinal representou 0,99% (n=3) dos diagnósticos, a DII granulomatosa representou 0,66% (n=2) dos diagnósticos, enquanto a DII neutrofílica esteve presente em apenas uma amostra (0,33%). A linfangiectasia intestinal também esteve presente em apenas uma amostra (0,33%). A distribuição da classificação das lesões histopatológicas é ilustrada na Tabela 5.

Tabela 5 - Distribuição dos diagnósticos histológicos obtidos das 304 amostras de biopsias intestinais felinas.

Diagnóstico	Número de amostras	(%)
Borderlines		
Borderline	16	100
Total	16	100
Neoplásicas		
Mastocitoma	3	2,59
Neoplasia indiferenciada de células redondas	5	4,31
Sarcoma intestinal	9	7,76
Linfoma de alto grau	31	26,72
Linfoma de baixo grau	32	27,59
Carcinoma intestinal	36	31,03
Total	116	100
Não neoplásicas		
DII neutrofílica	1	0,58
Linfagiectasia intestinal	1	0,58
DII granulomatosa	2	1,16
Fibroplasia esclerosante	5	2,91
DII eosinofílica	10	5,81
DII mista	23	13,37
DII linfoplasmocitária	130	75,58
Total	172	100,00

2.3.3 Métodos de obtenção de biopsias

Em relação ao método de obtenção das amostras intestinais, a laparotomia foi o método de eleição em 57,23% (n=174) dos casos, em 36,18% (n=110) a endoscopia foi preferida, a associação de endoscopia e colonoscopia ocorreu em 1,65% (n=5) dos casos, enquanto a realização isolada da colonoscopia representou apenas 1,65% (n=5) dos casos.

Em 2,63% (n=8), os casos foram avaliados por revisão de lâmina por meio do envio de bloco de parafina, de forma que a informação sobre o método de obtenção da amostra não estava disponível nesses casos. Em apenas 0,66% (n=2) a amostra intestinal foi coletada após necropsia. A Tabela 6 ilustra os métodos empregados para coleta de amostras

intestinais felinas.

Tabela 6 – Métodos de obtenção de amostras intestinais de 304 pacientes felinos.

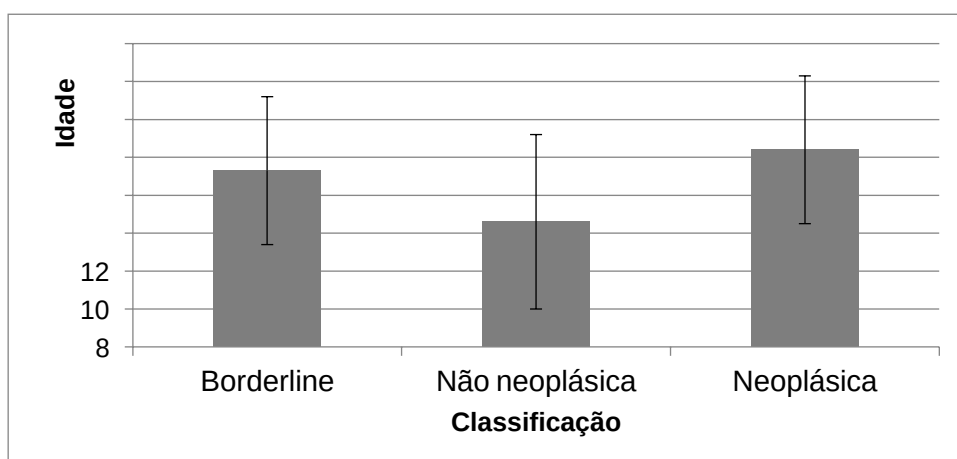
Método de obtenção	Número de amostras	(%)
Revisão Bloco de parafina	8	2,63
Colonoscopia	5	1,64
Endoscopia	110	36,18
Endoscopia e colonoscopia	5	1,64
Laparotomia	174	57,24
Necropsia	2	0,66
Total	304	100

2.3.4 Análise comparativa entre neoplásicos x não neoplásicos x borderlines

Ao segregar os casos de acordo com a origem em neoplásicos, não neoplásicos e borderlines, as lesões não neoplásicas foram as mais prevalentes, correspondendo a 56,58% (n=172) do diagnóstico total, as lesões neoplásicas corresponderam a 38,16% (n=116) e em 5,26% (n=16) a lesão foi classificada como borderline.

A média de idade entre os grupos foi diferente, o grupo de lesões neoplásicas foi o que apresentou maior média de idade com $10,4 \pm 3,9$ anos, a média de idade entre os pacientes com lesões não neoplásicas foi de $6,6 \pm 4,6$ anos, enquanto no grupo borderline a média encontrada foi de $9,3 \pm 3,9$ anos, conforme ilustra o Gráfico 2.

Gráfico 2 – Média e desvio padrão de idade dos pacientes felinos de acordo com a classificação em neoplásicos, não neoplásicos e borderlines.



O teste de Mann-Whitney revelou que houve diferença significativa de idade entre os grupos ($P < 0,0001$) neoplásicas e não neoplásicas, a idade do grupo neoplásicas foi significativamente maior que a idade do grupo não neoplásicas. Não houve diferença significativa de idade, entre os grupos borderline e neoplásica, e borderline e não neoplásicas.

Relativamente às raças, o gato mestiço ou SRD, prevaleceu em todos os grupos, dentre as lesões neoplásicas o SRD prevaleceu em 82% ($n=95$) dos casos, dentre as lesões não neoplásicas representou 66% ($n=113$) e em 88% ($n=14$) das lesões classificadas como borderlines.

No grupo de lesões neoplásicas, os gatos machos foram os mais prevalentes correspondendo a 56% ($n=65$), bem como no grupo das lesões não neoplásicas, no qual os machos corresponderam a 54% ($n=93$) dos casos. No grupo borderline, as fêmeas representaram 56,25% ($n=9$) dos casos, os machos 37,5% ($n=6$) e 6,25% ($n=1$) a informação sobre o sexo não estava disponível.

2.4.4 Idades - Média e desvio padrão de cada diagnóstico histológico

Acerca da idade da população estudada foram calculadas a média e o desvio padrão da média, de acordo com cada diagnóstico histológico. O grupo linfoma intestinal de baixo grau obteve a maior média de idade, com 11.71 ± 3.33 anos em comparação com os demais diagnósticos.

Em relação aos demais diagnósticos neoplásicos, para o grupo carcinoma intestinal a média e o desvio foi de 10.41 ± 3.83 anos, enquanto para o grupo linfoma intestinal de grandes células foi de 9.47 ± 4.06 anos. No mastocitoma intestinal a média e o desvio foi de 11.67 ± 1.53 anos enquanto para o sarcoma intestinal foi de 8.71 ± 4.23 anos, o grupo de neoplasia indiferenciada de células redondas foi teve média de 9 ± 6.78 anos.

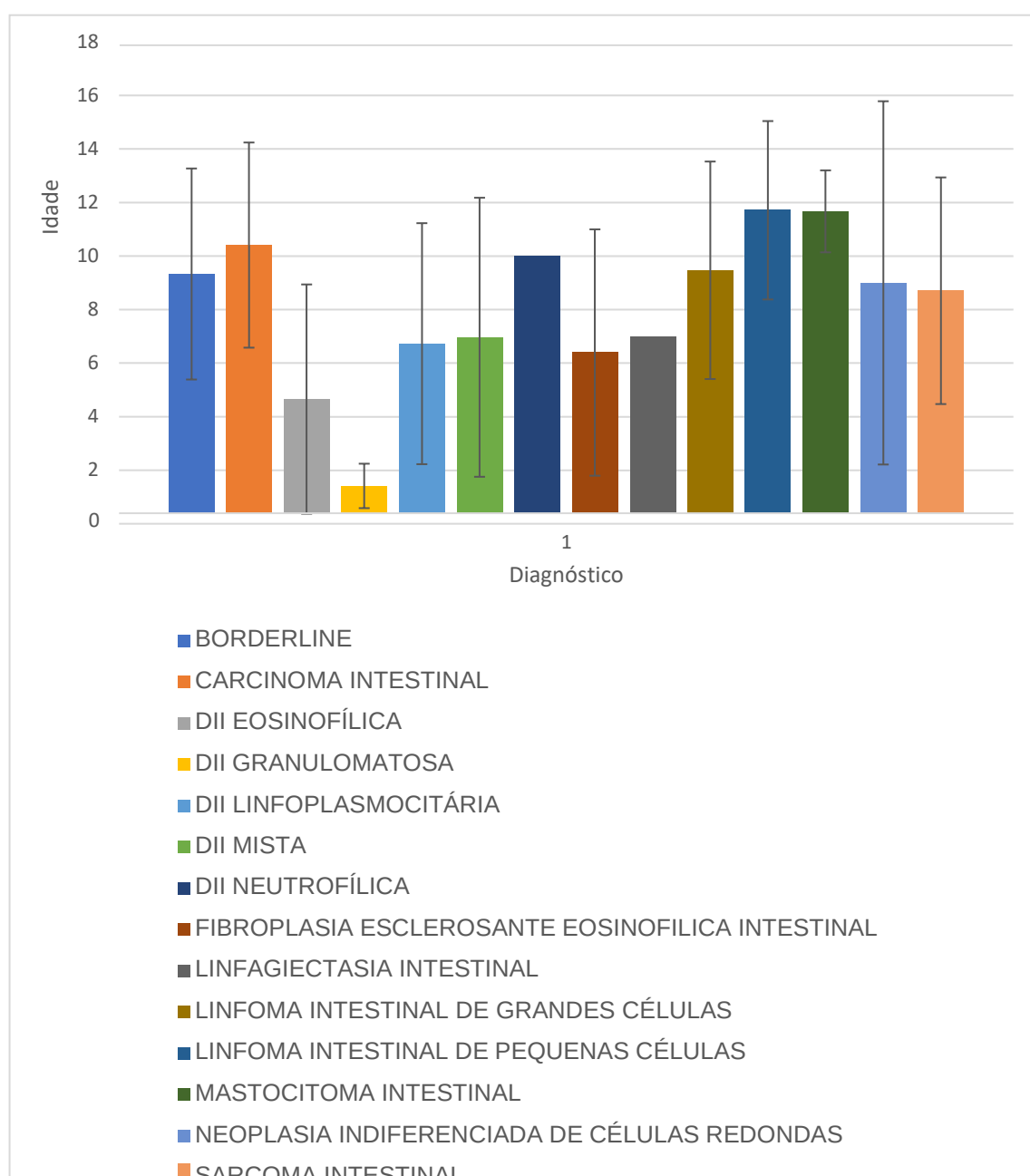
O grupo classificado como borderline teve média de idade de 9.33 ± 3.94 anos. No que diz respeito às doenças inflamatórias, para o

grupo DII linfoplasmocitária a média e o desvio foram de 6.73 ± 4.5 anos, para DII eosinofílica foi de 4.66 ± 4.28 anos, para DII mista foi de 6.97 ± 5.21 anos enquanto para a granulomatosa foi de 1.42 ± 0.83 anos.

Para a fibroplasia esclerosante eosinofílica felina a média de idade foi de $6,4 \pm 4,5$. O desvio padrão não foi calculado para as amostras diagnosticadas como linfangiectasia intestinal e DII neutrofílica, porque ambas foram representadas por apenas um caso, a idade dos pacientes era de 7 e 10 anos, respectivamente.

Os dados relativos à distribuição da média e desvio de idade de acordo com cada diagnóstico histológico é apresentada no Gráfico 3.

Gráfico 3 – Distribuição da idade (média e desvio) de acordo com cada diagnóstico histológico oriundo de amostras intestinais felinas.



2.4.5 Distribuição de raças de acordo com o diagnóstico

A predominância racial de cada grupo diagnóstico foi analisada, para tal é importante reforçar que os gatos sem raça definida (SRD), representaram 73,68% das amostras (n=224) desse estudo.

Para o grupo linfoma intestinal de baixo grau (n=32), a raça mais predominante foi o SRD correspondendo a 84,37% (n=27), seguida pelo persa representado 6,25% (n=2) e o siamês também representando 6,25% (n=2) das amostras, em uma amostra (3,12%) a raça do paciente não estava informada.

No grupo linfoma intestinal de alto grau (n=31), o SRD correspondeu a 80,65% (n=25) das amostras, o persa representou 9,68% (n=3) e o siamês contribuiu com 6,45% (n=2) dos casos, em uma amostra a raça do paciente não era informada.

Para o grupo carcinoma intestinal (n=36), 77,78% (n=28) dos pacientes eram SRD, 8,33% (n=3) eram siameses, o pelo curto brasileiro e o British contemplaram 1 caso cada um (2,78%). Em 3 amostras (8,33%) desse grupo a raça não foi informada.

No grupo mastocitoma intestinal 100% (n=3) das amostras eram de pacientes SRD. Para os sarcomas intestinais (n=9), 88,89% (n=8) dos afetados era do grupo SRD e apenas um (11,11%) era persa. Nas neoplasias indiferenciadas de células redondas (n=5), 80% (n=4) dos pacientes eram SRD e apenas um (20%) era persa.

No grupo DII linfoplasmocitária (n=130), os animais SRD representaram 70,54% (n=91) dos casos, os persas vieram na sequência com 17,83% (n=23) dos casos, seguidos pelo siamês com 2,33% (n=3), ragdoll, himalaia e pelo curto brasileiro representaram 1,55% (n=2) cada um, enquanto o bengal, exótico de pelo curto e sagrado da birmania representaram 0,78% (n=1) cada um. Nesse grupo, 3 amostras (2,33%) não possuíam identificação quanto a raça.

No grupo DII mista (n=23), 56,52% (n=13) dos pacientes eram SRD, na sequência predominam os siameses com 13,04% (n=3), os

persas representaram 8,69% (n=2), american short hair, himalaio e maine coon representam 4,35% (n=1) cada um.

Duas amostras (8,69%) não possuíam identificação quanto a raça. Na DII eosinofílica (n=10), 70% (n=7) dos pacientes eram SRD, os restantes eram um siamês (10%), um persa (10%) e um exótico de pelo curto (10%). Na DII granulomatosa (n=2), ambos os casos ocorreram em pacientes SRD. A DII neutrofílica teve apenas um paciente diagnosticado, e esse era SRD.

Com relação a fibroplasia esclerosante eosinofílica intestinal (n=5), 2 pacientes (45%) eram da raça himalaia, 2 (45%) eram persas e 1 paciente era ragdoll. O grupo Borderline (n=16) foi representado por 87,5% (n=14) de SRD's e 12,5%(n=2) de siameses. O único paciente diagnosticado com linfangiectasia intestinal era SRD.

2.4 DISCUSSÃO

Nesse ensaio, as lesões foram agrupadas em 3 diferentes grupos de acordo com sua origem, em lesões inflamatórias, neoplásicas ou borderlines. Ao se comparar as médias de idade dos grupos, verificou-se que os pacientes do grupo de lesões neoplásicas apresentaram uma maior média de idade em relação aos pacientes do grupo de lesões inflamatórias, conforme já relatado por outros autores (Norsworthy et al., 2015).

O grupo borderline, caracterizado pela presença de infiltrado linfoplasmocitário no qual não se podia diferenciar entre doença inflamatória e linfoma de baixo grau, não apresentou uma diferença de idade estatisticamente significativa em relação aos grupos de lesões neoplásicas e não neoplásicas.

Esse estudo identificou uma alta prevalência de lesões de origem inflamatória acometendo o trato gastrointestinal felino, com a DII linfoplasmocitária sendo o principal diagnóstico histológico encontrado.

A DII linfoplasmocitária é o tipo de lesão inflamatória mais prevalente no intestino de cães e gatos (Hall & German, 2008; Kleinschmidt et al.,

2010; García-Sancho et al., 2011; Gaschen, 2011; Maeda et al., 2012; Rossi et al., 2015). No estudo de Gameiro e colaboradores (2016) evidenciou-se que 63,6% dos diagnósticos histológicos de amostras intestinais felinas eram compatíveis com infiltrado inflamatório.

Os dados publicados por Kleinschmidt et al (2010) também demonstraram um predomínio das lesões inflamatórias, de 43 amostras de biopsias intestinais de espessura total em gatos, 46,5% delas foram classificadas como lesões inflamatórias ou de origem não neoplásica, com as infiltrações linfoplasmocitárias sendo as lesões mais frequentemente encontradas.

Para interpretação desses resultados é importante considerar que o diagnóstico final de DII linfoplasmocitária passa pela exclusão de outras potenciais causas de infiltração inflamatória (Barrs e Beatty, 2012; Baral, 2012).

Considera-se que antes da coleta de biopsias intestinais, diversas outras condições como disbiose, infecções crônicas (Histoplasmose, toxoplasmose, parasitas), intolerância alimentar ou hipersensibilidade alimentar tenham sido descartadas pelo clínico (Baral, 2012), já que essas alterações são causas reconhecidas para indução da infiltração de células inflamatórias em mucosa intestinal (Jergens et al., 1992; Scott et al., 2011).

O termo triade ou triadite felina descreve a infiltração inflamatória concomitante de mucosa intestinal, pâncreas e sistema hepato-biliar, culminando em doença inflamatória intestinal, pancreatite e colangite, respectivamente (Simpson, 2015).

A avaliação concomitante das amostras extra-intestinais não era o foco do nosso estudo, porém, diante da suspeita de DII, a coleta de amostras de pâncreas e fígado, pode auxiliar no direcionamento do diagnóstico.

No estudo de Kleinschmidt et al (2010), dentre os pacientes que apresentavam diagnóstico compatível com doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária, em três casos a coleta de amostras extra-intestinais

confirmou o diagnóstico de tríade felina.

Nesse ensaio, a idade média ao diagnóstico de DII linfoplasmocitária foi 6.73 (intervalo 10 meses a 17 anos), compatível com a faixa etária considerada predisposta pela literatura, que são animais de meia-idade a idosos (Reche Junior e Del Barrio, 2003; Jergens et al., 2010).

Gatos de todas as raças podem ser acometidos, embora os siameses e outras raças como o persa e o asiático pareçam super-representadas em alguns estudos (Guilford et al., 1996; Fergunson e Gaschen, 2009; Jergens, 2012).

Em nossa coorte, 70,54% dos gatos com DII linfoplasmocitária eram SRD e figurando em segundo lugar os persas com 17,83% dos casos, isso pode ser explicado em partes pela alta popularidade dos gatos sem raça definida no Brasil, em nosso estudo, das 304 amostras totais, 224 (73,68%) pertenciam a pacientes SRD.

As lesões neoplásicas que acometem o intestino felino são consideradas raras (Suwa e Shimoda, 2017), com exceção dos linfomas localizados em TGI que representam de 44%-63% de todos os tumores intestinais felinos (Brodey, 1966; Bonfanti et al., 2006; Risseto et al., 2011).

Nesse estudo, as lesões neoplásicas corresponderam a 38,16% de todos os diagnósticos, e dentre as neoplasias intestinais felinas, os linfomas foram os mais prevalentes, correspondendo a 54,31% de todos os diagnósticos neoplásicos.

Esse dado corrobora com o estudo de Gameiro (2016) no qual o linfoma intestinal também predominou como principal tipo de tumor que acomete essa região anatômica, correspondendo a 67,5% dos diagnósticos neoplásicos no intestino felino.

Em nosso ensaio, a distribuição de linfomas de baixo e grau alto foram semelhantes, sendo que os linfomas de baixo grau corresponderam a 27,59% dos casos e os linfomas de alto grau a 26,72%.

A diferenciação histológica entre linfoma de baixo e alto grau é simples, os linfomas de alto grau possuem linfócitos de tamanho

intermediário a grandes e alto índice mitótico, enquanto os linfomas de baixo grau são constituídos por pequenos linfócitos com baixo índice mitótico (Kiupel et al., 2011).

A maior dificuldade enfrentada por clínicos e patologistas é a diferenciação do linfoma de baixo grau e da DII linfoplasmocitária, já que ambos compartilham achados clínicos e histológicos semelhantes (Marsílio, 2021).

A diferenciação entre LIBG e DII linfoplasmocitária é muito importante devido as diferentes abordagens terapêuticas e o diferente prognóstico proposto para cada afecção.

Um agravante que pode confundir ou complicar ainda mais o diagnóstico é a possibilidade da DII linfoplasmocitária ser uma manifestação prévia do linfoma intestinal (McGain, 2009) ou da possível transformação da DII linfoplasmocitária em linfoma (Hall, 2007; Gieger, 2011).

No presente estudo, a média de idade ao diagnóstico de LIBG foi de 11,7 anos (intervalo 7-17 anos), corroborando com dados publicados na literatura, que apontam que os linfomas de baixo grau acometem especialmente pacientes idosos, com idade média relatada de 12,5 anos (Kiselow et al., 2008; Lingard et al., 2009; Stein et al., 2010).

Ao se comparar com o LIBG, a média de idade ao diagnóstico de DII linfoplasmocitária foi consideravelmente inferior (6,7 anos) e inferior também a média de idade relatada na literatura que é de 8 anos (Waly et al., 2004; Janeczko et al., 2008; Jergens et al., 2010; Marsilio et al., 2019).

Entretanto, analisando-se os intervalos de idade descritos, evidencia-se que a faixa etária de ambos os distúrbios tende a se sobrepor, conforme já foi relatado por outros autores (Marsílio, 2021).

Em nosso ensaio, os adenocarcinomas foram o principal tipo de tumor não linfoide que afeta que o trato gastrointestinal felino, corroborando com dados já publicados na literatura (Risseto et al., 2011; Suwa e Shimoda, 2017).

Eles representaram 31% dos diagnósticos neoplásicos, sendo o

segundo tipo de tumor mais comumente identificado nas biopsias intestinais felinas, semelhante aos achados de Gameiro (2016) no qual os adenocarcinomas representaram 30,2% dos diagnósticos neoplásicos.

Os adenocarcinomas comumente afetam o intestino delgado (Czajkowski et al., 2022) e a idade média ao diagnóstico de adenocarcinoma intestinal encontrada nesse ensaio foi de 10,4 anos, compatível com a média descrita na literatura que aponta idade média ao diagnóstico variando entre 8,7 a 11,3 anos (Birchard et al., 1986; Patnaik et al., 1976), entretanto, no estudo de Green e colaboradores (2011) a média de idade dos pacientes acometidos pelo adenocarcinoma intestinal foi de 14 anos.

Corroborando com os nossos achados, no estudo de Green e colaboradores (2011), o gato doméstico de pelo curto, ou também nomeado como gato sem raça definida, foi o mais prevalente para o diagnóstico de adenocarcinoma intestinal.

Nesse ensaio, percebemos que a segunda raça mais prevalente para esse diagnóstico foi o siamês. Historicamente, os gatos siameses ganham destaque na prevalência dos adenocarcinomas intestinais (Birchard et al., 1986; Patnaik et al., 1975; Turk et al., 1981; Cribb et al., 1988; Risetto et al., 2011; Czajkowski et al., 2022).

Curiosamente, os sarcomas intestinais felinos foram o terceiro tipo neoplásico mais comumente diagnosticado nessa coorte, dentre os principais tipos histológicos agrupados nesse grupo estão o leiomiossarcoma, tumor gastrointestinal estromal (GIST) e hemangioossarcoma intestinal.

O hemangioossarcoma primário do intestino é considerado raro na espécie felina (Patnaik e Liu, 1977; Scavelli et al., 1985; Sharpe et al., 2000), bem como o GIST (Won et al., 2017). O leiomiossarcoma intestinal é uma neoplasia de musculatura lisa considerada incomum na espécie, sendo muito mais pesquisada na espécie canina devido a maior prevalência (Munday et al., 2017).

No estudo de Risetto e colaboradores (2011), dentre as 1.129

amostras intestinais felinas, nenhum GIST foi identificado, e apenas 14 amostras (1,2%) correspondiam ao diagnóstico de leiomiossarcoma, que se localizava especialmente em estômago e intestino delgado.

Os sarcomas intestinais de forma geral não apresentaram predisposição racial ou sexual definida, e assim como em outras neoplasias os animais mais acometidos são geriátricos, com média de idade de 12 anos para o leiomiossarcoma intestinal (Barrand e Scudamore, 1999). Em nosso estudo, a faixa etária média dos pacientes agrupados no grupo sarcomas intestinais foi de 8.71 ± 4.23 anos.

Nossos achados sobre a prevalência dos mastocitomas intestinais felinos, contrastam com dados epidemiológicos previamente publicados, nos quais esse tipo neoplásico, apesar de incomum, figura entre os três tumores mais comuns no TGI felino (Vail et al., 1997; Head et al., 2002; Bonfanti et al., 2006; Risseto et al., 2011).

No presente estudo, a prevalência dos mastocitomas intestinais foi considerada baixa, correspondendo a apenas 2,59% dos casos neoplásicos, enquanto no estudo de Risseto et al (2011), os mastocitomas intestinais corresponderam a 4% das neoplasias intestinais em gatos.

Não existe uma predisposição racial ou sexual definida para ocorrência dos mastocitomas intestinais, mas os gatos geriátricos tendem a ser os mais afetados, nesse ensaio a média de idade foi de 11,67 anos.

No estudo de Halsey et al (2010) a média de idade para o diagnóstico de mastocitoma intestinal esclerosante felino foi de 8 anos, enquanto no estudo de Barrett et al (2017) a idade média ao diagnóstico foi de 13 anos, já no estudo de Risseto et al (2011) 65% dos casos de mastocitoma intestinal foram diagnosticados em felinos de 11-15 anos de idade, com média de 12,5 anos.

A fibroplasia eosinofílica esclerosante felina (FEEF) é um diagnóstico diferencial para a presença de massas localizadas em TGI. Nesse estudo o diagnóstico de FEEF correspondeu a 1,65% (n=5) do total de amostras e 2,91% das lesões classificadas como não

neoplásicas.

Trata-se de uma afecção idiopática que macroscopicamente pode ser confundida com linfomas, adenocarcinomas ou granulomas, e microscopicamente têm como diagnóstico diferencial os mastocitomas intestinais esclerosantes, fibrossarcomas e osteossarcomas extra-esqueléticos (Linton et al., 2015).

Por esse motivo, consideramos pontuar a incidência da fibroplasia esclerosante nessa coorte, justamente porque essas lesões podem mimetizar lesões neoplásicas e confundir o clínico. Em um estudo que envolveu 25 gatos, 24% dos pacientes foram eutanasiados devido a aparência maligna da lesão visualizada durante a laparotomia (Craig et al., 2009).

Grau-Roma e colaboradores (2014) descreveram um caso de um paciente felino, persa, de 9 anos que apresentava uma massa de 10 cm na região entre piloro e duodeno proximal, histologicamente compatível com FEEF. Esse caso foi o primeiro caso descrito da ocorrência de FEEF associada com a presença de infecção fúngica, sinalizando a importância da investigação de doenças concomitantes.

No presente estudo, 5 pacientes foram diagnosticados com FEEF, sendo 3 machos e 2 fêmeas, todos de raça pura, sendo 2 himalaio, 2 persas e 1 ragdoll, a média de idade ao diagnóstico de 6,7 anos (intervalo de 3 a 11 anos).

Enquanto no estudo de Weissman e colaboradores (2012) 4 pacientes foram diagnosticados com FEEF, eram 3 machos e 1 fêmea, a média de idade ao diagnóstico foi de 8 anos (intervalo de 5 a 11 anos).

No estudo de Linton e colaboradores (2015), haviam treze pacientes com diagnóstico histológico de FEEF, desses 9/13 eram machos, a idade média dos pacientes era de 7 anos (intervalo de 2 a 11 anos) e os ragdolls foram significativamente representados.

Em relação aos métodos de obtenção das amostras intestinais, no presente estudo, a laparotomia, a enterectomia e a colectomia foram agrupadas no mesmo grupo, nomeado como laparotomia.

Esse grupo foi o mais numeroso, das 304 amostras, o correspondente a 57,23% (n=174) foram incluídas no grupo laparotomia, 36,18% (n=110) eram do grupo endoscopia, em 2,63% (n=8) o diagnóstico foi obtido por revisão de blocos de parafina enviados para análise, nos quais a informação sobre o método de obtenção da amostra não estava disponível.

Em 1,65% (n=5) dos casos a amostra foi coletada pela associação de endoscopia e colonoscopia e em outros 1,65%(n=5) a colonoscopia foi o método eleito. Em apenas 0,66% (n=2) dos casos a amostra foi obtida após necropsia.

No estudo de Gameiro (2016) 52% das amostras gastrointestinais de cães e gatos foram coletados através de endoscopia gastrointestinal alta e baixa, porém a laparotomia com enterectomia e colectomia foram métodos mais realizados em pacientes felinos em relação aos caninos.

A coleta de amostras de espessura total é especialmente indicada nos casos de doenças inflamatórias ou neoplásicas do trato gastrointestinal felino (Gaschen, 2011), a maior desvantagem das biopsias endoscópicas é a limitação da seleção de locais a serem biopsiados e o fato de permitirem avaliação apenas da camada mucosa (Evans et al., 2006; Kleinschmidt et al., 2006).

Além disso, o LIBG frequentemente é uma doença difusa que afeta mais de uma região do TGI felino de forma concomitante, o comprometimento da região de jejuno e íleo costuma estar presente em 90% dos casos (Evans et al., 2006; Lingard et al., 2009; Briscoe et al., 2011; Paulin et al., 2018). No estudo de Freiche et al (2021), 22% dos linfomas de baixo grau foram identificados no íleo.

Portanto, a obtenção de amostras de jejuno e íleo é sempre que possível indicada, para aumentar a acurácia diagnóstica, nesse sentido, as biopsias endoscópicas possuem a grave limitação de alcançar apenas o jejuno proximal, e paratal, serem dependentes do tipo de aparelho e do operador (Moore et al., 2012; Paulin et al., 2018).

Esse estudo possui algumas limitações, iniciando-se pela sua

natureza retrospectiva. As informações obtidas das requisições laboratoriais não eram completas em todos os casos, além disso, dados relacionados a apresentação clínica, evolução e métodos de tratamento empregados previamente à biopsia não estavam disponíveis.

Como o diagnóstico de DII é um diagnóstico de exclusão, para tal, uma abordagem sequencial que envolve a exclusão de outras causas relacionadas com aquisição de infiltrados inflamatórios deve ser adotada, infelizmente, esses dados clínicos não compuseram nosso banco de dados, e a morfologia e arquitetura celular foram as principais ferramentas empregadas para obter o diagnóstico.

Entretanto, esse estudo evidencia os principais diagnósticos histológicos obtidos de uma coorte numerosa de pacientes felinos submetidos a biopsias intestinais no Brasil, em um contexto em que dados epidemiológicos brasileiros publicados acerca do tema são considerados escassos.

2.5 CONCLUSÕES

Esse estudo retrospectivo epidemiológico avaliou 304 registros histopatológicos de amostras intestinais felinas e verificou que as lesões de origem inflamatória foram as mais prevalentes, representando 56,58% dos casos, na sequência as lesões neoplásicas figuraram com 38,16%. As lesões classificadas como borderlines representaram 5,26% dos casos, nas quais, a diferenciação entre LIBG e DII linfoplasmocitária não foi definitiva, e o exame imunoistoquímico era fortemente sugerido para complementação diagnóstica.

Dentre todas as amostras intestinais felinas, o diagnóstico histológico mais prevalente foi de DII linfoplasmocitária correspondendo a 42,76% de todos os diagnósticos, enquanto dentre os diagnósticos neoplásicos, o linfoma intestinal foi o mais prevalente correspondendo a 54,3% de todos os tumores que afetam o TGI felino.

Ao segregar os tipos de linfomas em baixo e alto grau, o

diagnóstico neoplásico mais comum foi de adenocarcinoma intestinal (11,84%), seguido linfoma intestinal de baixo grau (10,53%) e pelo linfoma intestinal de alto grau (10,2%), curiosamente, nesse estudo, os sarcomas intestinais (2,96%) foram mais prevalentes em relação aos mastocitomas intestinais (0,99%).

Ao se comparar as médias de idade nos grupos de lesões neoplásicas, não neoplásicas e borderline, verificou-se que houve diferença significativamente estatística entre as idades dos pacientes agrupados nos grupos de lesões neoplásicas x não neoplásicas, com os pacientes do grupo de lesões neoplásicas apresentando uma maior média de idade. O grupo borderline não apresentou uma diferença de idade estatisticamente significativa em relação aos grupos de lesões neoplásicas e não neoplásicas.

A idade média ao diagnóstico de DII e LIB foram respectivamente 11,9 e 5,5 anos, porém, a faixa etária de ambos os distúrbios tendem a se sobrepor, o paciente mais jovem com LIBG tinha 7 anos e o mais idoso tinha 17 anos, enquanto no grupo DII o paciente mais jovem tinha 10 meses e o mais idoso tinha 17 anos.

No que se refere aos métodos de obtenção de amostras intestinais felinas, a laparotomia foi o método eleito na maioria dos casos (57,23%), isso pode em partes justificar o baixo número de pacientes classificados no grupo Borderline (5,25%), em que a diferenciação de DII e LIBG não pôde ser garantida apenas pela análise isolada da morfologia e arquitetura celular.

Esses dados possibilitam compreender a distribuição das lesões histopatológicas que acometem o trato gastrointestinal felino, demonstrando a prevalência das infiltrações inflamatórias e a caracterização dos principais tumores que afetam esse sítio anatômico.

2.6 REFERÊNCIAS

- 1 Avallone G, Rasotto R, Chambers JK, Miller AD, Behling-Kelly E et al (2021) Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. **Vet. Pathol.** 58, 809–828.
- 2 Baral, R. M (2012) Diseases of the intestines – Inflammatory Bowel Disease. In: Little, S. E. The Cat: **Clinical Medicine and Management**. 1 ed. St Louis: Elsevier - Saunders, section IV, cap. 23, p. 466-469.
- 3 Barrand KR, Scudamore CL. Intestinal leiomyosarcoma in a cat (1999) **J Small Anim Pract.** May;40(5):216-9.
- 4 Barrett LE, Skorupski K, Brown DC, Weinstein N, Clifford C, Szivek A, Haney S, Kraiza S, Krick EL (2018) Outcome following treatment of feline gastrointestinal mast cell tumours. **Vet Comp Oncol.** 2018 Jun;16(2):188-193.
- 5 Barrs VR and Beatty JA. Feline alimentary lymphoma: Classification, risk factors, clinical signs and non-invasive diagnostics. **J Feline Med Surg**; 14: 182–190 (2012).
- 6 Birchard SJ, Couto CG, Johnson S (1986) Nonlymphoid intestinal neoplasia in 32 dogs and 14 cats. **J Am Anim Hosp Assoc**; 22:533–537.
- 7 Bonfanti U, Bertazzolo W, Bottero E, De Lorenzi D, Marconato L, Masserdotti C, Zatelli A, Zini E (2006) Diagnostic value of cytologic examination of gastrointestinal tract tumors in dogs and cats: 83 cases (2001-2004). **J Am VetMed Assoc**; 1;229(7):1130-3.
- 8 Briscoe KA, Krockenberger M, Beatty JA, Crowley A, Dennis MM, Canfield PJ, et al (2011) Histopathological and immunohistochemical evaluation of 53 cases of feline lymphoplasmacytic enteritis and low-grade alimentary lymphoma. **J Comp Pathol**; 145: 187–198.
- 9 Brodey RS (1966) Alimentary tract neoplasms in the cat: A clinicopathologic survey of 46 cases. **Am J Vet Res.** 27:74–80.
- 10 Carreras JK, Goldschmidt M, Lamb M, et al (2003) Feline epitheliotropic intestinal malignant lymphoma: 10 cases (1997–2000). **J Vet Intern Med**; 17: 326–331.
- 11 Craig LE, Hardam EE, Hertzke dM, et al. (2009) Feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia. **Vet Pathol**; 46: 63–70.
- 12 Cribb AE. Feline gastrointestinal adenocarcinoma: a review and retrospective study. **Can Vet J.** (1988) 29:709–12.

- 13 Czajkowski PS, Parry NM, Wood CA, Casale SA, Phipps WE, Mahoney JA, Spector DI, Price LL, Berg J. (2022) Outcome and Prognostic Factors in Cats Undergoing Resection of Intestinal Adenocarcinomas: 58 Cases (2008-2020). **Front Vet Sci.** 27;9:11666.
- 14 Evans S, Bonczynski J, Broussard J, et al. (2006) Comparison of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. **J Am Vet Med Assoc** ;229:1447–1450.
- 15 Ferguson D, Gachen F. (2009) Doença Intestinal Inflamatória Idiopática Felina. **Veterinary Focus: medicina felina**, Boulogne, v.19, n.2, p. 20-30.
- 16 Freiche V, Cordonnier N, Paulin MV, Huet H et al (2021a) Feline low-grade intestinal T cell lymphoma: a unique natural model of human indolent T cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract. **Lab Invest.** 2021 Jun;101(6):794-804.
- 17 Freiche V, Paulin MV, Cordonnier N, Huet H et al (2021b) Histopathologic, phenotypic, and molecular criteria to discriminate low-grade intestinal T-cell lymphoma in cats from lymphoplasmacytic enteritis. **J Vet Intern Med.** Nov;35(6):2673-2684.
- 18 Gabor, L.J.; Canfield, P.J.; Malik, R (1999) Immunophenotypic and histological characterisation of 109 cases of feline lymphosarcoma. **Aust. Vet. J**, 77, 436–441.
- 19 Gameiro, ACP. **Estudo das doenças do intestino do cão e do gato dignosticadas por histopatologia** (2016) 68 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade Lusófona de Humanidades eTecnologias, Lisboa, Portugal.
- 20 García-Sancho, M., Sainz, Á., Villaescusa, A., Rodríguez, A., & Rodríguez- Franco, F. (2011). White spots on the mucosal surface of the duodenum in dogs with lymphocytic plasmacytic enteritis. **Journal of Veterinary Science**, 12(2), 165-169.
- 21 Gaschen L (2011) Ultrasonography of small intestinal inflammatory and neoplastic diseases in dogs and cats. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**;41(2):329-44.
- 22 Gieger T (2011) Alimentary lymphoma in cats and dogs. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**; 41:419–432.
- 23 Grau-Roma L, Galindo-Cardiel I, Isidoro-Ayza M, Fernandez M, Majó N (2014) A case of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia associated with phycomycetes. **J Comp Pathol** ;151(4):318-21.

- 24 Green ML, Smith JD, Kass PH (2011) Surgical versus non-surgical treatment of feline small intestinal adenocarcinoma and the influence of metastasis on long-term survival in 18 cats (2000-2007). **Can Vet J** ;52(10):1101-5.
- 25 Guilford WG (1996) Idiopathic inflammatory bowel diseases. In: Guilford WG (ed). **Strombeck's Small animal gastroenterology**. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, pp 451–486.
- 26 Guilford WG, Jones BR, Markwell PJ, Arthur DG, Collett MG and Harte JG. Food sensitivity in cats with chronic idiopathic gastrointestinal problems. **J Vet Intern Med** 2001; 15: 7–13.
- 27 Hall EJ, German AJ (2007) Enfermedades del intestino delgado. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. **Tratado de Medicina interna veterinaria**. 6th ed. Madrid, Spain: Elsevier Saunders: 1332–1378.
- 28 Hall, EJ, German, AJ (2008) Diseases that affect more than one organ of the gastrointestinal Tract. In: M.J. Steiner (Ed.), **Small Animal Gastroenterology**. Hanôver, Alemanha, 1.^a Ed., pp. 307-351.
- 29 Halsey, C.H.C., B.E. Powers, and D.A. Kamstock (2010) Feline intestinal sclerosing mast cell tumour: 50 cases (1997–2008). **Veterinary and Comparative Oncology**; 8(1): p. 72-79.
- 30 Head KW, Else RW, Dubielzig RR (2002) Tumors of the alimentary tract. In: **Tumors in Domestic Animals**, 4th edn., DJ Meuten, ed., Ames, IA, Blackwell Publishing Co, 401–482.
- 31 Janeczko, S., Atwater, D., Bogel, E., et al. (2008) The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. **Veterinary Microbiology** 128,178-193.
- 32 Jergens AE (2012) Feline idiopathic inflammatory bowel disease: what we know and what remains to be unraveled. **J Feline Med Surg**; 14(7):445-58.
- 33 Jergens AE, Moore FM, Haynes JS, Miles KG (1992) Idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats: 84 cases (1987-1990). **J Am Vet Med Assoc** 201, 1603- 1608.
- 34 Jergens AE, Simpson KW (2012) Inflammatory bowel disease in veterinary medicine. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012 Jan 1;4(4):1404-19.
- 35 Jergens, A. E., Crandell, J. M., Evans, R., et al. (2010) A clinical index for disease activity in cats with chronic enteropathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 24, 1027-1033.
- 36 Kehl A, Törner K, Jordan A, Lorenz M, Schwittlick U et al (2022) "Pathological Findings in Gastrointestinal Neoplasms and Polyps in 860 Cats and a Pilot Study on miRNA Analyses" **Veterinary Sciences** 9, no. 9: 477.

- 37 Kiselow MA, Rassnick KM, McDonough SP, et al (2008) Outcome of cats with low grade lymphocytic lymphoma: 41 cases (1995 e 2005). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 232, 405 e 410.
- 38 Kiupel M, Smedley RC, Pfent C, et al (2011) Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. **Vet Pathol**; 48:212-222.
- 39 Kleinschmidt S, Harder J, Nolte I, et al (2010) Chronic inflammatory and noninflammatory diseases of the gastrointestinal tract in cats: diagnostic advantages of full-thickness intestinal and extraintestinal biopsies. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 12, 97 e 103.
- 40 Kleinschmidt S, Meneses F, Nolte I, et al (2006) Retrospective study on the diagnostic value of full-thickness biopsies from the stomach and intestines of dogs with chronic gastrointestinal disease symptoms. **Vet Pathol**;43:1000– 1003.
- 41 Kosovsky JE, Matthiesen DT, Patnaik AK (1988) Small intestinal adenocarcinoma in cats: 32 cases (1978–1985) **J Am Vet Med Assoc**;192:233–235.
- 42 Lingard AE, Briscoe K, Beatty JA, Moore AS, Crowley AM, Krockenberger M, et al (2009) Low-grade alimentary lymphoma: clinicopathological findings and response to treatment in 17 cases. **J Feline Med Surg**; 11: 692–700.
- 43 Linton M, Nimmo JS, Norris JM, et al (2015) Feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia: 13 cases and review of an emerging clinical entity. **J Feline Med Surg**; 17: 392–404.
- 44 Maeda, S., Ohno, K., Nakamura, K., Uchida, K., Nakashima, K., Fukushima, K., Tsukamoto, A., et al. (2012). Mucosal imbalance of interleukin-1 b and interleukin1 receptor antagonist in canine inflammatory bowel disease. **The Veterinary Journal**, 194(1), 66-70.
- 45 Marsilio S. (2021) Feline chronic enteropathy. **J Small Anim Pract** ;62(6):409-419.
- 46 Marsilio, S., Pilla, R., Sarawichitr, B., et al. (2019) Characterization of the fecal microbiome in cats with inflammatory bowel disease or alimentary small cell lymphoma. **Scientific Reports** 9, 19208.
- 47 Maunder CL, Reynolds ZF, Peacock L, Hall EJ, Day MJ, Cogan TA (2016) *Campylobacter* Species and Neutrophilic Inflammatory Bowel Disease in Cats. **J Vet Intern Med**;30(4):996-1001.
- 48 MCGain, MD. Patologia dos sistemas dos órgãos. **Bases da patologia em veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. cap. 7, p. 378-391.
- 49 Moore PF, Rodriguez-Bertos A, Kass PH (2012) Feline gastrointestinal lymphoma: mucosal architecture, immunophenotype, and molecular clonality. **Vet Pathol**; 49:658-668.

- 50 Munday JS, Löhr CV, Kiupel M. (2017) Tumors of the alimentary tract. In: Meuten DJ (ed). **Tumors in domestic animals**. 5th ed. Ames, IA: John Wiley, pp 554–587.
- 51 Norsworthy, G. D., Estep, J. S., Hollinger, C., et al. (2015) Prevalence and underlying causes of histologic abnormalities in cats suspected to have chronic small bowel disease: 300 cases (2008-2013). **Journal of the American Veterinary Medical Association**; 247, 629-635.
- 52 Patnaik AK, Liu SK(1977) Angiosarcoma in cats. **Journal of Small Animal Practice** 18, 191-198.
- 53 Patnaik AK, Liu S-K, Hurvitz AI, McClelland AJ (1975) Nonhematopoietic neoplasms in cats. **J Natl Can Inst** ;54:855–860.
- 54 Patnaik AK, Liu S-K, Johnson GF (1976) Feline intestinal adenocarcinoma (A clinicopathologic study of 22 cases) **Vet Pathol**; 13:1–10.
- 55 Paulin MV, Couronne L, Beguin J, et al (2018) Feline low-grade alimentary lymphoma: an emerging entity and a potential animal model for human disease. **BMC Vet Res**; 14:306-319.
- 56 Reche Junior, Barrio MAM (2033) Doença Intestinal Inflamatória Crônica. In: SOUZA, Heloisa Justen Moreira de. **Coletâneas em Medicina e Cirurgia Felina**. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária, Cap. 12, p. 155-163.
- 57 Risetto K, Villamil JA, Selting KA, et al (2011) Recent trends in feline intestinal neoplasia: an epidemiologic study of 1,129 cases in the veterinary medical database from 1964 to 2004. **J Am Anim Hosp Assoc**; 47: 28–36.
- 58 Rossi G, Cerquetella M, Antonelli E, Pengo G et al. (2015). The importance of histologic parameters of lacteal involvement in cases of canine lymphoplasmacytic enteritis. **Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench**, 8(1), 33-41.
- 59 Scavelli TD, Patnaik AK, Mehlhaff CJ, Hayes AA (1985) Hemangiosarcoma in the cat: retrospective evaluation of 31 surgical cases. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 187, 817- 819.
- 60 Schnieder T, Laabs E, Welz C (2011) Larval development of *Toxocara canis* in dogs. **Veterinary Parasitology**, 175, 193-206
- 61 Scott KD, Zoran DL, Mansell J, et al (2011) Utility of endoscopic biopsies of the duodenum and ileum for diagnosis of inflammatory bowel disease and small cell lymphoma in cats. **J Vet Intern Med**; 25(6):1253-7.
- 62 Sharpe A, Cannon MJ, Lucke VM, Day MJ (2000). Intestinal haemangiosarcoma in the cat: clinical and pathological features of four cases. **Journal of Small Animal Practice**, 41(9), 411-415.
- 63 Simpson KW (2015) Pancreatitis and triaditis in cats: causes and

- treatment. **J Small Anim Pract**; 56(1):40-9. doi: 10.1111/jsap.12313.
- 64 Stein, TJ; Pellin; Mackenzie Pellin, BS; Howard, S et al (2010) Treatment of Feline Gastrointestinal Small-Cell Lymphoma with Chlorambucil and Glucocorticoids. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 46, n.6, p. 413-417.
 - 65 Suwa A, Shimoda T (2017) Intestinal gastrointestinal stromal tumor in a cat. **The Journal of Veterinary Medical Science**; 79, 562–566.
 - 66 Thamm D. (2015) **GI Tumours in cats: an oncologist's view**. In: BSAVA Congress 2015 Scientific Proceedings: Annual Congress 9th–12th April 2015 Birmingham, 136.
 - 67 Tucker S, Penninck DG, Keating JH, Webster CR (2014) Clinicopathological and ultrasonographic features of cats with eosinophilic enteritis. **J Feline Med Surg**; 16(12):950-6.
 - 68 Turk MA, Gallina AM, Russell TS (1981) Nonhematopoietic gastrointestinal neoplasia in cats: a retrospective study of 44 cases. **Vet Pathol**; 18(5):614–20.
 - 69 Vail DM, Thamm DH. Mast cell tumors (1997) In: **Small Animal Clinical Oncology**, 4th edn., SJ Withrow and EG MacEwen, eds., Philadelphia, WB Saunders Co, 402–424.
 - 70 Valli VE, Myint MS, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F et al (2011) Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. **Veterinary Pathology** 48, 198–211.
 - 71 Waly NE, Stokes CR, Gruffydd-Jones TJ et al (2004) Immune cell populations in the duodenal mucosa of cats with inflammatory bowel disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**; 18, 816–825.
 - 72 Weissman A, Penninck D, Webster C, Hecht S, et al (2013) Ultrasonographic and clinicopathological features of feline gastrointestinal eosinophilic sclerosing fibroplasia in four cats. **J Feline Med Surg**; 15(2):148-54.
 - 73 Won S, Kim Y, Yoon J (2019) Use of imatinib mesylate in a cat with gastrointestinal stromal tumour. **Veterinary Record Case Reports**. p2019;7:e000714.

CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE CD3 E KI67 NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL LINFOPLOSMOCITÁRIA E NO LINFOMA INTESTINAL DE BAIXO GRAU T EM FELINOS

3.1 INTRODUÇÃO

A doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária (DII) e o linfoma intestinal de baixo grau (LIBG) constituem duas das principais enteropatias felinas, e possuem grande importância na medicina felina devido à alta prevalência (Al-Ghazlatet al., 2013; Marsílio, 2021).

Ambos os distúrbios compartilham diversas semelhanças entre si, seja em âmbito clínico, laboratorial, ultrassonográfico ((Kiupel et al., 2011; Moore et al., 2012; Daniaux et al., 2014) e até mesmo histopatológico.

Os achados histológicos tendem a ser muito similares, com a presença de massiva população de pequenos linfócitos infiltrados. Muitos estudos têm apontado a presença concomitante de sinais histológicos de inflamação linfoplasmocitária e linfoma intestinal de baixo grau, ressaltando a possibilidade de progressão de DII para LIBG (Marsílio, 2021) e de ambas as afecções serem contíguas (Freiche et al., 2021b).

Além desses fatores, o alto nível de variabilidade interobservadores já constatada nesse tipo de análise também pode atrasar ou confundir o diagnóstico (Willard et al., 2002; Jergens et al., 2014).

A correta e precoce diferenciação de ambas as doenças afeta diretamente no tratamento e prognóstico dos afetados, para tal, o exame imunoistoquímico (IHQ) é uma ferramenta diagnóstica adicional que deve ser empregada para auxiliar nesse processo.

A imunofenotipagem dos linfomas pode ser considerada como uma etapa crucial na definição do tratamento e prognóstico desses tumores (Moore et al., 2012; Paulin et al., 2018; Freiche et al., 2021a).

Os linfomas alimentares podem ser classificados de acordo com seu grau histológico (baixo, intermediário e alto), tamanho celular (pequenas ou grandes células) e fenótipo dos linfócitos neoplásicos (T ou

B) (Moore et al., 2011; Barrs e Beatty, 2012; Willard, 2012; Chino et al., 2013; Wolfesberger et al., 2017).

Sabidamente a maioria dos linfomas de baixo grau que afetam o trato gastrointestinal felino são linfomas de baixo grau e imunofenótipo T (LIBG-T) (Waly et al., 2005; Sabattini et al., 2016), ou seja, as células neoplásicas são originárias de uma única linhagem celular que são os linfócitos T (CD3 +).

Na DII linfoplasmocitária, a população celular é mista, contendo diversos tipos celulares como plasmócitos e linfócitos de linhagem T e B, mas os linfócitos CD3+ possuem uma baixa expressão (Freiche et al., 2021b).

Estudos anteriores demonstram em que 15,6% a 45,8% dos pacientes inicialmente diagnosticados com DII linfoplasmocitária por meio da histopatologia, foram reclassificados para o diagnóstico de LIBG após IHQ, ou vice e versa (Waly et al., 2005; Briscoe et al., 2011; Kiupel et al., 2011; Sabattini et al., 2016; Chow et al., 2021).

O índice de proliferação de Ki67 é uma ferramenta prognóstica e preditiva empregada em diversas neoplasias caninas e felinas (Bergin et al., 2011; Hughes et al., 2012; Soares et al., 2016; Machado et al.; 2017; Patruno et al., 2020; Burrai et al., 2022) recentemente, seu papel na diferenciação de distúrbios inflamatórios e neoplásicos que acometem o trato gastrointestinal felino começou a ser investigado (Freiche et al., 2021b).

Nosso objetivo é avaliar e comparar a sensibilidade do exame histopatológico e imunoistoquímico em fornecer o diagnóstico e a diferenciação entre a DII linfoplasmocitária e LIBG-T, confrontando os resultados obtidos pela histopatologia e imunohistoquímica com CD3 e Ki67, com a finalidade de investigar o potencial papel do índice de proliferação Ki67 para diferenciação de ambas as afecções.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Seleção de amostras

Selecionou-se cortes histológicos corados com hematoxilina eosina (HE) oriundos do banco de dados do laboratório VETPAT, localizado em Campinas-SP, com diagnóstico histológico de DII linfoplasmocitária e LIBG, correspondentes ao período de 01/01/2017 até 30/12/2018.

Aleatoriamente, 25 amostras com diagnóstico histopatológico prévio de DII linfoplasmocitária foram alocadas no Grupo A e 25 amostras com diagnóstico histopatológico prévio de LIBG foram alocadas no Grupo B, e posteriormente esses cortes foram desparafinizados, processados e submetidos a técnica de imunoistoquímica.

Os critérios histológicos empregados para diferenciar LIBG de DII previamente descritos foram adotados nesse ensaio (Day et al., 2008; Kiupel et al., 2011; Freiche et al., 2021).

No LIBG a principal característica histológica é a infiltração de pequenos linfócitos monomórficos em lâmina própria e epitélio, em todos os casos a profundidade dessa infiltração foi avaliada. As infiltrações profundas em camadas submucosa, muscular e serosa são mais frequentes no LIBG em relação à DII linfoplasmocitária, que costuma exibir principalmente infiltração em camada mucosa (Briscoe et al., 2011).

Achados como atrofia vilosa, presença de ninhos ou placas de linfócitos intraepiteliais, infiltração intravascular, criptite linfocítica ou hiperplasia criptal compensatória são comuns na histopatologia do LIBG, além disso, nos casos de DII o índice mitótico tende a ser inferior do que nos linfomas (Kiupel et al., 2011) e há uma maior proporção de células inflamatórias (plasmócitos, neutrófilos, eosinófilos).

Resumidamente, a categorização microscópica foi padronizada com base nas diretrizes da WSAVA para o diagnóstico de inflamação gastrointestinal (Day et al., 2008), em todos os casos, a arquitetura de todo o tecido foi avaliada de forma conjunta e minuciosa para fornecer uma conclusão diagnóstica.

3.2.2 Técnica de imunoistoquímica

A técnica de imunohistoquímica foi realizada pelo Laboratório VETPAT, Campinas-SP. Os blocos de parafina foram submetidos a cortes de três micrômetros e posteriormente montados em lâminas silanizadas (Starfrost - Knittel).

A imunomarcagem do anticorpo anti-CD3 foi realizada para identificar a linhagem de células T (diluição 1:300, F7.2.38, Dako Cytomation, Santa Clara, Califórnia). E anticorpos MIB-1 foram eleitos para avaliação do índice de proliferação KI-67 (diluição 1:300, MIB-1, DakoCytomation, Santa Clara, Califórnia).

Todos os cortes foram submetidos a desparafinização e hidratação. A recuperação antigênica do CD3 foi realizada com solução de citrato em pH 5,6, enquanto a recuperação antigênica do Ki67 foi realizada com EDTA em pH 8,9, conforme ilustrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Especificações dos anticorpos, diluições e tipo de recuperação antigênica empregados nos procedimentos de imunoistoquímica em casos de linfoma felino.

	Clone	Marca	Diluição	Rec. Antigênica	PH	Incubação	Cromógeno
CD3	F7.2.38	Dako	1:300	Citrato	5,60	Overnight	DAB*
KI67	Mib-1	Dako	1:300	EDTA	8,90	Overnight	DAB*

*DAB: 3,30 - Diaminobenzene (Dako)

Posteriormente, todos os cortes foram submetidos ao vapor úmido por 20 minutos. Foi utilizado kit comercial de estreptavidina-biotina-peroxidase (Dako) para identificar os locais de ligação ao anticorpo. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado com solução de bloqueio pronta para uso (Novocastra) seguindo as indicações do fabricante.

Em seguida, realizou-se o bloqueio de reações inespecíficas com protein block (Novocastra) e as amostras foram incubadas com os

anticorpos primários, em geladeira, durante toda a noite (overnight).

Os anticorpos secundários (Dako) foram empregados e a revelação das colorações foi realizada através da solução de cromogênico diaminobenzidina (DAB) (Novolink). A solução de hematoxilina de Harris foi utilizada como contra-coloração.

Como controles positivos, utilizou-se linfonodos sabidamente positivos para CD3 e para o MIB-1 (Ki67). A substituição dos anticorpos primários por diluentes resultou nos controles negativos.

3.2.3 Avaliação imunoistoquímica

A avaliação imunoistoquímica eleita foi a semi-quantitativa (Freiche et al., 2021a), com auxílio da microscopia de luz, elegeu-se aleatoriamente áreas positivas na objetiva de 10x e posteriormente, na objetiva 40x, com a finalidade de realizar a análise percentual das células marcadas.

Todas as lâminas de IHQ foram avaliadas por um patologista experiente, sem conhecimento prévio do diagnóstico histopatológico.

O diagnóstico de linfoma de baixo grau foi atribuído quando 70% ou mais das células neoplásicas exibiam imunomarcacão positiva para CD3 (marcadores de células T), conforme relatado por outros autores. Os casos de imunomarcacão de CD3 inferior a 70% eram classificados pela IHQ como DII linfoplasmocitária.

A contagem celular do Ki67 foi realizada em epitélio e lâmina própria, por meio da estimativa visual e percentual de núcleos marcados positivamente.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa IBM SPSS Statistics²⁶ (Nova Iorque, Estados Unidos) e considerou-se nível de confiança de 95% para todos os testes realizados. Os dados referentes

a sexo, raça, localização da alteração, geolocalização dos pacientes inclusos, método de colheita para biópsia, imunomarcção de CD3, e Ki67 em epitélio e lâmina foram descritos em número e porcentagem. Foram calculadas as médias e desvios-padrões das idades de ambos os grupos (DII e LIBG) e a diferença entre as médias das idades foi obtida por teste U de Mann-Whitney.

A concordância entre os resultados histopatológicos e imunohistoquímicos foi verificada por meio de teste de Kappa. Ainda, analisou-se a diferença de médias entre os valores de ki67 de epitélio e lâmina própria entre os grupos DII e LIBG por meio de teste U de Mann-Whitney.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Dados epidemiológicos da população do grupo DII diagnosticado por histopatologia

A população desse estudo foi constituída por 25 amostras intestinais de pacientes felinos que foram previamente diagnosticados com DII linfoplasmocitária (Grupo A) e 25 amostras intestinais de pacientes felinos previamente diagnosticados com LIBG (Grupo B) que foram posteriormente submetidas a técnica imunoistoquímica.

No grupo A, composto por pacientes histologicamente diagnosticados com DII linfoplasmocitária, 60% (n=15) dos pacientes eram machos e 40% (n=10) eram fêmeas, conforme ilustra a Tabela 8.

Tabela 8 – Distribuição sexual dos pacientes felinos alocados no Grupo A (Doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária) pela histopatologia.

Sexo	Número de pacientes	(%)
Fêmeas	10	40
Machos	15	60
Total	25	100

Acerca da distribuição racial, o grupo A era composto por 68%(n=17) de gatos SRD, 24% (n=6) eram persas, havia um paciente da raça Bengal (4%) e um outro da raça Ragdoll (4%). A média de idade para esse grupo, foi de 7.23 ± 5.06 anos (idade variando de 10 meses a 17 anos).

Em relação ao segmento amostrado, 88%(n=22) das amostras eram do intestino delgado (duodeno, jejuno e/ou íleo) e apenas 12% (n=3) foram oriundas de intestino grosso (cólon), conforme ilustra a Tabela 9. Das 22 amostras provenientes de intestino delgado, apenas 16%(n=4) continham amostras de linfonodos mesentéricos adjacentes, nenhuma amostra de intestino grosso continha linfonodo adjacente para avaliação.

Tabela 9 – Distribuição dos segmentos intestinais dos pacientes felinos alocados no Grupo A (Doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária) pela histopatologia.

Segmento Intestinal	Número de amostras	(%)
Intestino delgado	22	88
Intestino grosso	3	12
Total	25	100

O método de obtenção da amostra intestinal mais prevalente foi a laparotomia em 52% (n=13) dos pacientes, seguido pela endoscopia em 44% (n=11), em um paciente (4%) a endoscopia e a colonoscopia foram realizadas de forma simultânea. A Tabela 10 ilustra as formas de obtenção de amostras no Grupo A.

Tabela 10 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do Grupo A (Doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária) pela histopatologia.

Método de obtenção	Número de amostras	(%)
Endoscopia	11	44
Endoscopia e colonoscopia	1	4
Laparotomia	13	52
Total	25	100

3.4.2 Dados epidemiológicos da população do grupo LIBG

O Grupo B foi constituído por 25 pacientes que foram histologicamente diagnosticados com LIBG, 56% (n=14) eram machos e 44% (n=11) eram fêmeas, a Tabela 11 ilustra a distribuição sexual desse grupo.

Tabela 11 – Distribuição sexual dos pacientes felinos alocados no Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau) pela histopatologia.

Sexo	Número de pacientes	(%)
Fêmeas	11	44
Machos	14	56
Total	25	100

A idade média desse grupo foi de 12.32 ± 2.83 anos (idade variando de 7 a 17 anos). Em relação a distribuição racial, 84% (n=21) dos pacientes eram sem SRD, 8% (n=2) eram persas e outros 8% (n=2) eram siameses, conforme ilustra a Tabela 12.

Tabela 12 – Distribuição racial dos pacientes felinos alocados no Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau) pela histopatologia.

Raça	Número de amostras	(%)
Persa	2	8
Siamês	2	8
SRD	21	84
Total	25	100

No Grupo B, 100% das amostras correspondiam aos segmentos correspondentes ao intestino delgado (duodeno, jejuno e/ou íleo). Dessas, 28% (n=7) das amostras continham linfonodo mesentérico adjacente.

Em relação ao método de obtenção das amostras a laparotomia foi o método eleito em 88% (n=22) dos casos, e a endoscopia foi realizada em apenas 12% (n=3), a Tabela 13 ilustra a distribuição de métodos de obtenção das amostras intestinais no Grupo B.

Tabela 13 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau).

Método de obtenção	Número de amostras	(%)
Endoscopia	3	12
Laparotomia	22	88
Total	25	100

3.4.3 Análise imunoistoquímica de CD3 no grupo DII e LIBG

Para o Grupo A, em 32%(n=8) dos casos, o diagnóstico definitivo mudou de DII linfoplasmocitária para LIBG após a realização de exame imunoistoquímico. A imunomarcagem de CD3 foi considerada inferior a 70%, confirmando o diagnóstico prévio em 68% (n=17) dos casos. A Tabela 14 ilustra a imunomarcagem de CD3 no Grupo A.

Tabela 14 – Distribuição da imunomarcagem de CD3 em amostras intestinais felinas alocadas no grupo A (Doença inflamatória intestinal) pela histopatologia.

Imunomarcagem de CD3	Número de amostras	(%)
>70%	8	32
<70%	17	68
Total	25	100

Para o Grupo B, 100% (n=25) das amostras tiveram imunomarcagem de CD3 > 70%, confirmando o diagnóstico histopatológico prévio de LIBG. A Figura 1 ilustra a imunomarcagem de CD3 de pacientes previamente alocados no grupo B, nos quais o exame imunoistoquímico confirmou o diagnóstico de LIBG-T.

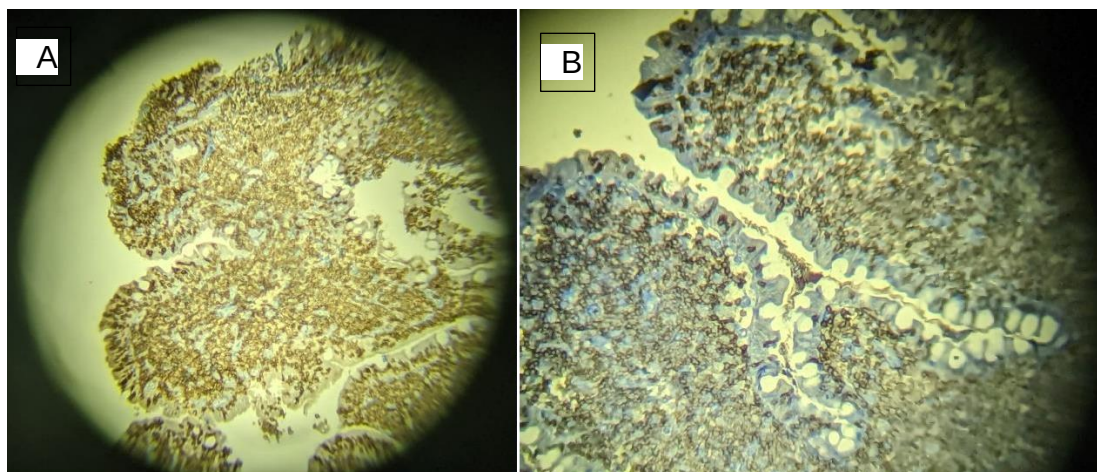


Figura 1- A) Fotomicrografia no aumento de 20x de amostra intestinal felina submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo CD3 evidenciando imunomarcação intensa, compatível com o diagnóstico de linfoma intestinal de baixo grau T. B) Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina, demonstrando forte expressão de CD3.

3.4.4 Dados epidemiológicos do grupo DII após diagnóstico final da IHQ

Após a realização da IHQ, dos 25 casos que compunham o grupo histologicamente diagnosticado com DII, 8 casos sofreram realocação de diagnóstico para LIBG. De forma que ao final da análise, apenas 17 pacientes tiveram o diagnóstico de DII confirmado pela IHQ.

Nesse grupo, a média de idade dos pacientes foi de 5,5 anos $\pm$ 4.9 anos (idade variando de 10 meses a 17 anos). 65% da população (n=11) era constituída por machos e 35% (n=6) fêmeas conforme ilustra a Tabela 15.

Tabela 15 – Distribuição sexual dos pacientes felinos alocados no grupo doença inflamatória intestinal linfoplasmocitária após IHQ.

Sexo	Número de pacientes	(%)
Fêmeas	6	35
Machos	11	65
Total	17	100

O SRD representou 53% das amostras (n=9), o persa representou 35% (n=6), enquanto bengal e ragdoll representaram uma amostra (6%) cada, conforme ilustra a Tabela 16.

Tabela 16 – Distribuição racial dos pacientes felinos alocados no grupo Doença inflamatória intestinal após IHQ.

Raça	Número de amostras	(%)
SRD	9	53
Persa	6	35
Bengal	1	6
Ragdoll	1	6
Total	17	100

As amostras desse grupo foram coletadas por laparotomia em 59% dos casos (n=10), em 35% (n=6) a endoscopia foi o método eleito, e em apenas 6% (n=1) a endoscopia e colonoscopia foram eleitas de forma simultânea para obtenção das biopsias, conforme ilustra a Tabela 17.

Tabela 17 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do grupo doença inflamatória intestinal após IHQ.

Método de obtenção	Número de amostras	(%)
Laparotomia	10	59
Endoscopia	6	35
Endoscopia e colonoscopia	1	6
Total	17	100

3.4.5 Dados epidemiológicos do grupo LIBG após diagnóstico final da IHQ

Após a realização da IHQ, o grupo LIBG aumentou de 25 amostras para 33 devido aos casos do grupo DII que tiveram diagnóstico realocado. No grupo LIBG, a média de idade dos pacientes foi de 11,9 anos $\pm$ 2,8 anos (idade variando de 7 anos a 17 anos). 55% da população (n=18) era constituída por machos e 45% (n=15) fêmeas,

conforme ilustra a Tabela 18.

Tabela 18 – Distribuição sexual dos pacientes felinos alocados no grupo linfoma intestinal de baixo grau após IHQ.

Sexo	Número de pacientes	(%)
Machos	18	55
Fêmeas	15	45
Total	33	100

O SRD representou 88% das amostras (n=29), o persa e o siamês representaram 6% (n=2) cada, conforme representado na Tabela 19.

Tabela 19 – Distribuição racial dos pacientes felinos alocados no grupo Linfoma intestinal de baixo grau após IHQ.

Raça	Número de amostras	(%)
SRD	29	88
Persa	2	6
Siamês	2	6
Total	33	100

As amostras desse grupo foram coletadas por laparotomia em 76% dos casos (n=25), em apenas 24% (n=8) a endoscopia foi o método eleito, como ilustra a Tabela 20.

Tabela 20 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do grupo doença inflamatória intestinal após IHQ.

Método de obtenção	Número de amostras	(%)
Laparotomia	25	76
Endoscopia	8	24
Total	33	100

3.4.6 Imunomarcagem de Ki67 (epitélio e lâmina) no grupo DII

A partir dos diagnósticos imunoistoquímicos, o grupo DII foi

constituído por 17 amostras. No epitélio, a imunomarcacão de Ki67 foi igual ou inferior a 5% em 52,9% (n=9) das amostras, em 41,2% (n=7) a imunoexpressão de Ki67 foi de 10% e em apenas 5,9% (n=1) a imunomarcacão de Ki67 foi de 20%.

A Figura 2 ilustra imunomarcacão de Ki67 de paciente alocado no grupo DII, demonstrando 5% das células marcadas com Ki67 em epitélio. A Tabela 21 demonstra a imunomarcacão de Ki67 verificada em epitélio de pacientes alocados no Grupo DII.

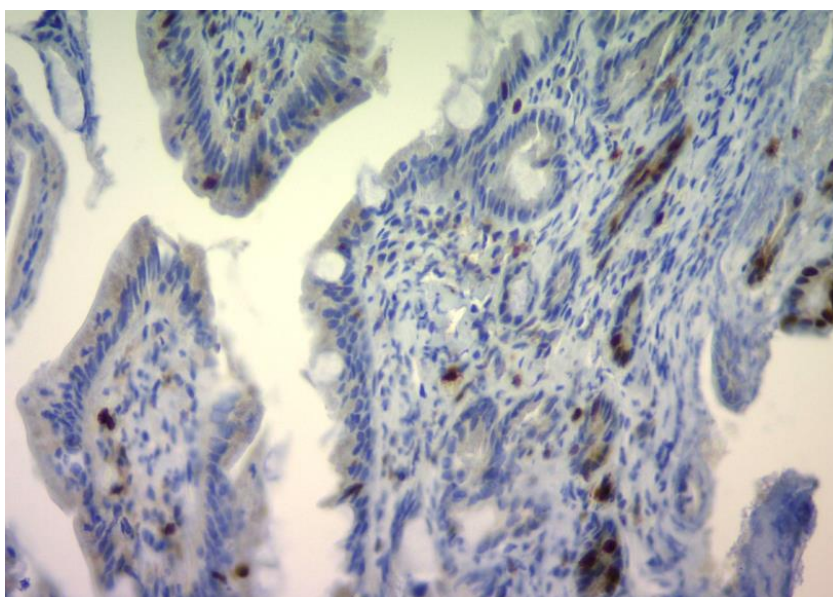


Figura 2 - Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina, alocada no grupo A, submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1 evidenciando 5% de expressão de Ki67 em epitélio.

Tabela 21 – Distribuição dos métodos de obtenção das amostras intestinais felinas do grupo doença inflamatória intestinal após IHQ.

Ki67 epitélio	Número de amostras	(%)
5%	9	52,9
10%	7	41,2
20%	1	5,9
Total	17	100

Na lâmina própria, a imunomarcacão de Ki67 no grupo diagnosticado com doença inflamatória intestinal pela imunoistoquímica, foi de 5% em 88,2% (n=15) das amostras, 5,9% (n=1) apresentou

imunomarcação nula, e 5,9% (n=1) apresentou 10% de expressão. A Tabela 22 ilustra a imunomarcação de Ki67 verificada em lâmina própria de pacientes alocados no grupo doença inflamatória intestinal.

Tabela 22 – Distribuição da imunomarcação de Ki67 localizada em lâmina própria de amostras intestinais felinas alocadas no grupo doença inflamatória intestinal.

Ki67 lâmina	Número de amostras	(%)
0%	1	5,9
5%	15	88,2
10%	1	5,9
Total	17	100

3.5.5 Imunomarcação de Ki67 (epitélio e lâmina) no grupo de pacientes que tiveram diagnóstico realocado após IHQ

Dos 25 pacientes alocados no grupo DII pela análise histológica, 32% (n=8) foram realocados para o grupo LIBG após realização de IHQ. Desses, a análise de Ki67 estava disponível para 87,5% dos casos (n=7), em um caso (12,5%), o material foi insuficiente para leitura de Ki67, e somente a avaliação de CD3 foi realizada.

A média de Ki67 em epitélio, dos pacientes com diagnóstico realocado de DII para LIBG após a imunoistoquímica foi de 13,57% (intervalo entre 5% a 40% de imunomarcação). Enquanto em lâmina, a imunomarcação de Ki67 nos pacientes realocados foi de 14,28% (intervalo entre 5% e 30% de imunomarcação).

Em epitélio, a imunomarcação de Ki67 foi de 5 % em 29% dos casos (n=2), 20% também em 29% dos casos (n=2). Imunomarcações de 10%, 25% e 40% foram constatadas em uma amostra (14%) cada, conforme ilustra a Tabela 23.

Tabela 23 – Distribuição da imunomarcacão de Ki67 localizada em epitélio de amostras intestinais felinas que tiveram o diagnóstico realocado após IHQ.

Ki67 epitélio	Número de amostras	(%)
5%	2	29
10%	1	14
20%	2	29
25%	1	14
40%	1	14
Total	7	100

A Figura 3 ilustra a imunomarcacão de Ki67 de paciente previamente alocado no grupo A, demonstrando expressão de Ki67 de 40% em epitélio, com diagnóstico realocado para LIBG após IHQ.

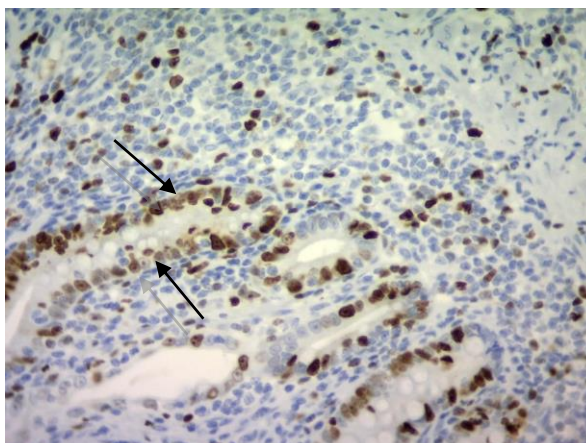


Figura 3 - Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina, previamente alocada no grupo A (DII), submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1 evidenciando 40% de imunomarcacão de Ki67 em epitélio (seta), com diagnóstico realocado para LIBG após IHQ.

A Figura 4 ilustra a imunomarcacão de Ki67 de paciente previamente alocado no grupo A, demonstrando expressão de Ki67 de 20% em epitélio e 30% em lâmina própria, o paciente em questão mudou o diagnóstico de DII para LIB-T após o exame imunoistoquímico, pois também apresentava intensa imunoexpressão de CD3.

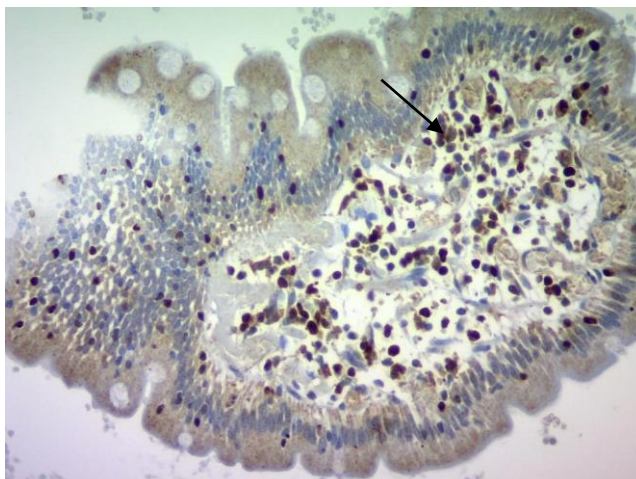


Figura 4 - Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina, alocada no grupo A (DII), submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1 evidenciando 20% de imunomarcação de Ki67 em epitélio e 30% em lâmina própria (setas).

Na lâmina própria, a imunomarcação de Ki67 de pacientes que tiveram diagnóstico realocado para LIBG após exame imunoistoquímico foi de 5% em 57%(n=4) dos casos, 30% em 29% dos casos (n=2) e 20% em 14% dos casos (n=1), conforme ilustra a Tabela 24.

Tabela 24 – Distribuição da imunomarcação de Ki67 localizada em lâmina própria de amostras intestinais felinas que tiveram o diagnóstico realocado após IHQ.

Ki67 lâmina	Número de amostras	(%)
5%	4	57,2
20%	1	28,5
30%	2	14,3
Total	7	100

3.5.6 Imunomarcação de Ki67 (epitélio e lâmina) no grupo LIBG-T

A partir dos diagnósticos imunoistoquímicos, o grupo LIBG foi constituído por 33 amostras. No epitélio, a análise foi realizada em 30 amostras (90,9%), em 3 delas (9,1%) o material era insuficiente ou não permitia avaliação epitelial. A imunomarcação de Ki67 foi igual a 10% em 23% (n=7) das amostras, em 17% (n=5) dos casos a expressão de Ki67

foi de 30% e em outros 17% (n=5) foi 40%. A Tabela 25 ilustra a imunomarcção percentual de Ki67 em epitélio nos pacientes do grupo LIBG.

Tabela 25 – Distribuição da imunomarcção de Ki67 localizada em epitélio de amostras intestinais felinas alocadas no grupo linfoma intestinal de baixo grau T.

Ki67 epitélio	Número de amostras	(%)
5%	4	13
10%	7	23
15%	1	3
20%	2	7
25%	1	3
30%	5	17
40%	5	17
60%	3	10
80%	2	7
Total	30	100

Na lâmina própria, a análise foi realizada em 31 amostras (93,6%), em 2 delas (6,4%) o material era insuficiente ou não permitia avaliação. Na lâmina própria, a imunomarcção de Ki67 foi igual ou superior a 30% em 51% (n=16) das amostras. A Figura 5 ilustra a imunomarcção de Ki67 de 30% em lâmina própria em uma paciente desse grupo.

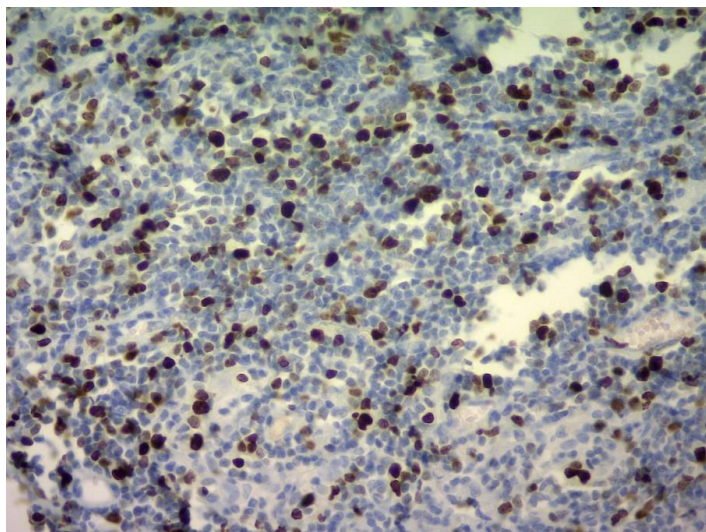


Figura 5- Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1, evidenciando imunomarcagem de 30% de Ki67 em lâmina própria.

Em 26% (n=8) das amostras a imunomarcagem de Ki67 em lâmina foi de 5%. A Figura 6 ilustra a imunomarcagem de Ki67 de 5% em lâmina.

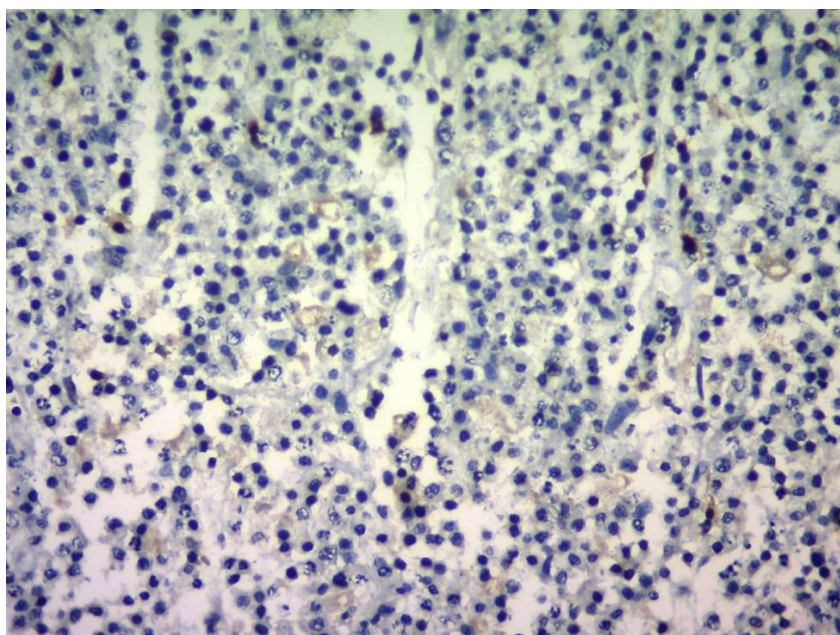


Figura 6 - Fotomicrografia no aumento de 40x de amostra intestinal felina submetida à técnica de imunoistoquímica, com anticorpo MIB-1, evidenciando imunomarcagem de 5% de Ki67 em lâmina própria.

Em 10% das amostras (n=3) a imunomarcagem foi de 10%, um caso (3%) teve imunomarcagem de 15% e outros três casos (10%) tiveram

imunomarcção de 20% de Ki67 em lâmina. A Tabela 26 ilustra a imunomarcção percentual de Ki67 verificada em lâmina própria de pacientes alocados no Grupo LIBG.

Tabela 26 – Distribuição da imunomarcção de Ki67 localizada em lâmina própria de amostras intestinais felinas alocadas no grupo Linfoma intestinal de baixo grau.

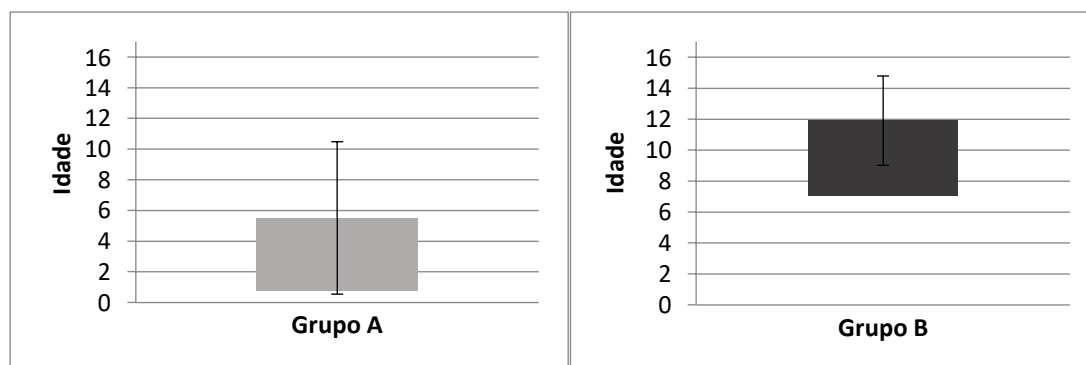
Ki67 lâmina	Número de amostras	(%)
5%	8	26
10%	3	10
15%	1	3
20%	3	10
30%	5	16
40%	5	16
70%	2	6
80%	4	13
Total	31	100

3.5.6 Análise geral – DII x LIBG-T

O teste de concordância de Kappa foi realizado para verificar a concordância entre os resultados histopatológicos e imunoistoquímicos em ambos os grupos, o resultado foi de 0,680 ($P < 0.0001$), ou seja, revelou uma concordância de 68% entre as modalidades diagnósticas.

O teste de Mann-Whitney foi realizado para verificar se havia diferença significativa ($P < 0.0001$) entre as idades dos pacientes alocados no grupo A e no grupo B. Verificou-se que houve diferença significativa entre os grupos, com os pacientes do grupo B (LIBG) apresentando maior idade em relação ao Grupo A (DII linfoplasmocitária). O Gráfico 4 ilustra a comparação das médias de idade em ambos os grupos.

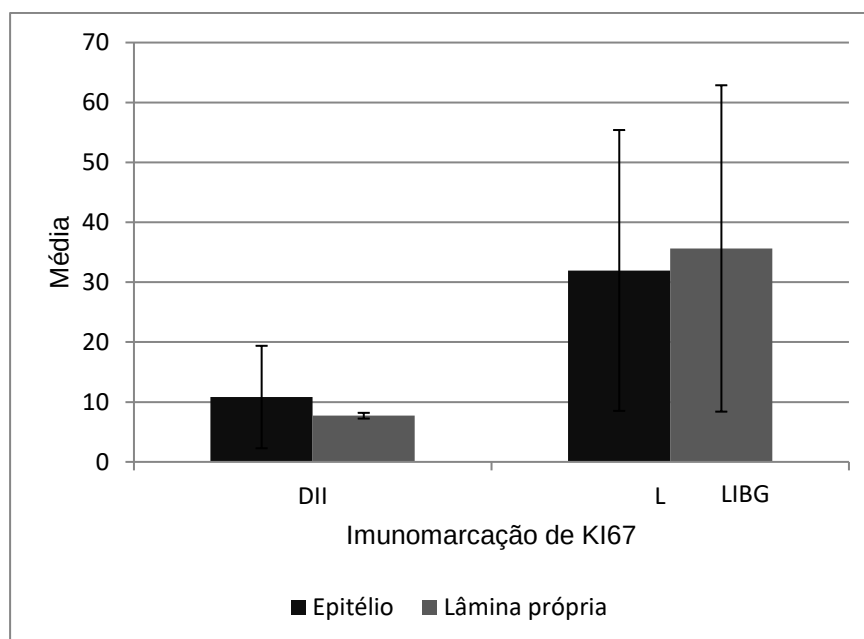
Gráfico 4 - Comparação das médias de idade dos pacientes felinos alocados no Grupo A (Doença inflamatória intestinal) x Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau)



O teste de Mann-Whitney revelou que houve diferença significativa ($P < 0,0001$) das médias percentuais dos valores de imunomarcacão de Ki67 em epitélio e em lâmina própria, entre os grupos A (DII) e B (LIBG). A média percentual de Ki67 em epitélio no grupo DII foi de $8\% \pm 4\%$, enquanto no Grupo LIBG foi de $29\% \pm 22\%$.

Enquanto a média percentual de Ki67 em lâmina própria no Grupo DII foi de $5\% \pm 2\%$ e no Grupo LIBG foi de $31\% \pm 26\%$. O Gráfico 5 ilustra a comparação das médias dos valores percentuais de imunomarcacão de Ki67 em epitélio e lâmina própria entre os grupos A e B.

Gráfico 5 – Média dos valores percentuais de imunomarcção de Ki67 em epitélio e lâmina própria dos pacientes alocados no Grupo A (Doença inflamatória intestinal) x Grupo B (Linfoma intestinal de baixo grau).



3.5 DISCUSSÃO

Nas últimas duas décadas, a incidência de linfomas gastrointestinais felinos aumentou consideravelmente (Paulin et al., 2018). No estudo de Moore et al (2012), 83% dos pacientes felinos com linfomas intestinais apresentavam linfomas de imunofenótipo T, e desses, 85% eram linfomas intestinais de baixo grau T.

Estima-se que o LIBG-T represente cerca de 60 a 75% dos casos de linfoma gastrointestinal na espécie (Fondacaro et al., 1999; Chino et al., 2013; Paulin et al., 2018) e a maior parte desses linfomas, infiltram majoritariamente a camada mucosa do intestino delgado (Freiche et al., 2021b), enquanto que as infiltrações transmuralis são mais comumente observadas em linfomas intestinais de alto grau (LIBG).

Estudos recentes, têm apontado o gato como um modelo natural para o estudo da desordem linfoproliferativa indolente de células T que pode acometer pacientes humanos (Freiche et al., 2021a). A oncologia comparada tende a direcionar avanços em métodos diagnósticos e alvos terapêuticos bilateralmente.

A etiopatogenia envolvida no surgimento dos linfomas alimentares não é completamente elucidada, porém, sugere-se uma associação entre a presença de inflamação crônica e o desenvolvimento dos linfomas gastrointestinais (Kiupel et al., 2011).

A apresentação concomitante de ambas as doenças é descrita na literatura, e há hipóteses que a DII pode preceder ou promover o desenvolvimento do linfoma (Carreras et al., 2003; Moore et al., 2005; Lingard et al., 2009; Briscoe et al., 2011; Kiupel et al., 2011) e isso pode dificultar ainda mais o diagnóstico.

No estudo de Freiche et al (2021b), em 10 (45%) dos 22 casos de LIBG-T haviam achados histológicos de DII concomitante, como a presença de infiltrados contendo populações linfoides mistas e infiltrado plasmocítico, além de uma combinação de criptite neutrofílica e abscessos de criptas.

Nesse estudo, os pacientes com LIBG-T tiveram idade variando entre 7 e 17 anos, com a média de idade de 11,9 anos, e os machos prevaleceram (55%) em relação às fêmeas.

Apesar do LIBG-T e dos linfomas intestinais de forma geral, potencialmente afetarem pacientes de qualquer raça ou sexo, diversos estudos corroboram com nossos dados epidemiológicos de raça e sexo, atestando que os linfomas intestinais de baixo grau tendem a afetar gatos geriátricos, com média de idade de 13 anos. Alguns autores sugerem que os machos tendem a ser mais afetados (Weinkle et al., 2008; Lingard et al., 2009; Barrs e Beatty, 2012; Rissetto et al., 2011; Russel et al., 2012; Bernardin et al., 2015; Freiche et al., 2021a).

A maior parte da população do nosso estudo era composta de animais sem raça definida, que também podem ser nomeados simplesmente como gatos domésticos de pelo curto. Ainda não existe uma correlação clara entre raças e aumento da prevalência de linfomas alimentares, porém alguns autores percebem uma super-representação dos gatos domésticos de pelo curto e dos siameses (Carreras et al., 2003; Lingard et al., 2009; Castro-López et al., 2017).

No presente estudo a idade dos pacientes com linfomas intestinais T, variou entre 7 e 17 anos, enquanto no estudo de Moore et al (2012) com 84 pacientes felinos com linfomas intestinais T restritos a mucosa, a idade dos pacientes variou entre 2 e 20 anos, com média de 12,6 anos.

Já no estudo de Freiche et al (2021a) com 22 gatos diagnosticados com linfomas de baixo grau T, 81,8% (n=18) dos pacientes eram gatos domésticos de pelo curto, sem raça definida, 73% dessa população era constituída por machos e 27% por fêmeas, e a média de idade foi de 13 anos (intervalo entre 8- 16 anos).

Os linfomas intestinais e as enterites linfoplasmocitárias tendem a causar lesões difusas, que podem afetar desde o estômago até o intestino grosso (Willard et al., 2012). Entretanto, no LIBG-T o intestino delgado, especialmente o jejuno e íleo, são os sítios mais comumente afetados (Lingard et al., 2009; Moore et al., 2011; Freiche et al., 2021a; Freiche et al., 2021b).

Nesse estudo, nenhum paciente suspeito teve o intestino grosso amostrado, as lesões se concentravam apenas em intestino delgado, corroborando com os achados do estudo de Freiche et al (2021b), no qual biopsias de intestino grosso não foram coletadas de pacientes com suspeita clínica de linfoma, justamente por não haver sinais clínicos ou alterações ultrassonográficas compatíveis com envolvimento colônico.

No estudo de Moore et al (2012) o jejuno foi o sítio mais comumente afetado pelos linfomas de imunofenótipo T. Isso também foi observado por Freiche et al (2021a), 64% dos casos de LIBG-T ocorreram em jejuno, em 27% dos casos a infiltração estava presente em jejuno e íleo, e em 9% a infiltração neoplásica se manifestava apenas em íleo.

Já a DII linfoplasmocitária pode afetar qualquer segmento intestinal, porém as regiões de duodeno e íleo são as mais comumente afetadas (Lingard et al., 2009; Kleinschmidt et al., 2010; Briscoe et al., 2011), no presente estudo, 88% das amostras do grupo de DII eram compostas pelos segmentos de intestino delgado.

A respeito da necessidade de obter amostras de todos os

segmentos do intestino delgado, um estudo publicado por Scott et al (2011), demonstrou uma pobre concordância entre amostras endoscópicas coletadas de intestino delgado superior e inferior, nos quais 39% dos casos de linfoma foram diagnosticados a partir apenas de biopsias de intestino delgado superior e 44% em biopsias de intestino delgado inferior, enquanto somente em 17% dos casos o diagnóstico de linfoma intestinal era obtido a partir da avaliação de ambos os sítios.

Em contraste, um estudo recente de Chow et al (2021) objetivou avaliar a utilidade da histopatologia, IHQ e testes de clonalidade para diferenciar DII e LIBG, avaliando o impacto diagnóstico de adquirir amostras intestinais endoscópicas de intestino delgado superior e inferior.

Na histopatologia, houve uma concordância moderada entre as amostras provenientes dos dois sítios, em 17% dos casos, a amostra que suportou o diagnóstico de linfoma intestinal era proveniente de segmentos proximais de intestino delgado, enquanto em 11% a amostra era proveniente de segmentos distais de intestino delgado (Chow et al., 2021).

Esses achados apontam que raramente a presença de amostra proveniente de intestino delgado inferior mudou o diagnóstico (Chow et al., 2021), entretanto, é importante considerar nesse estudo, os autores relatam que é possível que o jejuno estivesse presente em amostras tanto de segmento superior quanto inferior de delgado, devido ao comprimento do gastroscópio empregado, e isso certamente influenciou os resultados.

A endoscopia possui o agravante de não permitir a biopsia de amostras de espessura total (mucosa, submucosa, muscular e serosa) e dependendo do aparelho e operador, de não acessar áreas anatômicas pertinentes, como toda a extensão de jejuno e íleo (Kiselow et al., 2009; Sum e Ward, 2009; Daniaux et al., 2013).

Enquanto a laparotomia possui diversas vantagens como a aquisição de biopsias que envolvem todas as camadas, inspeção e biopsia de diferentes sítios, como estômago, duodeno, jejuno e íleo (Penninck e d'Angou, 2015), a técnica de coleta é considerada segura, com baixa taxa

de complicações (Smith et al., 2011; Norsworthy et al., 2015).

O exame imunoistoquímico é descrito como ferramenta eficiente para diferenciar DII linfoplasmocitária de LIBG por diversos autores (Waly et al., 2005; Evans et al., 2006; Delverdier et al., 2010; Scott et al., 2011; Daniaux et al., 2013; Sabattini et al., 2016; Paulin et al., 2018).

Nesse ensaio, o painel imunoistoquímico foi composto por CD3 e Ki67, haja visto, que os linfomas intestinais de baixo grau são majoritariamente compostos por linfócitos de imunofenótipo T que causam uma infiltração massiva em lâmina própria (Wilson, 2008; Delverdier et al., 2010; Briscoe et al., 2011; Gieger, 2011; Moore et al., 2011; Barrs e Beatty, 2012; Castro-López et al., 2017; Freiche et al., 2021b).

Os marcadores de linfócitos B, como CD79a e CD20 não foram empregados, mas é conhecida a baixa expressão de CD3, tanto em epitélio quanto em lâmina na DII linfoplasmocitária (Freiche et al., 2021b), sendo que esse foi o principal critério imunoistoquímico adotado para a distinção de DII linfoplasmocitária e LIBG no presente estudo, além é claro da morfologia e arquitetura celular.

Em seres humanos, com linfomas indolentes de células T em trato gastrointestinal, usualmente o índice de Ki67 é considerado baixo, e varia entre 5-10% (Margolskee et al., 2013; Perry et al., 2013; Leventaki et al., 2014; Malamut et al., 2014).

Em cães, o índice de proliferação parece se relacionar positivamente com o índice mitótico, e a maioria dos casos de DII tendem a ter um menor nível de Ki67 em relação aos casos de linfomas (Carrasco et al., 2015), além disso, os linfomas intestinais de alto grau tendem a apresentar maior índice de proliferação em relação ao LIBG (Wolfesberger et al., 2021).

Historicamente, dentro da gastroenterologia felina, a expressão do epítipo Ki67 foi considerada para fornecer diagnóstico diferencial entre casos de neoplasias linfoides e hiperplasias, com os valores de Ki67 sendo infimamente inferiores em lesões hiperplásicas em relação as neoplásicas

(Kerboriou, 2002).

Outros estudos recentes, também têm procurado documentar o índice de proliferação de Ki67 como método auxiliar na diferenciação entre DII linfoplasmocitária e LIBG (Freiche et al., 2021a; Freiche et al., 2021b).

No presente estudo, a média percentual de Ki67 em epitélio no grupo A (DII linfoplasmocitária) e no grupo B (LIBG-T) foram respectivamente 8% (intervalo 5%- 20%) e 29% (intervalo 5%-80%). Já em lâmina própria, a média de Ki67 no grupo A foi de 5% (intervalo 0%-10%) enquanto no grupo B foi de 31% (intervalo 5%-80%).

Ou seja, ao compararmos o grupo LIBG-T com o grupo DII linfoplasmocitária notamos que a imunomarcação de KI67 foi significativamente superior no primeiro em relação ao segundo, tanto em lâmina quanto em epitélio, corroborando com os dados publicados por Freiche et al (2021b).

Esse último estudo citado, avaliou dados clínicos, laboratoriais, histopatológicos, imunoistoquímicos e moleculares de 44 gatos submetidos à biopsia intestinal e diagnosticados com LIBG-T (n=22) ou DII linfoplasmocitária (n=22).

O índice de proliferação (Ki67) foi avaliado em lâmina e epitélio em ambos os grupos, no grupo LIBG-T as médias foram de 20% (intervalo de 5-45%) em epitélio e 30% (intervalo de 7,5-65) em lâmina própria, enquanto no grupo DII linfoplasmocitária as médias foram de 5% (intervalo de 1-25%) de imunomarcação em epitélio e 10% (intervalo de 5-50%) em lâmina (Freiche et al., 2021b).

Comparativamente, em nosso estudo, os valores médios de Ki67 encontrados em lâmina própria e epitélio nos casos de LIBG-T, foram superiores aos apresentados por Freiche et al (2021b).

A média dos valores de Ki67 em epitélio nos casos de DII linfoplasmocitária em nosso estudo foi de 8% e 5% em lâmina própria, enquanto no estudo de Freiche et al (2021b) a imunomarcação média foi de 5% em epitélio e 10%, em lâmina própria.

Em nosso estudo, curiosamente, os valores médios de imunomarcção de Ki67 em epitélio (8%) foram ligeiramente superiores aos encontrados em lâmina própria (5%).

Encontramos uma concordância de 68% entre histopatologia e IHQ para conferir o diagnóstico de DII linfoplasmocitária ou LIBG-T. Dos 25 casos diagnosticados com DII linfoplasmocitária, 8 (32%) tiveram seu diagnóstico realocado para LIBG-T, após a realização de análise imunoistoquímica, entretanto, entre os pacientes diagnosticados com LIBG pela histopatologia, todos permaneceram com o mesmo diagnóstico após a realização da IHQ.

Outros estudos indicam uma taxa de 15,6% a 26% de mudança de diagnóstico entre DII e LIBG após realização de IHQ (Waly et al., 2005; Briscoe et al., 2011; Kiupel et al., 2011; Sabbatini et al., 2016). No estudo de Briscoe et al (2011) de 29 casos diagnosticados com DII linfoplasmocitária pela histopatologia, 7 (24,1%) foram reclassificados como LIBG após a realização da IHQ.

Enquanto no estudo de Kiupel et al (2011) dos 19 pacientes diagnosticados com DII linfoplasmocitária pela histopatologia, 5 (26%) foram reclassificados com LIBG após a realização de IHQ. Já dos 37 casos diagnosticados como LIBG pela histopatologia, 3 (8%) foram reclassificados como DII linfoplasmocitária após a realização de IHQ e testes de clonalidade.

Já no estudo de Sabbatini et al (2016) que avaliou amostras duodenais endoscópicas, 61 casos (79,2%) haviam sido classificados como DII linfoplasmocitária pela histopatologia e 16 casos (20,8%) como LIBG, porém após a realização da IHQ, 9 casos (11,68%) de DII linfoplasmocitária foram diagnosticados como LIBG, e 2 casos (2,59%) dos pacientes diagnosticados com LIBG tiveram o diagnóstico de DII linfoplasmocitária após a realização de IHQ.

No estudo de Chow et al (2021) dos 24 casos diagnosticados como DII linfoplasmocitária, 11 (45,8%) foram realocados para o grupo LIBG após a realização de IHQ, mas nenhum paciente mudou o diagnóstico de

LIBG para DII. Semelhante ao que ocorreu em nossa coorte, nenhuma amostra com diagnóstico histopatológico de LIBG, foi realocada para o grupo DII linfoplasmocitária após a realização de IHQ.

No presente ensaio, 70% das amostras foram coletadas por meio de laparotomia, isso em partes pode explicar a taxa de 68% de concordância encontrada entre exame histopatológico e imunoistoquímico. Supomos que se a maioria das amostras houvesse sido coletada por endoscopia, possivelmente a concordância entre histopatologia e imunoistoquímica seria inferior à constatada.

No estudo de Freiche et al (2021b) a maioria dos pacientes felinos com LIBG-T apresentavam infiltração neoplásica em camadas profundas, 68% dos afetados apresentavam infiltração em submucosa e 48% em muscular, sendo esse um critério histológico importante para diferenciar DII linfoplasmocitária e LIBG-T, que atesta a vantagem das biopsias de espessura total que foram as mais prevalentes em nosso estudo.

Independente da forma de obtenção das biopsias, a diferenciação histológica entre infiltrados inflamatórios e neoplásicos tende a ser desafiadora (Paulin et al., 2018), porém, amostras de melhor qualidade englobando todas as camadas intestinais podem aumentar a chance de sucesso diagnóstico.

Dentre as limitações do presente estudo, destaca-se sua natureza retrospectiva, número pequeno de amostras e falta de homogeneidade entre os grupos. Além disso, nos felinos diagnosticados histologicamente com DII linfoplasmocitária não é possível afirmar que todos os pacientes apresentaram uma evolução crônica e que foram irresponsivos a tratamentos empíricos prévios.

Considerando que o diagnóstico de DII linfoplasmocitária é de exclusão apenas supomos que os testes de exclusão prévios a coleta de biopsias tenham sido realizados. Dados sobre tratamento e informações relacionadas a sobrevida dos pacientes não estavam disponíveis.

Nesse ensaio, as avaliações morfológicas e imunoistoquímicas foram confirmadas por um patologista experiente, porém a

imunomarcação de Ki67 foi realizada através de estimativa visual, sem contraprova digital.

Em um estudo que comparou diferentes métodos de avaliação do índice de proliferação de Ki67 em amostras de linfomas gastrointestinais caninos, houve apenas uma moderada concordância entre os índices obtidos a partir de estimativa visual e pelo método de contagem manual. A estimativa visual tendeu a superestimar a expressão de Ki67, quando comparada com a contagem manual e a análise digital (Wolfesberger et al., 2021).

De forma que, apesar dos esforços por uma padronização das leituras realizada por um patologista experiente no presente estudo, não podemos descartar que uma superestimação possa ter ocorrido em decorrência do método de leitura empregado na imunomarcação de Ki67.

3.6 CONCLUSÕES

Esse ensaio ressalta a importância da realização da IHQ diante das suspeitas de enteropatia crônica felina, a concordância entre os resultados obtidos pela histopatologia e IHQ foi de apenas 68%.

No grupo diagnosticado com DII linfoplasmocitária pela histologia isoladamente, o diagnóstico mudou para LIBG-T em 32% casos. Todos os pacientes que foram diagnosticados com LIBG-T permaneceram com o mesmo diagnóstico após a IHQ.

As médias de imunomarcação de Ki67, que representa o índice de proliferação, foram substancialmente superiores no grupo LIBG-T em relação ao grupo DII linfoplasmocitária, tanto em epitélio quanto em lâmina própria.

Verificou-se que o índice de proliferação pode ser empregado como uma ferramenta complementar para auxiliar na diferenciação de distúrbios inflamatórios ou neoplásicos que acometem o trato gastrointestinal felino.

3.7 REFERÊNCIAS

1. Al-Ghazlat S, de Rezende CE, Ferreri J (2013) Feline small cell lymphosarcoma versus inflammatory bowel disease: diagnostic challenges. **Compend Contin Educ Vet.**35:E1–E5; quiz E6.
2. Barrs V, Beatty J (2012) Feline alimentary lymphoma: 1. Classification, risk factors, clinical signs and non-invasive diagnostics. **J Feline Med Surg**; 14:182–90.
3. Bergin IL et al (2011) Prognostic evaluation of Ki67 threshold value in canine oral melanoma. **Veterinary pathology** 48.1: 41-53.
4. Bernardin F, Martinez Rivera L, Ragetly G, Gomes E, Hernandez J (2015) Spontaneous gastrointestinal perforation in cats: a retrospective study of 13 cases. **J Feline Med Surg**; 17:873–9.
5. Briscoe KA, Krockenberger M, Beatty JA, Crowley A et al (2011) Histopathological and immunohistochemical evaluation of 53 cases of feline lymphoplasmacytic enteritis and low-grade alimentary lymphoma. **J CompPathol**; 145:187–98. 59.
6. Burrai GP, Baldassarre V, Brunetti B, Iussich S et al (2022). Canine and feline in situ mammary carcinoma: A comparative review. **Veterinary Pathology**, 59(6), 894-902.
7. Carrasco, V.; Rodríguez-Bertos, A.; Rodríguez-Franco, F.; Wise, A.G et al (2014) Distinguishing intestinal lymphoma from inflammatory bowel disease in canine duodenal endoscopic biopsy samples. **Vet. Pathol**, 52, 668–675.
8. Carreras JK, Goldschmidt M, Lamb M, McLearn RC (2003) Feline epitheliotropic intestinal malignant lymphoma: 10 cases (1997-2000). **J Vet Intern Med**;17:326–31.
9. Castro-López J, Teles M, Fierro C, Allenspach K, Planellas M, Pastor J (2017) Pilot study: duodenal MDR1 and COX2 gene expression in cats with inflammatory bowel disease and low-grade alimentary lymphoma. **J Feline MedSurg**; 207:214.
10. Chino J, Fujino Y, Kobayashi T, Kariya K et al (2013) Cytomorphological and immunological classification of feline lymphomas: clinicopathological features of 76 cases. **J Vet Med Sci**; 75:701–7.

11. Daniaux LA, Laurenson MP, Marks SL, et al (2014) Ultrasonographic thickening of the muscularis propria in feline small intestinal small cell T-cell lymphoma and inflammatory bowel disease. **J Feline Med Surg**; 16: 89–98.
12. Daniaux LA, Laurenson MP, Marks SL, Moore PF, Taylor SL, Chen RX, et al (2013) Ultrasonographic thickening of the muscularis propria in feline small intestinal small cell T-cell lymphoma and inflammatory bowel disease. **J Feline Med Surg**; 16:89–98.
13. Day MJ, Bilzer T, Mansell J, et al (2008) Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. **J Comp Pathol.**;138(Suppl 1): S1-S43.
14. Delverdier MBA, Letron NR, Trumel I, Degorce-Rubiales C et al (2010) Immunohistochimie des lymphomes gastrointestinaux du chat. **Revue de Médecine Vétérinaire**, vol. 261 (n° 5). pp. 225-232.
15. Fondacaro JV, Richter KP, Carpenter JL, Hart JR (1999). Feline gastrointestinal lymphoma: 67 cases (1988–1996). **Eur J Comp Gastroenterol.**;4:5–11.
16. Freiche V, Cordonnier N, Paulin MV, et al (2021a) Feline low-grade intestinal T cell lymphoma: a unique natural model of human indolent T cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract. **Lab Invest**; 101:794- 804.
17. Freiche V, Paulin MV, Cordonnier N, Huet H et al (2021, b) Histopathologic, phenotypic, and molecular criteria to discriminate low-grade intestinal T-cell lymphoma in cats from lymphoplasmacytic enteritis. **J Vet Intern Med.** Nov;35(6):2673-2684.
18. Gieger T (2011) Alimentary lymphoma in cats and dogs. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**; 41:419–432.
19. Hughes K & Dobson, JM (2012). Prognostic histopathological and molecular markers in feline mammary neoplasia. **The Veterinary Journal**, 194(1), 19-26.

20. Kerboriou F (2002) **Les lymphomes malins digestifs félines: étude histologique et immunohistochimiques de 35 cas – application au diagnostic différentiel de l'entérite lymphoplasmocytaire.** Tese de doutorado, Lyon.
21. Kiupel M, Smedley RC, Pfent C, et al (2011) Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. **Vet Pathol**; 48:212-222.
22. Kiupel M, Smedley RC, Pfent C, Xie Y et al (2011) Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. **Vet Pathol**; 48:212–22.
23. Leventaki V, Manning JT, Luthra R, Mehta P et al (2014) Indolent peripheral T-cell lymphoma involving the gastrointestinal tract. **Hum Pathol**; 45:421 –6.
24. Lingard AE, Briscoe K, Beatty JA, Moore AS et al (2009) Low-grade alimentary lymphoma: clinicopathological findings and response to treatment in 17 cases. **J Feline Med Surg**; 11:692– 700.
25. Machado TP (2017). **Estudo da expressão de B-Catenina e do KI-67 em neoplasias melanocíticas caninas.** Dissertação de Mestrado, Universidade de Passo Fundo.
26. Malamut G, Meresse B, Kaltenbach S, Derrieux C et al (2014) Small intestinal CD4+ Tcell lymphoma is a heterogenous entity with common pathology features. **Clin Gastroenterol Hepatol**; 12:599 – 608.
27. Margolskee E, Jobanputra V, Lewis SK, Alobeid B et al (2013) Indolent small intestinal CD4+ T-cell lymphoma is a distinct entity with unique biologic and clinical features. **PLoS One**; 8:e68343.
28. Marsilio S. (2021) Feline chronic enteropathy. **J Small Anim Pract** ;62(6):409-419.
29. Moore PF, Rodriguez-Bertos A, Kass PH (2011) Feline gastrointestinal lymphoma: mucosal architecture, immunophenotype, and molecular clonality. **Vet Pathol**; 49:658–68.
30. Moore PF, Rodriguez-Bertos A, Kass PH (2012) Feline gastrointestinal lymphoma: mucosal architecture, immunophenotype, and molecular clonality. **Vet Pathol**; 49:658-668.

31. Moore PF, Woo JC, Vernau W, Kosten S, Graham OS (2005) Characterization of feline T cell receptor gamma (TCRG) variable region genes for the molecular diagnosis of feline intestinal T cell lymphoma. **Vet Immunol Immunopathol**; 106(3-4):167-178.
32. Norsworthy GD, Estep JS, Hollinger C, Steiner JM et al (2015) Prevalence and underlying causes of histologic abnormalities in cats suspected to have chronic small bowel disease: 300 cases (2008-2013). **J Am Vet Med Assoc**; 247:629–35.
33. Patruno R, Passantino G, Laface C, Tinelli A et al (2020). Microvascular density, endothelial area, and Ki-67 proliferative index correlate each other in cat post-injection fibrosarcoma. **Cells**, 10(1), 31.
34. Penninck D, d'Anjou M-A (2015) Gastrointestinal tract. In: Penninck D, d'Anjou M-A, editors. **Atlas of small animal ultrasonography, second edition**. Iowa:Wiley; p. 256–308.
35. Perry AM, Warnke RA, Hu Q, Gaulard P et al (2013) Indolent T-cell lymphoproliferative disease of the gastrointestinal tract. **Blood**; 122:3599–606.
36. Richter KP (2003) Feline gastrointestinal lymphoma. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**; 33:1083–98.
37. Risetto K, Villamil JA, Selting KA, Tyler J, Henry CJ (2011) Recent trends in feline intestinal neoplasia: an epidemiologic study of 1,129 cases in the veterinary medical database from 1964 to 2004. **J Am Anim Hosp Assoc**; 47:28–36.
38. Russell KJ, Beatty JA, Dhand N, Gunew M, Lingard AE, et al (2012) Feline low-grade alimentary lymphoma: how common is it? **J Feline Med Surg**; 14:910–2.
39. Soares M, Ribeiro R, Carvalho S, Peleteiro M et al (2016) Ki-67 as a prognostic factor in feline mammary carcinoma: what is the optimal cutoff value? **Veterinary Pathology**, 53(1), 37-43.
40. Sum S, Ward CR (2009) Flexible endoscopy in small animals. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**; 39:881–902.
41. Weinkle TK et al (2008) Outcome of cats with low-grade lymphocytic lymphoma: 41 cases (1995-2005). **J Am Vet Med Assoc**; 232:405–10.
42. Willard MD (2012) Alimentary neoplasia in geriatric dogs and cats. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**; 42:693–706.

43. Wilson HM (2008) Feline alimentary lymphoma: demystifying the enigma. **Top Companion Anim Med**; 23:177–84.
44. Wolfesberger B, Skor O, Hammer SE, Flickinger I et al (2017) Does categorisation of lymphoma subtypes according to the World Health Organization classification predict clinical outcome in cats. **J Feline Med Surg**;19:897–906.
45. Wolfesberger B, Burger S, Kummer S, Walter I et al (2021) Proliferation Activity in Canine Gastrointestinal Lymphoma. **J Comp Pathol**; 189:77-87.
46. Zwingenberger AL, Marks SL, Baker TW, Moore PF (2010) Ultrasonographic evaluation of the muscularis propria in cats with diffuse small intestinal lymphoma or inflammatory bowel disease. **J Vet Intern Med**; 24(2):289-292.

CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em nosso estudo epidemiológico de 304 amostras de biopsias intestinais felinas, as doenças de origem inflamatória prevaleceram, correspondendo a 56,58% dos diagnósticos, enquanto 38,16% possuíam origem neoplásica e o restante (5,26%) foram classificados como borderlines, nos quais, a análise histopatológica isolada não foi conclusiva em determinar o diagnóstico, entre DII linfoplasmocitária e LIBG.

Nessa coorte, o diagnóstico histológico mais prevalente foi o de DII linfoplasmocitária representando 42,76% dos casos, seguido pelos linfomas intestinais (baixo e alto grau) correspondendo a 20,73% dos diagnósticos, e figurando em terceiro lugar apareceram os carcinomas intestinais representando 11,84% dos diagnósticos.

Os métodos de obtenção de amostras mais comumente empregados foram a laparotomia em 57,23% dos casos, seguida pela endoscopia, eleita em 36,18% dos casos.

A média de idade dos pacientes felinos diagnosticados com DII linfoplasmocitária foi de 6,7 anos (intervalo de 10 meses a 17 anos), enquanto a média de idade encontrada no grupo LIBG foi de 11,7 anos (intervalo de 7 a 17 anos), corroborando com os dados da literatura de que a DII tende a afetar pacientes de meia-idade a idosos, enquanto o LIBG afeta especialmente pacientes idosos, entretanto a faixa etária de ambos os distúrbios tende a se sobrepor.

A população do nosso estudo não era homogênea, houve grande prevalência de felinos sem raça definida, fazendo com que eles fossem os pacientes mais afetados tanto no grupo DII quanto no grupo LIBG, de forma que a avaliação acurada de predisposição racial não pôde ser estimada nessa população.

As biopsias de espessura total são as mais recomendadas diante da suspeita das principais enteropatias crônicas, a obtenção de amostras provenientes de intestino delgado, especialmente jejuno e íleo pode aumentar substancialmente as chances de diagnóstico.

A segunda parte dessa pesquisa se dedicou a avaliação da sensibilidade do exame histológico e imunoistoquímico para diferenciar DII e LIBG-T e à avaliação do índice de proliferação Ki67 na DII linfoplasmocitária e no LIBG-T.

Dentre os pacientes que foram submetidos a IHQ, os do grupo LIBG-T tiveram uma maior média de idade (11,9 anos) em relação ao grupo DII linfoplasmocitária (5,5anos).

A concordância entre os resultados obtidos pela histopatologia e IHQ foi de 68%. No grupo diagnosticado com DII linfoplasmocitária pela histologia isoladamente, o diagnóstico mudou para LIBG-T em 32% casos. Todos os pacientes que foram diagnosticados com LIBG-T permaneceram com o mesmo diagnóstico após a IHQ.

As médias de imunomarcagem de Ki67, que representam o índice de proliferação, foram substancialmente superiores no grupo LIBG-T em relação ao grupo DII linfoplasmocitária, tanto em epitélio quanto em lâmina própria.

Verificou-se que o índice de proliferação pode ser empregado como uma ferramenta complementar para auxiliar na diferenciação de distúrbios inflamatórios ou neoplásicos que acometem o trato gastrointestinal felino.

No tocante as perspectivas futuras, o conhecimento mais detalhado sobre a via de sinalização JAK/STAT, pode contribuir para diferenciação das duas principais enteropatias crônicas felinas. Essa via é responsável por promover diferenciação e proliferação linfoide.

No estudo conduzido por Freiche et al (2021) pacientes com LIBG-T não apresentaram expressão da via STAT3, mas a via STAT5 foi expressa em todos os casos, já na DII linfoplasmocitária houve alta expressão de PSTAT3 em lâmina, com menor expressão de PSTAT5, sinalizando que a desregulação dessa via pode estar diretamente relacionada com a expansão clonal de linfócitos neoplásicos.

Futuramente, espera-se que estudos prospectivos, duplos-cegos, de grande coorte possam confirmar a contribuição da análise do índice de

proliferação na diferenciação entre LIBG-T e DII linfoplasmocitária.