

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
RESIDÊNCIA PROFISSIONAL EM ÁREA DA SAÚDE EM SAÚDE ANIMAL E
COLETIVA

LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA- RELATO DE DOIS CASOS

Daiani Wissmann

PORTO ALEGRE

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
RESIDÊNCIA PROFISSIONAL EM ÁREA DA SAÚDE EM SAÚDE ANIMAL E
COLETIVA

LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA- RELATO DE DOIS CASOS

Autora: Daiani Wissmann

Monografia apresentado à Faculdade de Veterinária como Requisito Parcial para conclusão da residência em Saúde Animal e Coletiva na área de Patologia Clínica Veterinária.

Orientadora: Stella de Faria Valle

PORTO ALEGRE

2020

CIP - Catalogação na Publicação

Wissmann, Daiani

Leucemia Linfocítica Crônica- Relato de dois casos

/ Daiani Wissmann. -- 2020.

23 f.

Orientadora: Stella De Faria Valle.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de
Veterinária, Residência em Saúde Animal e Coletiva/ Área de
Patologia Clínica Veterinária, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Citologia . 2. Citometria de fluxo. 3. Medula óssea. I. De
Faria Valle, Stella, orient.II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

DAIANI WISSMANN

LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA- RELATO DE DOIS CASOS

Aprovada em 19 fevereiro de 2020

APROVADA POR:

Prof. Dr^aStella de Faria Valle

Orientadora e Presidente da Comissão

Médica Veterinária Dr^a Naila Cristina Blatt Duda

Membro da Comissão

Prof. Dr^a. Luciana Sonne

Membro da Comissão

RESUMO

Os presentes relatos referem-se a dois casos de leucemia linfocítica crônica em cães diagnosticados no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O primeiro trata-se de um macho, da raça Beagle, de seis anos de idade, com histórico de linfadenopatia generalizada persistente por quatro meses. O segundo caso se refere a uma fêmea, da raça Buldogue Francês, de 13 anos de idade, com histórico de emagrecimento progressivo, linfonodos cervicais e mandibulares aumentados, apresentando ainda apetite reduzido. A suspeita de leucemia linfocítica crônica foi baseada na observação de linfocitose persistente em leucogramas seriados. Sendo posteriormente diagnosticadas por meio da citometria de fluxo e por citologia aspirativa da medula óssea, respectivamente. Dessa maneira, consegue-se observar dois métodos de diagnóstico diferentes para cada um dos casos. O tratamento de ambos os casos foi realizado com quimioterápicos.

Palavras chave: citologia, citometria de fluxo, medula óssea.

ABSTRACT

The present reports refer to two cases of chronic lymphocytic leukemia in dogs diagnosed at the veterinary clinics hospital of the Federal University of Rio Grande do Sul. The first is a six year-old male Beagle, with a history of generalized lymphadenopathy persisting for four months. The second case refers to a female French Bulldog thirteen years with a history of progressive weight loss, increased submandibular and cervical lymph nodes, and reduced appetite. The suspicion of chronic lymphocytic leukemia was based on the observation of persistent lymphocytosis in serial white blood cells. They were subsequently diagnosed by means flow cytometry and bone marrow aspiration cytology respectively. In this way, it is possible to observe two different diagnostic methods for each case. The treatment of both cases was carried out with chemotherapy.

Keywords: cytology, flow cytometry, bone marrow.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Caso clínico 1- Evolução dos parâmetros hematológicos.....	12
Tabela 2- Caso clínico 2- Evolução dos parâmetros hematológicos.....	15

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD	CLUSTER OF DIFFERENTIATION
IgG	IMUNOGLOBULINA G
IgM	IMUNOGLOBULINA M
LLC	LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA
µL	MICROLITROS
PCR	REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE
%	PORCENTAGEM

LISTA DE FIGURA

Figura 1- Medula óssea com acentuada hipoplasia eritroide e acentuada hiperplasia linfocítica. Aumento de 40x.....	17
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 DESCRIÇÃO DE CASOS	12
2.1 Relato de caso 1.....	12
2.2 Relato de caso 2.....	15
3. DISCUSSÃO	18
4. CONCLUSÃO	22
5. REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

Em animais domésticos, a leucemia linfocítica crônica (LLC) é considerada incomum, sendo descrita em animais de meia idade a idosos (MCGAVIN; ZACHARY, 2013). A doença caracteriza-se por uma linfocitose acentuada a qual envolve linfócitos pequenos e médios de morfologia normal, e que pode ser observada através do acúmulo de linfócitos maduros na medula óssea e na corrente sanguínea (STOCKHAM; SCOTT, 2011).

O LLC cursa com um período longo e indolente devido a baixa taxa de renovação celular (WORKAM; VERNAU, 2003). A contagem de linfócitos no sangue periférico pode variar de 10.000 células/ μL a mais de 100.000 células/ μL (ALENCAR *et al.*, 2008; BICHARD, 2008). Por vezes, o tratamento sintomático ou quimioterapia leve são instituídos e muitos dos animais acometidos apresentam boa qualidade de vida (HELFAND; MODIANO, 2000).

Atualmente, o diagnóstico da LLC pode ser realizado através da citometria de fluxo, a fim de determinar a origem das células utilizando-se da técnica de imunofenotipagem, a qual envolve a utilização de anticorpos monoclonais direcionados contra as moléculas que se encontram presentes na superfície celular. Esta técnica é rotineiramente utilizada na medicina humana para diagnóstico de leucemias e atualmente vem sendo empregada na medicina veterinária (SUTER, 2007). Avaliação da medula óssea, bem como outras técnicas de imunofenotipagem já são utilizadas na medicina veterinária há mais tempo tais como a imunocitoquímica e a imunohistoquímica que utilizam anticorpos com reatividade cruzada para identificação de “stem cells” CD 34, linfócitos CD45, plasmócitos CD79a e monócitos (mieloperoxidase, lisozima) (SUEIRO *et al.* 2005).

Devido à baixa frequência diagnóstica de LLC e a escassa literatura referente a esta doença, o objetivo deste trabalho foi relatar dois casos de LLC diagnosticados através de método tradicional como mielograma e outro através da técnica de citometria de fluxo.

2. DESCRIÇÃO DE CASOS

2.1 RELATO DE CASO 1

Foi atendido no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS um canino, macho, da raça Beagle, de seis anos de idade, com histórico de linfadenopatia generalizada persistente por quatro meses. Durante o exame clínico não se observou outras alterações. Os exames de ultrassonografia abdominal total evidenciou aumento das dimensões do baço. Nos exames seriados pode-se observar uma leucocitose devido à intensa linfocitose e os demais parâmetros hematológicos encontram-se dentro dos valores para espécie (Tabela 1).

Tabela 1- Evolução de parâmetros hematológicos.

Parâmetros	Dia 1	Dia 51	Dia 60	Dia 83	Dia 90	Dia 184*	Dia 252*
Eritrócitos (5.5-8.5 x10 ⁶ /μL)	6.19	5.99	6.73	6.02	5.72	5.58	5.36
Hemoglobina (12-18 g/dL)	14.8	14.4	16.2	14.4	14.0	13.8	13.0
Hematócrito (37-55%)	41	40	45	43	39	39	38
VCM (60 a 77f/L)	66,2	66,8	66,9	71,4	68,2	69,9	70,8
CHCM 32 a 36%	36,0	36,0	36,0	33,5	35,9	35,4	34,2
PPT (60 a 80g/L)	72	68	72	78	78	70	74
Plaquetas (200-500 x10 ³ /μL)	470	470	475	520	480	400	519
Leucócitos totais (6-17 x10 ³ /μL)	34,5	47,9	46,2	47,1	53,9	33,0	29,0
Linfócitos (1-4,8 x10 ³ /μL)	27,6	38,3	39,3	29,2	44,7	13,5	14,8
Neutrófilos (3-11,5 x10 ³ /μL)	6,9	8,6	6,0	15,5	8,6	18,1	13,3

*Pós-quimioterapia.

Para fins de diagnóstico, realizou-se citologia do linfonodo poplíteo por punção com agulha fina. Nesse exame, verificaram-se linfócitos pequenos (50%) linfócitos médios (40%) linfócitos grandes (6%) e plasmócitos (2%) além de macrófagos (1%) contendo debris celulares e neutrófilos (1%). Linfócitos com citoplasma moderadamente basofílico em maior quantidade e núcleos paracentrais. A maioria das células exibia formato "espelho de mão" sugestivo de linfoma. Foram observadas raras figuras de mitose. Para complementação realizou-se exame

histopatológico do linfonodo poplíteo esquerdo sendo compatível com hiperplasia linfoide difusa acentuada com obliteração de alguns folículos e folículos preservados. Leve infiltrado de eosinófilos e células Mott foram observados, com seios periféricos preservados.

Cinquenta e sete dias após, optou-se por novo exame histopatológico do linfonodo poplíteo direito e, desta vez, o diagnóstico ficou entre hiperplasia linfoide atípica, sugestivo de hiperplasia linfoide paracortical ou linfoma indolente de zona T. Como tentativa de esclarecer melhor o exame de biópsia, foi realizada a técnica de imuno-histoquímica no qual o tecido linfoide apresentava folículos hiperplásicos com centros germinativos expandidos com positividade para CD3 e CD79a/PAX5 com intensa hiperplasia paracortical, raros plasmócitos MUM1 positivos em sinusoídes, marcador de proliferação/Ki67 positivo em porção de centro folicular e região paracortical favorecendo o diagnóstico de hiperplasia linfoide paracortical.

Diante dos resultados, prosseguiu-se para a eliminação de causas infecciosas que cursassem com linfadenomegalia e leucocitose, foram realizados testes sorológicos para leishmaniose, leptospirose, toxoplasmose, neosporose, brucelose, dirofilariose, anaplasose, erliquiose, todos com resultado negativo, exceto a toxoplasmose a qual apresentou uma titulação de IgG reativo em 1:320 e IgM reativo em 1:160. Testes moleculares para babesiose, rangelirose foram realizados e apresentaram resultados negativos.

Mesmo na ausência de sinais clínicos compatível com o quadro de toxoplasmose e pelo histórico de possível contato com fezes de gato, optou-se pela realização do tratamento com clindamicina, não sendo observada nenhuma melhora clínica. Os exames laboratoriais continuavam a apresentar linfocitose persistente.

Para fins de conclusão do caso, a imunofenotipagem por citometria de fluxo no sangue periférico foi sugerida como uma nova ferramenta diagnóstica menos invasiva. Nesse exame, a análise obteve porcentagem total de células CD45 (94,26% todas células hematopoiéticas, exceto células eritroides), CD3 (92,56% células T), CD21 (1,2% células B maduras), CD3/CD4 (1,46% células T/células T auxiliar), CD3/CD8- (57,6% células T/células T citotóxica), CD34 (2,8% células hematopoiéticas imaturas). Tais resultados foram compatíveis com leucemia linfocítica crônica por linfócitos T citotóxicos. O cão iniciou tratamento quimioterápico com clorambucil e prednisona, a avaliação hematológica dos dias 184 e 252 demonstram que o paciente vem

apresentando diminuição da leucocitose (Tabela 1) em decorrência do tratamento administrado e não apresenta nenhum efeito colateral da quimioterapia.

2.2 RELATO DE CASO 2

Foi atendido no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS um canino, fêmea, da raça Buldogue Francês, de 13 anos de idade, com histórico de emagrecimento progressivo, linfonodos cervicais e mandibulares aumentados e apetite reduzido. Durante a consulta, pode-se avaliar que o paciente não apresentava outras alterações ao exame de ultrassonografia abdominal total evidenciou aumento das dimensões do baço com aspecto rendilhado, grande fluxo sanguíneo ao estudo doppler, linfonodos mesentéricos craniais evidentes, com aspecto homogêneo e limites definidos. Nos exames laboratoriais seriados, foram visualizados alterações nos parâmetros hematológicos, a paciente apresentava anemia e leucocitose intensa por linfocitose, como pode se observar na tabela 2.

Tabela 2- Evolução dos parâmetros hematológicos.

Parâmetros	Dia1	Dia 49	Dia 73*	Dia 80*	Dia 90*
Eritrócitos (5.5-8.5 x10 ⁶ /μL)	4,55	4,85	4,74	4,59	4,75
Hemoglobina (12-18 g/ dL)	11,5	11,3	11,1	10,6	11,1
Hematócrito (37-55%)	33	32	33	31	31
VCM (60 a 77f/L)	72,5	66,0	69,6	67,5	65,3
CHCM 32 a 36%	34,8	35,0	33,6	34,2	35,8
PPT (60 a 80 g/L)	76	70	74	72	72
Plaquetas (200-500 x10 ³ /μL)	351	380	526	500	520
Leucócitos totais (6-17 x10 ³ /μL)	88,4	134,5	102,8	112,4	88,0
Linfócitos (1-4,8 x10 ³ /μL)	54,8	106,2	92,5	92,2	78,3
Neutrófilos (3-11,5 x10 ³ /μL)	30,9	26,9	8,22	13,4	7,04

*Pós-quimioterapia.

Para fins de diagnóstico, realizou-se punção aspirativa por agulha (PAAF) fina do linfonodo mandibular direito e cervical superficial direito, para realização de exame citológico. A amostra estava com adequada celularidade, composta por população de linfócitos pequenos a intermediários dispostos de maneira individualizada. As células eram redondas com citoplasma escasso e bem delimitado, núcleo variando de clivado a arredondado com cromatina homogênea. Frequentemente os pequenos linfócitos exibiram projeções citoplasmáticas unilaterais ("espelho

de mão”). Observaram-se ocasionais macrófagos, além de neutrófilos e plasmócitos. Sugestivo de linfoma de pequenas células.

Com base nos resultados dos exames laboratoriais do dia 49, realizou-se aspirado de medula óssea, do úmero esquerdo, para análise citológica. Foram analisadas duas lâminas para contagem de células nucleadas. Amostra com boa quantidade de espículas e elevada celularidade para a idade (Figura 1). Estoque de ferro reduzido. Número adequado de megacariócitos, com maturação ordenada. Linhagem eritroide reduzida com discreta diseritropoiese. Maturação ordenada embora tenha pequena porcentagem da linhagem eritroide madura (4,20%) e imatura (2,29%). Linhagem mieloide com discreta disgranulopoiese, células maduras (18,54%), células imaturas (1,53%), porém com maturação ordenada. Aumento da quantidade de plasmócitos (2,48%) com morfologia reativa. Grande quantidade de linfócitos (68,45%), na maioria pequenos com discreta anisocitose nuclear. Observou-se ainda discreta quantidade de linfócitos médios e grandes. Visualizou-se também raras figuras de mitoses atípicas. A interpretação foi de hipoplasia eritroide acentuada, hiperplasia linfocítica acentuada, a intensa presença de linfócitos associada à linfocitose periférica, pode sugerir LLC, após diagnóstico iniciou-se tratamento quimioterápico.

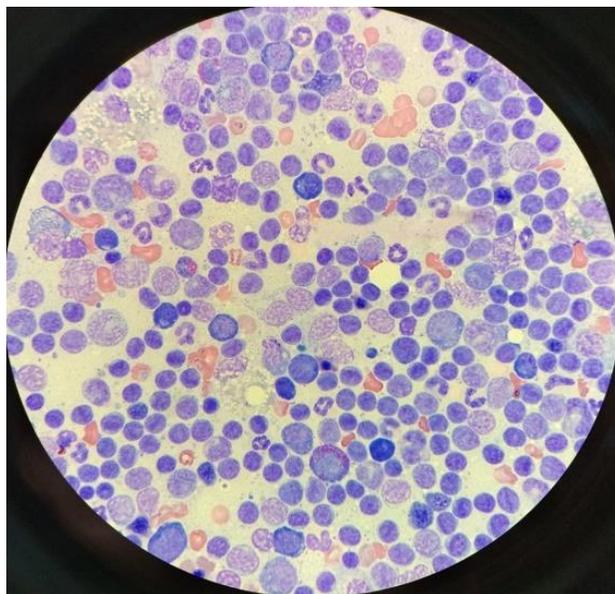


Figura 1: Micrografia da medula óssea com acentuada hipoplasia eritroide e acentuada hiperplasia linfocítica. Aumento de 40x. Fonte: Arquivo pessoal.

Os exames laboratoriais não demonstram melhora da paciente (Tabela 2), mesmo após três sessões de quimioterapia, a leucocitose mostrou-se persistente. Algumas complicações do caso levaram os tutores a optarem pela eutanásia do paciente, porém a necropsia não foi autorizada.

3 DISCUSSÃO

A maior incidência da LLC ocorre em cães de meia idade a idosos (5 a 11 anos), assim como verificado em ambos os relatos (JACOBS *et al.* 2002). Achados clínicos como letargia, anorexia e hepatoesplenomegalia também puderam ser visualizados. No caso 1, sugere-se que a infiltração da medula não tenha sido tão acentuada, uma vez que no hemograma ainda não foram visualizadas alterações na linhagem eritroide, mieloide e plaquetária nos exames realizados durante o diagnóstico e o tratamento. Já no caso 2, pode-se observar anemia, o qual sugere maior infiltração de células linfóides na medula acompanhado de diminuição de células da linhagem eritróide, constatado no mielograma. A presença de citopenias pode ser observada devido à extensa mielofitíase e torna-se aparente quando aproximadamente metade da medula óssea é substituída pelo tecido linfóide (JACOBS *et al.*, 2002).

A LLC é uma proliferação clonal neoplásica de linfócitos pequenos de aparência madura que proliferam na medula óssea ou acumulam-se na circulação manifestando-se com persistente e acentuada linfocitose periférica. Já o linfoma tende a ser mais localizado, cujas células neoplásicas surgem de células linfóides precursoras na medula óssea, podendo ou não progredir para o desenvolvimento de alterações no sangue (RASKIN; MEYER, 2016). Devido à presença de linfadenopatia generalizada optou-se pela realização do exame citológico dos linfonodos, em ambos os casos foram sugestivos de linfoma. Diferentemente da realidade do nosso país. Na prática veterinária realizada no USA, 28% dos casos de diagnóstico de linfoma baseiam-se em exames histopatológicos e a grande maioria, em torno de 88% baseiam-se em introduzir quimioterapia com base em exame citológico e ancorado por suporte de imunocitoquímica e/ou citometria de fluxo (SAPIERZYŃSKI *et al.*, 2016).

O linfoma difuso pode produzir uma população de células heterogêneas de tamanho e morfologia variável o que torna um desafio para a interpretação na citologia (BURKHARD; BIENZLE, 2013). Dessa maneira quando a citologia dos linfonodos apresentarem populações heterogêneas como observado no caso 1, a hiperplasia linfóide reativa também deve ser levada em consideração como diagnóstico diferencial. A hiperplasia linfóide reativa é diferente de linfoma pela heterogeneidade da população. Citologicamente observa-se um acréscimo de 15% na população total de linfócitos médios e grandes, mas no entanto o predomínio é de pequenos

linfócitos. Há também plasmócitos e células inflamatórias como neutrófilos, macrófagos e eosinófilos. Na histologia do linfonodo hiperplásico, observa-se desenvolvimento do centro germinativo e o paracórtex responde com expansão e aglomeração do córtex (RASKIN; MEYER 2016). Uma boa avaliação de múltiplas lâminas com critérios bem definidos pode ser útil para a diferenciação entre os dois diagnósticos.

No caso 2, a citologia sugeriu linfoma de pequenas células que é um tipo indolente que envolve linfonodos e, tradicionalmente, para identificá-lo utilizam-se critérios morfológicos (MARTINI *et al.* 2013). O padrão dessa alteração é baseada em uma população prevalente de linfócitos pequenos com citoplasma claro e frequentemente observa-se a presença de células em formato de “espelho de mão”, embora seja sugestivo, não pode ser conclusivo, e por esse motivo o exame histopatológico sempre deve ser solicitado.

A histopatologia realizada no caso 1 também sugeriu linfoma indolente de zona T. Na imuno-histoquímica, o tecido linfoide apresentava folículos hiperplásicos com centros germinativos expandidos com positividade para CD3 (marcador de linfócitos T) e CD79 α /PAX5 (marcador de linfócitos B), com intensa hiperplasia paracortical, raros plasmócitos MUM1 positivos em sinusóides, marcador de proliferação Ki67 positivo. Na histologia, o linfoma de zona T apresenta células expandindo o paracórtex e centro medular sem alterar a arquitetura nodal, a população é composta por pequenos linfócitos com núcleos endentados, nucléolos não aparentes e citoplasma moderado, ainda linfomas de células T apresentam atividade proliferativa medida pelo índice mitótico Ki67 (SAPIERZYŃSKI *et.al* 2016). Para este mesmo autor a imunocitoquímica deve ser realizada com anticorpos anti-CD3 e anti-CD79 α pois estes marcadores podem influenciar no protocolo de tratamento e no prognóstico da doença.

Devido aos achados na citologia do linfonodo no caso 1, o primeiro passo é descartar a ocorrência de doenças infecciosas, e para isso, realizaram-se diversos exames diferenciais onde houve reatividade apenas para toxoplasmose com uma titulação de IgG de 1:320 e IgM de 1:160. Uma titulação de IgG 1:64 e IgM 1:64 já pode ser considerada uma titulação com significado diagnóstico (GREENE, 2006). Para este autor, a toxoplasmose pode ocasionar necrose em cérebro, pulmão, fígado, linfonodos mesentéricos, baço, rins, áreas de necrose e atrofia cerebelar, bem como pode envolver à musculatura esquelética ocasionando redução da massa e palidez

muscular. No entanto o caso 1 não apresentava nenhum desses sinais clínicos, mas pelo fato de apresentar titulação reagente e ter histórico de contato com fezes de gato optou-se pelo tratamento, o que não influenciou no diagnóstico de LLC nem mesmo ocasionou alterações no padrão da linfocitose periférica.

Como outra forma de diagnóstico da linfocitose usada no caso 1, realizou-se a imunofenotipagem dos linfócitos no sangue periférico o qual foi compatível com leucemia linfocítica crônica apresentando imunofenótipo CD3+/CD8+. Nas espécies canina e felina, a leucemia é um distúrbio relativamente raro, no entanto, a leucemia linfóide é mais comum que a leucemia mieloide (CULMSEE; NOLTE, 2002). Os referidos autores, ainda consideram que para o diagnóstico a citometria de fluxo na última década é um componente essencial para laboratórios, pois se trata de análise rápida de múltiplas características, onde se pode avaliar propriedade e complexidade de cada célula, incluindo o conteúdo de DNA/RNA e uma variedade de proteínas intracelulares ligadas a membrana. Para isso, estabeleceu-se um painel de anticorpos para diferenciação das diferentes subpopulações de linfócitos incluindo anti-CD3, CD4, CD8, CD5, CD21, CD79 α utilizados para imunofenotipagem de leucemias linfóides em cães.

Ao contrário do caso 1, o diagnóstico de LLC no caso 2 foi sugerido através da análise citológica da medula óssea. . A citologia da medula óssea demonstra que animais acometidos por LLC apresentam uma contagem total de linfócitos pequenos maior de 30% das células nucleadas (HELFAND; MODIANO, 2000). Os referidos autores ainda consideram que pacientes com LLC podem revelar uma leve plaquetopenia e anemia normocítica normocrômica, essas alterações podem ser visualizadas no exame hematológico.

A LLC de linfócitos B parece ser de origem da medula óssea e conseqüentemente infiltrações de linfócitos são consistentemente presentes. Já em LLC de linfócitos T o desenvolvimento da doença é fora da medula, envolvendo principalmente outros órgãos como baço e secundariamente pode envolver a medula, teste com anticorpos geralmente são utilizados para identificar o tipo de célula de envolvida (HARVEY, 2012).

Os casos 1 e 2 apresentaram LLC que é indolente em cães e que frequentemente podem viver de 1 a 3 anos com uma boa qualidade de vida. Ocasionalmente síndromes paraneoplásicas

incluindo a anemia hemolítica autoimune e aplasias puras de eritrócitos tendem a resultar em curso clínico mais agressivo e um tempo de vida mais curto (WORKMAN; VERNAU, 2003).

4 CONCLUSÃO

O diagnóstico de leucemia linfocítica crônica pode ser realizada com avaliação citológica da medula óssea, técnica amplamente conhecida, e através de citometria de fluxo introduzida recentemente na medicina veterinária. A técnica de citometria de fluxo possibilita determinar a origem das células através da utilização de anticorpos monoclonais, não sendo possível a identificação destas somente com o auxílio da análise citológica.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, N.X.; MENESES, A.M.; KOHAYAGAWA, A.; TAKAHIRA, R.K.; SEQUEIRA, J.L. Leucemia linfocítica crônica em cão: relato de caso. **Revista brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 126-128, 2008.
- BICHARD, S.J.; SHERDING, R. G. Manual Saunders: Clínica de pequenos animais. 3ed. São Paulo: Roca, 2008, cap.8.
- BURKHARD, M. J; BIENZLE, D. Making Sense of Lymphoma Diagnostics in Small Animal Patients. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. Elsevier, p.43, nov. 2013.
- CULMSEE, K; NOLTE, I. Flow cytometry and its application in small animal oncology. *Methods in cell science* n.24, p. 49-54, feb.2002.
- GREENE, CRAIG. E. Infectious diseases of the dog and cat. 3.ed. cidade: Saunders,2006, cap. 80. 762- 763 p.
- HARVEY, J.W. Veterinary Hematology: A diagnostic guide and color atlas. A diagnostic guide and color atlas. 2.ed. St.Louis, Missouri: Elsevier, 2012, cap.4, 300 p.
- HELFAND, S.C.; MODIANO, J.F. Chronic lymphocytic leukemia. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Shalm's Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2000. 638-64 p.
- JACOBS, R.M.; MESSICK, J.B.; VALLI, V.E. Tumors of the Hemolymphatic System. In: MEUTEN, D.J. *Tumors in Domestic Animals*. Ames: Iowa State Press, 2002. 119-198 p.
- MARTINI, V; POGGI, A; RIONDATO, F; GELAIN, M. E; ARESU, L; COMAZZI, S. Flow-cytometric detection of phenotypic aberrancies in canine small clear cell lymphoma. *Veterinary Comparative and oncology*. v.13, n.3, 281, sep. 2013.
- Mc GAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. *Bases da Patologia em Veterinária*. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. cap. 13, 728 p.
- RASKIN, ROSE. E; MEYER, DENNY. J. . Canine and feline cytology a color atlas and interpretation guide.3. ed: Elsevier, 2016, cap.4, 154 p.
- SAPIERZYŃSKI, R; KLICKOWSKA-KLAROWICZ, K; JANKOWSKA, U; JAGIELSKI, D. Cytodiagnosics of canine lymphomas – possibilities and limitations. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. v. 19, n. 2, p. 433–439, 2016.
- STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. *Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, cap.6, 294 p.
- SUEIRO, F. A.R et al. Immunohistochemistry in diagnostic veterinary pathology: a critical review. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.41, n.4, p.263- 270, Aug. 2005.

SUTER, S.E. VERNAU, W. FRY, M.M. LONDON, C.A. CD34, CD41 acute megakaryoblastic leukemia in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 36, n.3, p. 288-292, 2007.

WORKMAN. H.C; VERNAU. W. Chronic lymphocytic leukemia in dogs and cats: the veterinary perspective. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* n. 33, p. 1379–1399, nov. 2003.