

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

ISMAEL LIRA BORGES

**LINFOMA EM CÃES: ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS,
CARACTERIZAÇÃO DO ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO
CENTRAL E LINFOMA HEPATOCITOTRÓPICO**

Patos/PB
2019

ISMAEL LIRA BORGES

Linfoma em cães: aspectos anatomopatológicos, caracterização do envolvimento do sistema nervoso central e linfoma hepatocitotrópico

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas

Co-orientador: Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza

Patos/PB
2019

B7321

Borges, Ismael Lira.

Linfoma em cães: aspectos anatomopatológicos, caracterização do envolvimento do sistema nervoso central e linfoma hepatocitotrópico / Ismael Lira Borges. – Patos, 2019.

62 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2019.

"Orientação: Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas, Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza".

Referências.

1. Medicina Veterinária – Linfoma em Cães. 2. Linfoma Hepático. 3. Linfossarcoma. 4. Neoplasia Linfóide. 5. Necropsias de Cães. I. Dantas, Antônio Flávio Medeiros. II. Galiza, Glauco José Nogueira de. III. Título.

CDU 636.092.2:616-006.6(043)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

ISMAEL LIRA BORGES

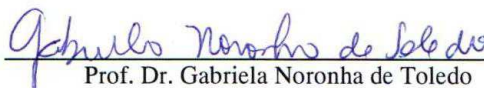
Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

APROVADO EM 25/02/2019

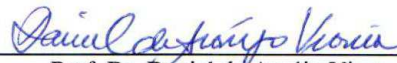
EXAMINADORES:



Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Presidente (Orientador)



Prof. Dr. Gabriela Noronha de Toledo
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Membro Externo



Prof. Dr. Daniel de Araújo Viana
Anatomia Patológica e Patologia Clínica Veterinária (Pathovet)
Membro Externo

Dedicatória

*Aos meus pais Pedro e Maria Sueli,
Obrigado por todo amor, apoio e incentivo em todas as minhas escolhas e decisões.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha família, em especial aos meus pais, Pedro Rubens Silva Borges e Maria Sueli Lira Borges, por todos os ensinamentos em toda a minha vida, pelo apoio, amor incondicional, ajuda, exemplos de força e persistência. Sou muito grato a vocês. À minha avó Maria Zilda, por todo o amor que demonstra por mim desde sempre. Ao meu sobrinho, Saul, a quem amo tanto e sempre será motivo de alegria para todos da família. À minha irmã, Cíntia, por ser um exemplo de mulher estudiosa e trabalhadora que sempre busca alcançar seus objetivos.

Ao professor Antônio Flávio, pela orientação, acolhida e oportunidade de fazer parte do LPA, além dos conhecimentos e experiências as quais tive a chance de vivenciar fazendo parte da rotina do laboratório. Muito obrigado por tudo.

Ao professor Glauco, pela co-orientação, ajuda e ensinamentos repassados durante todo esse tempo. Sou muito grato ao senhor.

Ao professor Fernando Vaz por todo o apoio e confiança. Obrigado!

Ao professor e amigo Daniel de Araújo Viana que sempre me acolheu e repassou seus conhecimentos durante a graduação e continua me auxiliando até hoje. Obrigado por tudo e por ter aceitado o convite de participar da banca de mestrado.

A professora Gabriela Toledo por ter aceitado prontamente o convite de participar da banca e por ter contribuído tanto em tão pouco tempo com todo seu conhecimento.

Ao professor Rafael Figuera pela oportunidade de estágio em Santa Maria durante minha residência. Por todo o conhecimento repassado, acessibilidade e atenção. Muito obrigado.

A todos os colegas do LPA (Luana, Telma, Aline, Rodrigo, Raquel Verde, Jussara, Gian, Édipo, Jefferson, Millena, Platiní, Flaviane, Talita, Lisanka e Robério) por todos esses anos que estivemos juntos nos ajudando e compartilhando conhecimentos.

Agradeço em especial aos colegas de profissão e amigos que fiz em Patos, Jussara, Raquel Verde, Rodrigo, Gian e Édipo. Muito obrigado por esses três anos de convivência, de estudos e de risadas. A nossa amizade e convivência diária sempre foi motivo de alegria.

Meu muito obrigado a minha amiga Luana. Sem palavras para descrever o tamanho da admiração que tenho por você. Pessoa maravilhosa com um coração imenso que tive o prazer de conhecer e que nunca esquecerei.

Ao meu amigo Jeff por todo o companheirismo em todos esses anos de patologia desde a graduação. Serei eternamente grato por toda ajuda

Ao Davi Emanuel, futuro companheiro de trabalho, meus eternos agradecimentos por toda a amizade, sabedoria e conhecimento que você me passou. Muito obrigado meu amigo.

A Taís Meziara por toda a confiança, troca de conhecimentos e amizade que com certeza durará a vida toda.

Aos estagiários do LPA por toda a amizade e auxílio na rotina do laboratório. Aos que ainda permanecem, em especial a Karolzinha, Jôvanna, Yanca e Mirellé, aos que já saíram do laboratório, em especial a Belisa Aguiar, e aos que vieram de outras universidades (Hellen, João Ricardo, Laynaslan, Isabela e Willes). Obrigado.

A todos os funcionários da UFCG, em especial a Maria das Neves e Dona Joana por toda a ajuda na organização do laboratório, processamento das lâminas e por repassar seus conhecimentos técnicos.

Ao meu grande amigo Agrício Moreira que apesar de todas as raivas, estaremos sempre nos ajudando. Obrigado por tudo.

Aos meus amigos de morada em Patos, Sávio e Talles. Muito obrigado por todo o apoio, discussões e troca de conhecimentos.

À vetfamily UFERSA (Artur, Ramon, Victor, Poliana, Mayara, Ianne, Isabelle e Sávio) pela amizade durante toda o tempo de residência em Mossoró.

Ao PATHOVET, local onde iniciei minha jornada na patologia, e a todos os estagiários que sempre nos ajudaram e que hoje se tornaram colegas de profissão na mesma área (Magna, Cadu, Fábio e Samanta).

Aos meus amigos da graduação, em especial, a minha grande amiga Priscylla Magalhães que me apoia, me escuta e me ajuda sempre que preciso.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa.

MUITO OBRIGADO A TODOS!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
LISTA DE TABELAS.	11
LISTA DE FIGURAS..	12
INTRODUÇÃO GERAL.	14
REFERÊNCIAS.	15
CAPÍTULO I Caracterização clínica e anatomopatológica de linfomas em cães: 51 casos.....	18
1 ABSTRACT..	19
2 INTRODUÇÃO... ..	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS... ..	22
4 RESULTADOS.	23
5 DISCUSSÃO	30
6 REFERÊNCIAS.	32
CAPÍTULO II Aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-histoquímicos de linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães: 7 casos.....	34
1 RESUMO.....	36
2 INTRODUÇÃO.....	37
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
4 RESULTADO.....	38
5 DISCUSSÃO.....	46
6 REFERÊNCIAS.....	48
CAPÍTULO III Linfoma hepatocitotrópico de células T em cão: relato de caso... ..	50
1 RESUMO.....	51
2 REFERÊNCIAS.....	60
CONCLUSÃO GERAL....	62

RESUMO

Foi realizado um estudo retrospectivo dos casos de necropsias de cães diagnosticados com linfomas no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Paraíba durante o período de janeiro de 1986 a dezembro de 2018. O estudo resultou em três capítulos da dissertação. O primeiro intitulado como “Caracterização clínica e anatomopatológica de linfomas em cães: 51 casos” abordou a frequência de cães com linfomas, seus perfis referentes a idade, sexo e raça, sinais clínicos, aspectos macroscópicos e microscópicos das lesões. De 2600 necropsias realizadas em cães, 304 foram diagnosticados com distúrbios neoplásicos e destes, 51 com linfoma. Os machos foram mais afetados que as fêmeas e a idade média dos cães foi de 7,8 anos. Os animais sem raça definida e os puros das raças Rottweiler e Poodle foram os mais acometidos. Os principais sinais clínicos foram: anorexia, linfadenomegalia, mucosas hipocoradas, icterícia, apatia, prostração, lesões cutâneas e vômito. Cinco animais apresentaram linfomas isolados em fígado (2 casos), coração (2 casos) e rim (1 caso). Já 46 apresentaram linfomas multicêntricos afetando, principalmente fígado, linfonodo, baço, rins, pulmão, pele e coração. Foram visualizadas diferentes apresentações macroscópicas e microscópicas. O segundo capítulo intitulado de “Aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-fenotípicos de linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães: 7 casos” teve o objetivo de descrever setes casos esporádicos de linfomas secundários para o sistema nervoso central em cães detalhando as características da população em estudo, os sinais clínicos apresentados, os achados macroscópicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos. Quatro animais eram machos e três fêmeas e a idade média dos cães acometidos foi de 7,4 anos. Três animais eram sem raça definida, dois da raça Rottweiler, um Dachshund e um Pastor Alemão. Os sinais clínicos consistiram de convulsão, ataxia, dor local, opistótono, cegueira bilateral e síndrome de Schiff-Scherrington. As lesões macroscópicas ocorreram, principalmente nas meninges e no encéfalo. Microscopicamente o principal padrão de distribuição foi o intravascular e quatro casos foram classificados como linfomas de células T periféricos inespecíficos e três como linfomas intravasculares de células T. O terceiro capítulo intitulado de “Linfoma hepatocitotrópico de células T em cão: relato de caso” contemplou um caso raro de linfoma hepatocitotrópico em um cão, sem raça definida, macho de 11 anos, enfatizando seus aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-histoquímicos. O cão apresentava inapetência, anorexia, vômito, diarreia, icterícia, hepatomegalia e alterações nas bioquímicas séricas hepáticas e renais. Na necropsia observou-se fígado difusamente amarelado e aumentado de tamanho com bordos abaulados e acentuação do padrão lobular. Microscopicamente, observou-se infiltração difusa de células linfoides neoplásicas na luz de sinusóides e dissecando os cordões de hepatócitos individualmente ou em pequenos agrupamentos. Infiltrado semelhante foi observado nos rins. O perfil imuno-histoquímico revelou co-expressão CD3/CD20 com predomínio de células neoplásicas CD3 positivas sendo classificado como linfoma hepatocitotrópico de células T. Com esse trabalho foi possível determinar a frequência de cães com linfomas diagnosticados em necropsias no Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal de Campina Grande constatando ser uma neoplasia frequente na rotina e uma das principais causadoras de morte nesses animais. Acometeram os diversos sistemas incluindo o nervoso e apresentaram grande variedade de sinais clínicos e aspectos macroscópicos e microscópicos.

PALAVRAS-CHAVE: cães, fígado, linfossarcoma, sistema nervoso central.

ABSTRACT

A retrospective study of the necropsy cases of dogs diagnosed with lymphomas was carried out in the Laboratory of Animal Pathology of the Veterinary Hospital Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa of the Federal University of Campina Grande, Patos Campus, Paraíba over the period from January 1986 to December 2018. The study resulted in three chapters of the dissertation. The first one entitled "Clinical and anatomopathological characterization of lymphomas in dogs: 51 cases" addressed the frequency of dogs with lymphomas, their age, sex and breed profiles, clinical signs, macroscopic and microscopic findings. Of 2600 necropsies performed in dogs, 304 were diagnosed with neoplastic disorders and of these, 51 with lymphoma. Males were more affected than females and average age of dogs was 7.8 years old. The mixed breed, Rottweilers and Poodles were the most affected breeds. The main clinical signs were: anorexia, lymphadenomegaly, pale mucosae, jaundice, apathy, prostration, skin lesions and vomiting. Five animals had isolated lymphomas in the liver (2 cases), heart (2 cases) and kidney (1 case). Already 46 had multicentric lymphomas affecting, mainly liver, lymph node, spleen, kidneys, lung, skin and heart. Different macroscopic and microscopic lesions were visualized. The second chapter entitled "Clinical, anatomopathological and immunohistochemical features of lymphomas involving the central nervous system in dogs: 7 cases" aimed to describe seven sporadic cases of secondary lymphomas of the central nervous system in dogs pointing the characteristics of the study population, the clinical signs, the macroscopic, histopathological and immunohistochemical findings. Four animals were males and three females and the mean age of the affected dogs was 7.4 years old. Three animals were mixed breed, two Rottweilers, one Dachshund and one German Shepherd. Clinical signs consisted of seizures, ataxia, local pain, opisthoton, bilateral blindness, and Schiff-Scherrington syndrome. Mainly, macroscopic lesions occurred in the meninges and in the encephalon. Microscopically the main distribution pattern was intravascular and four cases were classified as nonspecific peripheral T-cell lymphomas and three as intravascular T-cell lymphomas. The third chapter titled "Hepatocytotropic T-cell lymphoma in a dog: case report" included a rare case of hepatocytotropic lymphoma in a cross-breed dog, 11-year-old male, highlighting its clinical, anatomopathological and immunohistochemical findings. The dog showed inappetence, anorexia, vomiting, diarrhea, jaundice, hepatomegaly and alterations in hepatic and renal serum biochemistry. At the necropsy we observed a diffusely yellowish and enlarged liver with bulging edges and accentuation of the lobular pattern. Microscopically, diffuse infiltration of neoplastic lymphoid cells was observed in the sinusoid lumen and dissecting the hepatocyte strands individually or in small clusters. Similar infiltrate was observed in the kidneys. The immunohistochemical profile revealed CD3 / CD20 co-expression with a predominance of CD3-positive neoplastic cells being classified as hepatocytotropic T-cell lymphoma. With this work it was possible to determine the frequency of dogs with lymphomas diagnosed at necropsies at the Laboratory of Animal Pathology of the University Federal de Campina Grande found that it is a frequent neoplasm in the routine and one of the main causes of death in these animals. They affected the various systems including the nervous system and showed a great variety of clinical signs and macroscopic and microscopic lesions.

KEY-WORDS: dogs, liver, lymphosarcoma, central nervous system.

LISTA DE TABELAS

	Páginas
CAPÍTULO 1 Caraterização Clínica e Anatomopatológica de Linfomas em Cães: 51 casos	18
TABELA 1 - Dados referentes a raça, sexo e idade média de cães diagnosticados com linfomas em necropsias no HV/CSTR/UFCG, Patos, PB, no período de 1986 a 2018.....	23
TABELA 2 - Frequência dos sinais clínicos divididos por sistemas em cães com linfomas diagnosticados no HV/CSTR/UFCG, Patos, PB, no período de 1986 a 2018... ..	24
TABELA 3 - Frequência dos órgãos afetados divididos por sistemas em cães com linfomas diagnosticados no HV/CSTR/UFCG, Patos, PB, no período de 1986 a 2018... ..	25
CAPÍTULO 2 Aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-fenotípicos de linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães: 7 casos.... ..	34
TABELA 1 - Dados referentes a sexo, raça, idade e órgãos afetados de cães com linfomas com envolvimento de sistema nervoso central.....	39
TABELA 2 - Sinais clínicos, região afetada do SNC e macroscopia dos casos de linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães.....	41

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
CAPÍTULO 1 Caracterização clínica e anatomopatológica de linfomas em Cães: 51 casos	18
FIGURA 1 - Aspectos macroscópicos de linfomas em cães. A) Fígado. Observa-se nódulos multifocais a coalescentes, amarelados a esbranquiçados e firme distribuídos por todo o parênquima. B) Linfonodo mesentérico. Formação de grande massa irregular e multilobulada (seta) aderida às alças intestinais. C) Linfonodo. Superfície de corte difusamente amarelada com área focal periférica avermelhada. D) Baço. Observa-se nódulos multifocais a coalescentes, esbranquiçados e umbilicados (seta) na superfície capsular. E) Rim. Região cortical com nodulações multifocais a coalescentes e esbranquiçadas (seta). F) Coração. Áreas multifocais a coalescentes e esbranquiçadas, na superfície epicárdica.....	27
FIGURA 2 - Aspectos macroscópicos de linfomas em cães. A) Pulmão direito. Visualiza-se dois nódulos (setas), um esbranquiçado no lobo cranial e outro acinzentado no lobo médio na superfície pleural. B) Músculo esquelético. Nódulo infiltrativo esbranquiçado multilobulado por entre as fibras musculares C) Estômago. Múltiplos nódulos (setas) com extensão desde a submucosa até a serosa. D) Adrenal. Arquitetura com aspecto gelatinoso, acinzentado e brilhante. E) Testículo. Aumentado de tamanho com superfície de corte difusamente rugosa e esbranquiçada. F) Trato urinário. Massa irregular esbranquiçada (seta) envolvendo o ureter medindo 13,0 cm de diâmetro.....	29
CAPÍTULO 2 Aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno- fenotípicos de linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães: 7 casos.....	34
FIGURA 1 - Linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães. A) Encéfalo (caso 2). Observa-se congestão difusa das leptomeninges associada a áreas multifocais a coalescentes puntiformes e avermelhadas. B) Encéfalo (caso 7). Observa-se congestão difusa das leptomeninges C) Encéfalo (caso 6). Superfície de corte com área focalmente extensa acinzentada com centro enegrecido que se estende desde o córtex frontal (seta) até os núcleos da base, onde se tornava brancacenta.....	42

FIGURA 2 -	<p>Linfomas de sistema nervoso central de cães. A) Leptomeninges (caso 1). Infiltrado intravascular de células linfoides neoplásicas (seta) associado a meningite linfoplasmocitária. HE. Obj.40x. B) Encéfalo (caso 2). Infiltrado intravascular de células linfoides neoplásicas associado a trombo de fibrina (asterisco) nas leptomeninges. HE. Obj.10x. C) Medula espinhal (caso 3). Proliferação extradural de células neoplásicas (asterisco). HE. Obj. 4x. D) Encéfalo (caso 4). Infiltrado perivascular de células neoplásicas (setas) no parênquima. HE. Obj. 10x. E) Encéfalo (caso 4). Células neoplásicas ao redor de vaso sanguíneos no parênquima cortical. HE. Obj. 40x. F) Encéfalo (caso 6). Proliferação focalmente extensa de linfócitos neoplásicos no parênquima cortical. HE. Obj.20x. G) Leptomeninges (caso 1). Imunomarcção positiva das células neoplásicas intravasculares para CD3 (seta). IHQ. Obj.20x. H) Leptomeninges (caso 2). Células linfoides neoplásicas intravasculares imunomarcadas positivamente para CD3. IHQ. Obj.20x I) Encéfalo (caso 4). Imunomarcção positiva de infiltrado perivascular de células neoplásicas para CD3. IHQ. Obj. 20x..... .. 45</p>	45
-------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

CAPÍTULO 3 Linfoma hepatocitotrópico de células T em cão: relato de caso..... .. 50

FIGURA 1	<p>Linfoma hepatocitotrópico em cão. Observa-se fígado difusamente amarelado e aumentado de tamanho com bordos abaulados e acentuação do padrão lobular 54</p>	54
-----------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

FIGURA 2	<p>Linfoma hepatocitotrópico em cão. No fígado observa-se acentuado infiltrado neoplásico difuso de células linfoides individualizadas ou formando pequenos agrupamentos na luz dos sinusóides e dissecando os cordões de hepatócitos. HE. Obj. 40x..... .. 55</p>	55
-----------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

FIGURA 3	<p>Linfoma hepatocitotrópico em cão. No fígado observa-se células neoplásicas aparentemente dentro do citoplasma de um hepatócito (seta). HE. Obj.100x... .. 56</p>	56
-----------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

FIGURA 4	<p>As células linfoides neoplásicas são intensamente positivas para CD3. IHQ. Obj.40x..... .. 57</p>	57
-----------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

INTRODUÇÃO GERAL

As neoplasias ou neoplasmas podem ser definidas como um crescimento e proliferação anormal de células derivadas de tecidos normais, as quais sofrem alterações genéticas e passam a não responder aos estímulos do organismo resultando em expansão e/ou infiltração com disseminação para diversos tecidos (NEWKIRK et al., 2017). Os distúrbios neoplásicos estão entre as quatro principais causas de morte em cães observadas na literatura veterinária (BONNETT et al., 2005; FIGHERA et al., 2008; TRAPP et al., 2010; FLEMING et al., 2011; BATISTA et al., 2016). Dentre as neoplasias que acometem os cães, os linfomas estão entre as mais prevalentes e constituem os neoplasmas hematopoiéticos mais comuns (DALECK et al. 2016; BONNETT et al., 2005; FIGHERA et al., 2008; MERLO et al., 2008; ZUCKERMANN et al., 2013).

O linfoma ou linfossarcoma, é uma neoplasia maligna oriunda de linfócitos que geralmente tem origem em órgãos linfoides como linfonodos e baço, mas podem acometer qualquer órgão primariamente ou por meio de metástases (VALLI et al., 2017). A etiologia dos linfomas é desconhecida (VAIL et al., 2013). Ocorre mais comumente em cães adultos a idosos e geralmente, os machos são mais acometidos (ZUCKERMANN et al., 2013; GAL et al., 2015). Boxer, Golden Retriever, Labrador, Rottweiler, Poodle, e Chow-chow estão entre as raças com maior incidência dessa neoplasia (EDWARDS et al., 2003; CUNHA et al., 2011; DALECK et al. 2016).

Os linfomas podem ser caracterizados de acordo com sua localização anatômica, características histológicas e imunofenotípicas (VALLI et al., 2017). Anatomicamente, podem ser classificados em multicêntricos, alimentares, mediastínicos, cutâneos e extranodais, e os sinais clínicos dependerão da localização da neoplasia (VAIL et al., 2013). O linfoma multicêntrico é caracterizado pela proliferação neoplásica em órgãos hematopoiéticos, principalmente os linfonodos, causando linfadenomegalia que pode ser observada em um ou mais linfonodos podendo apresentar envolvimento hepático e esplênico concomitante (FIGUERA e GRAÇA, 2016). Cães com linfoma mediastínico apresentam massas na região torácica que envolvem o timo ou os linfonodos mediastínicos e podem apresentar dispnéia e tosse (BOES e DURHAM, 2017). O linfoma alimentar caracteriza-se por nódulos nas paredes do estômago e/ou intestino que resultam em quadros de diarreia e êmese (EDERLI et al., 2009). Áreas eritematosas, esfoliativas e alopecias, despigmentação e ulceração mucocutânea, e placas ou nódulos múltiplos ou únicos são lesões observadas no linfoma cutâneo (FIGHERA et al., 2006; FONTAINE et al., 2009). Outros órgãos podem ser afetados

1 primariamente como globo ocular (HESSE et al., 2015), cavidade nasal (RODRIGUES et al,
2 2016), coração (PEIXOTO et al., 2016) e rins (COSTA NETO et al., 2012). Os linfomas de
3 sistema nervoso central (SNC) em cães, quando primários, são também denominados de
4 extranodais, porém ocorrem, principalmente através de processos metastáticos (HIGGINS et
5 al., 2017; SISÓ et al., 2017). Os sinais neurológicos observados nesses casos incluem
6 convulsões, depressão, ataxia, paresia e dor local (LARUE et al., 2018; DEGL'INNOCENTI,
7 S. et al., 2019).

8 O diagnóstico dos linfomas é realizado principalmente, através de exames citológicos e
9 histopatológicos. Adicionalmente, o uso de técnicas imuno-histoquímicas fornece informações
10 a respeito da linhagem linfoide (linfócitos B, T ou Natural Killer) de origem da neoplasia
11 (BOES e DURHAM, 2017). Atualmente, os linfomas são classificados de acordo com a
12 Organização Mundial de Saúde (OMS) fundamentada nos critérios histológicos da *Revised*
13 *European-American Classification of Lymphoid Neoplasms* (REAL) (VALLI et al., 2017) que
14 se baseia na topografia do tumor, morfologia celular, imuno-fenótipo, características genéticas,
15 apresentação e curso clínico. Em geral, a incidência de linfomas de células B é maior do que os
16 de células T em cães (PONCE et al., 2010; PECEGO, 2012). Os principais tipos são o linfoma
17 difuso de grandes células B, o linfoma de células T periférico inespecífico, linfoma de zona T,
18 linfoma linfoblástico linfonodal e o linfoma da zona marginal (VALLI et al., 2017). Os outros
19 tipos são considerados incomuns e dentre eles, está o linfoma hepatocitotrópico que será
20 abordado em um dos artigos dessa dissertação.

21 Dessa forma, devido à necessidade de trabalhos que melhor caracterizem e detalhem
22 formas comuns e incomuns de linfomas em cães, essa dissertação teve como objetivo descrever
23 os aspectos clínicos e anatomopatológicos de linfomas diagnosticados em necropsias de cães
24 no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon
25 Macêdo Tabosa da Universidade Federal de Campina Grande (LPA/HVU/UFCG), destacando
26 o perfil imuno-fenotípico de sete casos com envolvimento de sistema nervoso central (SNC) e
27 um caso raro de linfoma hepatocitotrópico de células T.

28

29

REFERÊNCIAS

30

31 BATISTA, E.K.F. et al. Estudo retrospectivo de diagnósticos post-mortem de cães e gatos
32 necropsiados no Setor de Patologia Animal da Universidade Federal do Piauí, Brasil de 2009 a
33 2014. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, n.1, p.88-96,
34 2016.

- 1 BOES, K.M; DURHAM, A.C. Bone Marrow, Blood Cells, and the Lymphoid/Lymphatic
2 System Neoplasia. In.: ZACHARY, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 6th ed. St.
3 Louis, Missouri: Elsevier, 2017. p.724-804.
- 4
- 5 BONNETT, B.N. et al. Mortality in over 350,000 Insured Swedish dogs from 1995-2000: I.
6 Breed-, gender-, age- and cause-specific rates. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 46, n. 3,
7 p.105-120, 2005.
- 8 COSTA NETO, J.M. et al. Linfoma primário renal em cão: relato de caso. **Medicina**
9 **Veterinária**, v.6, n.1, p.11-17, 2012.
- 10 CUNHA, F.M. et al. Linfoma multicêntrico em Canis familiaris (cão doméstico): estudo
11 retrospectivo de 60 casos, entre agosto de 2009 e dezembro de 2010, no Município de São
12 Paulo-SP. **Journal of the Health Sciences Institute**, v.29, n.4, p.299-301, 2011.
- 13 DALECK, C.R.; CALAZANS, S.G.; DeNARDI, A.B. Linfomas. In.: DALECK, C.R.
14 DeNARDI, A.B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. 2 ed. São Paulo: Roca, p. 482-
15 487, 2016.
- 16 DEGL'INNOCENTI, S. et al. Canine Cerebral Intravascular Lymphoma: Neuropathological
17 and Immunohistochemical Findings. **Veterinary Pathology**, v.56, n.2, p.239-243, 2019.
- 18 EDERLI, B.B. et al. Linfoma intestinal em cão: diagnóstico e tratamento - relato de caso.
19 **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.31, n.1, p.39-42, 2009.
- 20 EDWARDS, D.S. et al. Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs.
21 **Veterinary Comparative Oncology**, v.1, n.4, p.200-206, 2003.
- 22 FIGHERA, R.A. et al. Aspectos clinicopatológicos de 43 casos de linfoma em cães. **Medvep -**
23 **Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**,
24 v.4, n.12, p.139-146, 2006.
- 25 FIGHERA, R.A. et al. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do
26 Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.4,
27 p.223-230, 2008.
- 28 FIGUERA, R.A.; GRAÇA, D.L. Sistema Hematopoiético. SANTOS, R. L.; ALESSI. A.C.
29 **Patologia Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. p.311-405.
- 30 FONTAINE, J. et al. Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review. **Veterinary**
31 **Comparative Oncology**, v.7, n.4, p.1-14, 2009.
- 32 FLEMING, J.M.; CREEVY, K.E.; PROMISLOW, D.E.L. Mortality in North American dogs
33 from 1984 to 2004: an investigation into age-, size-, and breed-related causes of death. **Journal**
34 **of Veterinary Internal Medicine**, v.25, p.187-198, 2011.
- 35 GAL, A.F. et al. Comparative Data Concerning the Incidence of Tumors in Dogs in a Period of
36 Ten Years in Athens (Greece) and Cluj-Napoca (Romania). **Bulletin UASVM Veterinary**
37 **Medicine**, v.72, n.2, p. 371-377, 2015.
- 38 HESSE, K.L. et al. Neoplasmas oculares e de anexos em cães e gatos no Rio Grande do Sul:
39 265 casos (2009 -2014). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.1, p.49-54, 2015.

- 1 HIGGINS, R.J.; BOLLEN, A.W.; DICKINSON, P.J. Tumors of the Nervous System. In.:
2 MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 5th ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc.,
3 2017. p. 834-931.
- 4 LARUE, M. K. et al. Central nervous system lymphoma in 18 dogs (2001 to 2015). **Journal**
5 **Of Small Animal Practice**, v. 59, n. 9, p.547-552, 2018.
- 6 MERLO, D.F. Cancer Incidence in Pet Dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa,
7 Italy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.22, p.976–984, 2008.
- 8 NEWKIRK, K.M.; BRANNICK, E.M.; KUSEWITT, D.F. Neoplasia and Tumor Biology. In.:
9 ZACHARY, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier,
10 2017. p.286-321.
- 11
- 12 PECEGO, R.G. **Linfoma canino: classificação histopatológica, imunofenotipagem e**
13 **expressão de p53**. 2012. 41f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de
14 Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2012.
- 15 PEIXOTO, T.C. et al. Linfoma primário cardíaco associado à leishmaniose visceral em cão -
16 Relato de Caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.38, p.47-54, 2016.
- 17 PONCE, F. et al. A Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in
18 France With a Focus on Comparative Similarities Between Canine and Human Lymphoma
19 Morphology. **Veterinary Pathology**, v.48, n.1, p.198-211, 2010.
- 20 RODRIGUES, R.T.G.A. et al. Linfoma intranasal em cão: aspectos clínico-patológicos e
21 imunoistoquímicos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.10, n.1, p.84-91, 2016.
- 22 SISÓ, S. et al. Canine Nervous System Lymphoma Subtypes Display Characteristic
23 Neuroanatomical Patterns. **Veterinary Pathology**, v.54, n.1, p. 53-60, 2017.
- 24 TRAPP, S.M. et al. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de
25 cães e gatos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 5, p.
26 395-402, 2010.
- 27 VAIL, D.M.; PINKERTON, M.E.; YOUNG, K.M. Hematopoietic Tumors: canine lymphoma
28 and lymphoid leukemias. In.: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M.; PAGE, R.L. **Withrow &**
29 **MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 5th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2013.
30 p.608-615.
- 31 VALLI, V.E.; BIENZLE, D.; MEUTEN, D.J. Tumors of the Hemolymphatic System. In.:
32 MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 5th ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc.,
33 2017. p. 206-2010.
- 34 ZUCKERMANN, I.C.S. et al. Incidence and types of canine tumours in Croatia.
35 **VETERINARSKI ARHIV**, v.83, n.1, p.31-45, 2013.

36

37

38

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

CAPÍTULO I

Caraterização Clínica e Anatomopatológica de Linfomas em Cães: 51 casos

Trabalho será submetido a *Acta Scientiae Veterinariae*
(Qualis B1)

1 Caraterização clínica e anatomopatológica de linfomas em cães: 51 casos

2 Ismael Lira Borges¹, Isabel Luana de Macêdo¹, Jefferson da Silva Ferreira¹, Millena de
3 Oliveira Firmino¹, Rosileide dos Santos Carneiro², Daniel de Araújo Viana, Glauco José
4 Nogueira de Galiza¹, Antônio Flávio Medeiros Dantas¹

5 ¹Laboratório de Patologia Animal (LPA) e ²Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais
6 (CMPA). Hospital Veterinário Universitário Dr. Ivon Macêdo Tabosa. Centro de Saúde e
7 Tecnologia Rural (CSTR). Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB,
8 Brazil. ³Laboratório PATHOVET – Anatomia Patológica e Patologia Clínica Veterinária,
9 Fortaleza, CE. CORRESPONDENCE: I.L. Borges [Ismael.Lborges@yahoo.com.br – Tel: +55
10 (83) 99968-1561]. Hospital Veterinário Universitário Dr. Ivon Macêdo Tabeosa, Av.
11 Universitária S/N, Bairro Santa Cecília. CEP: 58708-110 Patos, PB, Brazil.

12 ABSTRACT

13 **Background:** Lymphomas are malignant neoplasms originating from lymphocytes that
14 originate mainly in lymphoid organs such as lymph nodes and spleen. In Brazil, lymphomas
15 are considered the most common hematopoietic neoplasms in dogs and one of the main causes
16 of death. Thus, the objective of this study was to determine the frequency of lymphomas
17 diagnosed in dogs at the Laboratory of Animal Pathology of the Federal University of Campina
18 Grande in a 32-year period, highlighting the clinical, macroscopic and histopathological
19 findings.

20 **Materials and methods:** It was reviewed the necropsy database of the Laboratory of Animal
21 Pathology of the University Veterinary Hospital of the Rural Health and Technology Center of
22 the Federal University of Campina Grande, Patos, Paraíba, Brazil, from January 1986 to
23 December 2018, in order to select the cases of lymphomas diagnosed in dogs. Data regarding
24 breed, sex, age, clinical signs, macroscopic and microscopic findings were collected.

1 **Results:** During the study 2600 dog necropsies were performed, of which 304 (11.7%) dogs
2 were diagnosed with neoplastic disorders and of these 51 cases of lymphoma (16.8%). The
3 average age was 7.8 years old. Males (60.8%) were more affected than females (39.2%). Mixed-
4 breed (49.0%), Rottweiler (13.7%) and Poodle (11.8%) were the most affected. The dogs had
5 different clinical signs. The main ones were anorexia, pale mucous membranaes, jaundice,
6 apathy and prostration. Regarding the affected organs, it was described mainly in liver, lymph
7 nodes, spleen and kidneys. The main macroscopic lesions consisted of nodules or masses,
8 diffuse enlargement of the organs or presence of the whitish flat to yellowish areas.

9 **Discussion:** Lymphoma cases corresponded to 16.8% of all canine tumors, frequency similar
10 to that observed in other studies. These data confirmed the importance of the diagnosis of this
11 neoplasm since it is a common disease in dogs. The large age variation shows that the disease
12 can affect young, adult and old animals. The mixed-breed dogs were the most affected, however
13 the Rottweilers and Poodles are listed as predisposed for lymphomas. The classic anatomic
14 classification of lymphomas was not performed, because in most cases the initial site of tumor
15 growth was not determined, either because it was not reported in the records or because, at the
16 time of the appointment, the animals already had metastases. In general, lymphomas affect the
17 hematopoietic system, mainly lymph nodes and spleen as observed in the present study. The
18 macroscopic lesions observed in the lymphoid organs in the present study were consistent with
19 those reported in the literature. The main clinical signs observed were related to the digestive
20 system, such as anorexia and vomiting. These findings may occur due to direct involvement by
21 neoplastic infiltration of gastrointestinal tract organs or other systems such as the urinary tract,
22 or by paraneoplastic syndromes. The main organ affected was the liver, a fact that explains the
23 high frequency of jaundiced dogs. Several organs were diagnosed only in the microscopy
24 emphasizing the importance of collection at the time of necropsy and histopathological
25 processing of the organs. It has been concluded that lymphomas are frequent neoplasias in dogs

1 and have a wide variety of clinical signs that depend on the affected organs. Multicentric
2 lymphomas were the most common, the hematopoietic system was the most affected and the
3 liver was the most affected organ. These findings highlight the importance of physical,
4 laboratory and imaging tests for clinical staging and better therapeutic management.

5

6

INTRODUÇÃO

7 Os linfomas são neoplasias malignas oriundas de linfócitos que tem origem,
8 principalmente em órgãos linfóides como linfonodos e baço e são classificados de acordo com
9 sua localização anatômica, características histológicas e imunofenotípicas [16].
10 Anatomicamente, baseiam-se nos sítios primários de origem da neoplasia e contemplam, em
11 ordem de prevalência, os linfomas multicêntricos, alimentares, mediastínicos e extranodais
12 [15]. Os sinais clínicos observados em cada forma variam de acordo com os órgãos acometidos
13 [6]. Microscopicamente, os linfomas são classificados conforme a Organização Mundial de
14 Saúde fundamentada nos critérios histológicos da *Revised European-American Classification*
15 *of Lymphoid Neoplasms* (REAL) [16].

16 No Brasil, os linfomas são as neoplasias hematopoéticas mais comuns em cães e uma
17 das principais causas de morte ou razão para eutanásia nesses animais [1,5,8,10]. Dessa forma,
18 a caracterização anatomopatológica por meio da necropsia em cães afetados por essa neoplasia
19 é fundamental para compreender o envolvimento e as alterações comumente ou raramente
20 observadas nos mais variados órgãos e sistemas. O maior detalhamento dos padrões de lesões
21 auxilia na elucidação diagnóstica e na melhor compreensão dos sinais clínicos e complicações
22 observadas *in vivo*. O objetivo do trabalho foi caracterizar os linfomas diagnosticados em
23 necropsias de cães no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Universitário
24 Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa da Universidade Federal de Campina Grande em um período de
25 32 anos, enfatizando seus aspectos clínicos e macroscópicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram revisados os laudos de necropsias do Laboratório de Patologia Animal (LPA) do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Paraíba (HVU/CSTR/UFCG) desde o período de janeiro de 1986 a dezembro de 2018 a fim de selecionar os casos de linfomas diagnosticados em cães. Dados referentes a raça, sexo, idade, sinais clínicos, descrições macroscópicas e microscópicas das lesões foram coletados. Quando necessário, informações adicionais sobre a sintomatologia foram verificadas nas fichas clínicas do Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais (CMPA) do referido hospital.

Os casos selecionados foram reavaliados macroscopicamente através das descrições e registros fotográficos do LPA e microscopicamente a partir da revisão de lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE). Quando necessário, novas lâminas foram confeccionadas a partir de fragmentos teciduais arquivados em blocos de parafina ou de materiais acondicionados em formalina a 10% tamponada, processadas rotineiramente para histopatologia e coradas com HE.

A classificação anatômica mais utilizada para os linfomas não foi realizada, pois na maioria dos casos não foi determinado o sítio inicial de crescimento da neoplasia, por não ser informado nos registros ou por, no momento da consulta, os animais já apresentarem metástases. Os linfomas foram então classificados em isolados ou multicêntricos, quando apenas um ou múltiplos órgãos eram afetados, respectivamente. Os padrões de lesão macroscópica foram descritos de acordo com sua distribuição, consistência, coloração, aspecto e tamanho. Um mesmo animal pôde exibir mais de um sinal clínico ou múltiplos sítios de metástase.

RESULTADOS

Durante o período de estudo foram realizadas 2600 necropsias de cães, das quais 304 (11,7%) foram diagnosticados com distúrbios neoplásicos e desses 51 (16,8%) casos com linfoma. A idade média dos cães acometidos foi de 7.8 anos com variação entre 10 meses a 14 anos. Os machos foram mais afetados que as fêmeas. Os animais sem raça definida (SRD) foram os mais acometidos, seguidos das raças puras, Rottweiler e Poodle (Tabela 1).

Tabela 1. Dados referentes a raça, sexo e idade média de cães diagnosticados com linfomas em necropsias no HV/CSTR/UFCG, Patos, PB, no período de 1986 a 2018.

Raça	Cães (%)	Sexo		Idade Média
		Macho (%)	Fêmea (%)	
SRD*	25 (49,0)	16 (31.4)	9 (17.7)	8,6 anos
Rottweiler	7 (13,7)	4 (7.8)	3 (5.9)	6,4 anos
Poodle	6 (11,8)	4 (7.8)	2 (3,9)	9,0 anos
Pinscher	2 (3,9)	1 (2.0)	1 (2.0)	6,9 anos
Doberman	2 (3,9)	1 (2.0)	1 (2.0)	12 anos
NI**	2 (3,9)	1 (2.0)	1 (2.0)	10 anos
Boxer	1 (2.0)	-	1 (2.0)	10 anos
Dachshund	1 (2.0)	1 (2.0)	-	6 anos
Pitbull	1 (2.0)	-	1 (2.0)	5 anos
Pequinês	1 (2.0)	1 (2.0)	-	4 anos
Lhasa Apso	1 (2.0)	1 (2.0)	-	4 anos
Pastor Alemão	1 (2.0)	-	1 (2.0)	6 anos
Akita	1 (2.0)	1 (2.0)	-	10 meses
Total	51 (100%)	31 (60.8%)	20 (39.2%)	7.8 anos

*SRD: sem raça definida; **NI: não informado

Os cães apresentaram um total de 36 sinais clínicos diferentes associados a neoplasia. Os principais sinais clínicos foram anorexia, mucosas hipocoradas, icterícia, apatia e prostração (Tabela 2).

1 **Tabela 2.** Frequência dos sinais clínicos distribuídos por sistemas em cães com linfomas
 2 diagnosticados no HV/CSTR/UFCG, Patos, PB, no período de 1986 a 2018.

Sistema	Sinais clínicos	Cães (N)	Frequência (%)
Digestório	Anorexia	19	37.2
	Vômito	10	19.6
	Emaciação	9	17.6
	Diarréia	4	7.8
	Disquezia	2	3.9
	Fezes sanguinolentas	1	2.0
	Hepatomegalia	1	2.0
Tegumentar	Lesões cutâneas	10	19.6
	Edema subcutâneo	9	17.6
Hematopoiético	Linfadenomegalia	13	25.5
	Esplenomegalia	4	7.8
Nervoso	Convulsões	2	3.9
	Ataxia	1	2.0
	Dor cervical	1	2.0
	Hiperestesia	1	2.0
	Estado semicomatoso	1	2.0
	Cegueira bilateral	1	2.0
	Opistótono	1	2.0
	Síndrome de Schiff-Sherrington	1	2.0
	Andar em círculos	1	2.0
	Pressão da cabeça contra objetos	1	2.0
	Cardiorrespiratório	Dispnéia	3
Efusão pleural		1	2.0
Arritmia cardíaca		1	2.0
Genito-urinário	Halito urêmico	1	2.0
	Disúria	1	2.0
	Aumento de volume testicular	1	2.0
Outros	Mucosas hipocoradas	12	23.5
	Icterícia	11	21.6
	Prostração	11	21.6
	Apatia	11	21.6
	Distensão abdominal	5	9.8
	Desidratação	5	9.8
	Ascite	5	9.8
	Dor abdominal	2	3.9
	Mucosas hiperêmicas	1	2.0

3

4 Um total de 33 sítios anatômicos foram afetados nos animais com linfomas e os
 5 principais foram fígado, linfonodos, baço, rins, pulmões, pele e coração (Tabela 3). Cinco
 6 (9.8%) animais apresentaram linfomas isolados no fígado (n=2, 40.0%), coração (n=2, 40.0%)
 7 e rins (n=1, 20.0%) e 46 (90.2%) apresentaram linfomas multicêntricos.

8

9

10

1 **Tabela 3.** Frequência dos sítios anatômicos afetados distribuídos por sistemas em cães com
 2 linfomas diagnosticados no HV/CSTR/UFCG, Patos, PB, no período de 1986 a 2018.

Sistema	Sítios anatômicos	Cães (n)	Frequência (%)
Hematopoiético	Linfonodos	28	54.9
	Baço	23	45.1
	Medula óssea	4	7.8
	Tonsila	3	5.9
Digestório	Fígado	32	62.7
	Estômago	8	15.7
	Intestino	5	9.8
	Esôfago	3	5.9
	Omento	3	5.9
	Mesentério	3	5.9
	Língua	2	3.9
	Pâncreas	1	2.0
	Vesícula biliar	1	2.0
Genito-urinário	Rins	21	41.2
	Bexiga	4	7.8
	Ovário	3	5.9
	Testículo	2	3.9
	Ureter	1	2.0
Cardiorrespiratório	Pulmão	12	23.5
	Coração	10	19.6
	Pleura parietal	2	3.9
Nervoso	Meninges	6	11.8
	Encéfalo	6	11.8
	Medula espinhal	2	3.9
	Plexo coróide	2	3.9
	Canal medular	1	2.0
Músculoesquelético	Musculatura esquelética	8	15.7
	Diafragma	4	7.8
	Costela	1	2.0
Tegumentar	Pele e subcutâneo	10	19.6
	Junção mucocutânea	1	2.0
Endócrino	Adrenais	4	7.8
	Tireóide	1	2.0

3

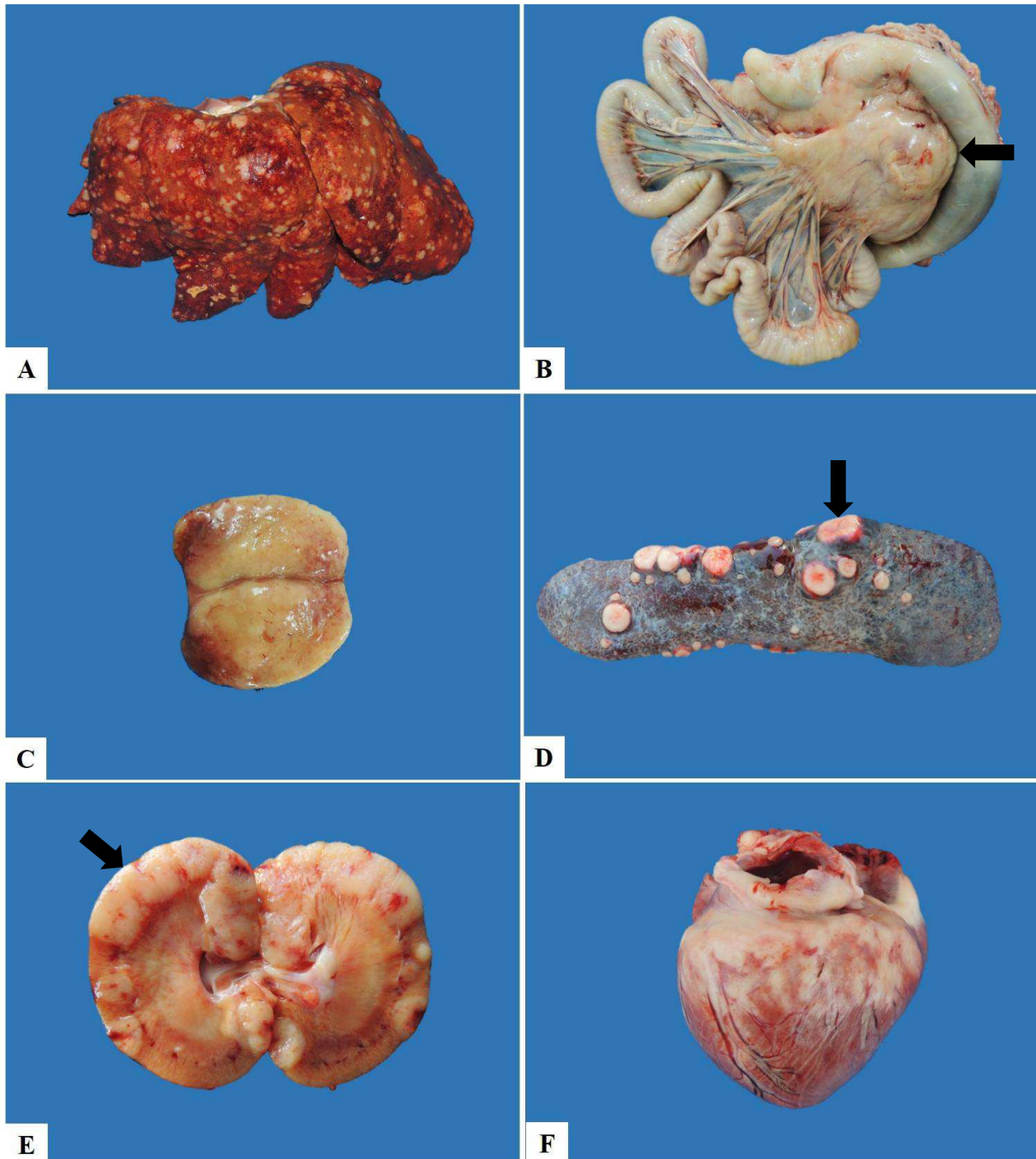
4 Os padrões de lesão macroscópica corresponderam a três principais aspectos: 1) nódulos
 5 ou massas caracterizados por serem únicos ou múltiplos, multifocais ou multifocais a
 6 coalescentes, umbilicados ou não, esbranquiçados a amarelados, macios a firmes, medindo de
 7 0.5 a 13.0 cm de diâmetro com superfície de corte brancacenta a amarelada, lisa, rugosa ou
 8 multilobulada, por vezes entremeada por áreas avermelhadas ou acinzentadas; 2) aumento
 9 difuso de até 5 vezes o tamanho do órgão; 3) áreas planas caracterizadas por serem multifocais
 10 ou multifocais a coalescentes, discretas a acentuadas, esbranquiçadas a amareladas, circulares
 11 ou irregulares. Em alguns órgãos, a neoplasia foi visualizada apenas microscopicamente.

1 O fígado exibiu todos os padrões de lesão: nódulos ou massas (17/32) (Figura 1A) sendo
2 três umbilicados, aumento difuso (6/32) e áreas planas (7/32). Em quatro casos visualizou-se
3 apenas células neoplásicas na microscopia de luz e em um não foi informado o aspecto da lesão.

4 O principal padrão dos linfonodos foi o aumento difuso (18/28) (Figura 1B) seguidos
5 de nódulos ou massas (4/28) (Figura 1C), três constatados à microscopia e três não informados.
6 Dos 28 casos com envolvimento de linfonodos, treze localizavam-se apenas em linfonodos
7 profundos, quatro apenas nos superficiais, nove abrangeram tanto os linfonodos superficiais
8 como os profundos e em dois casos não foi informado. Variaram de macios a firmes com
9 superfície de corte exibindo perda da distinção cortico-medular, esbranquiçada, por vezes,
10 amarelada, acinzentada ou entremeada por áreas multifocais avermelhadas. Todos os casos com
11 acometimento de linfonodos superficiais apresentaram envolvimento de mais de 3 pares de
12 linfonodos contralaterais. Os linfonodos profundos mais afetados foram os hepatogástricos,
13 mesentéricos e mediastínicos.

14 O baço exibiu nódulos ou massas (15/23) sendo um umbilicado (Figura 1D), e aumento
15 difuso (11/23). Quatro casos foram diagnosticados apenas microscopicamente. Os rins
16 apresentaram nódulos ou massas (10/21) (Figura 1E), áreas planas (2/21) ou foi diagnosticado
17 na microscopia (9/21). O coração exibiu áreas planas transmuralis (7/10) (Figura 1F), nódulos
18 ou massas (3/10) e em um caso, observou-se neoplasia apenas à microscopia. Em todos os casos
19 com envolvimento de tonsila, o padrão foi de aumento difuso.

20 Os seguintes sítios anatômicos apresentaram nódulos ou massas: pulmão (Figura 2A),
21 musculatura esquelética (Figura 2B), diafragma, estômago (Figura 2C), intestino, esôfago,
22 língua, pleura parietal, omento, mesentério e bexiga com exceção de dois casos com
23 envolvimento de estômago, dois de intestino e um de bexiga, os quais foram visualizados na
24 avaliação histopatológica. As metástases para tireóide, vesícula biliar, pâncreas e medula óssea
25 foram constatadas apenas na microscopia.



1 **Figura 1.** Aspectos macroscópicos de linfomas em cães. A) Fígado. Observa-se nódulos
 2 multifocais a coalescentes, amarelados a esbranquiçados e firme distribuídos por todo o
 3 parênquima. B) Linfonodo mesentérico. Formação de grande massa irregular e multilobulada
 4 (seta) aderida às alças intestinais. C) Linfonodo. Superfície de corte difusamente amarelada
 5 com área focal periférica avermelhada. D) Baço. Observa-se nódulos multifocais a
 6 coalescentes, esbranquiçados e umbilicados (seta) na superfície capsular. E) Rim. Região
 7 cortical com nodulações multifocais a coalescentes e esbranquiçadas (seta). F) Coração. Áreas
 8 multifocais a coalescentes e esbranquiçadas, na superfície epicárdica.

10

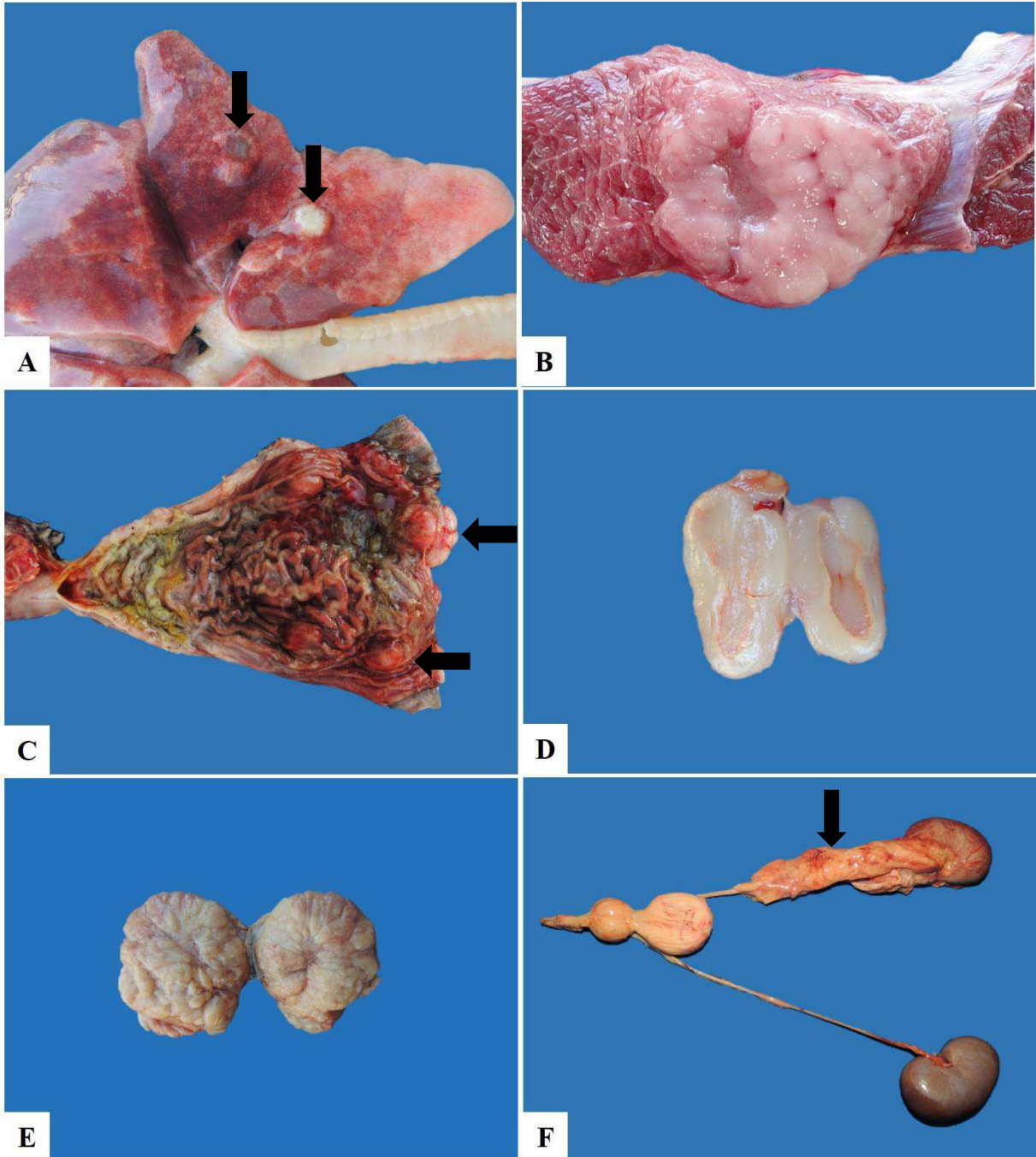
11 Nos casos de linfomas em adrenais (Figura 2D), ovários e testículos (Figura 2E), o
 12 envolvimento foi bilateral. Ao corte, o parênquima das adrenais exibia aspecto gelatinoso,

1 brilhante e acinzentado, principalmente na região cortical, ou foi totalmente substituído por
2 massa brancacenta e multilobada que, por vezes, estava associada a deposição de material
3 líquido a pastoso. Os ovários e testículos tiveram seu parênquima substituído por massa
4 esbranquiçada, irregular, rugosa e macia.

5 As lesões cutâneas consistiram em nódulos ou massas (9/10), aumento de espessura
6 (3/10), placas e manchas avermelhadas (1/10) nos membros e tronco, principalmente nas
7 regiões cervical e dorsal. Os nódulos eram multifocais ou multifocais a coalescentes na derme
8 e/ou subcutâneo, por vezes se estendendo para a musculatura, recobertos por pele ou ulcerados,
9 medindo entre 1.0 e 15.0 cm de diâmetro, avermelhados, esbranquiçados ou amarelados,
10 multilobulados ou não, macios a firmes com superfície de corte brancacenta a amarelada
11 entremeada por áreas avermelhadas ou não. Em um caso houve acometimento de junção
12 mucocutânea labial.

13 Dos sítios do SNC afetados, as leptomeninges, o encéfalo e o canal medular exibiram
14 lesões macroscópicas. As leptomeninges apresentaram-se congestionadas (4/6), espessadas (1/6) e
15 com áreas puntiformes avermelhadas multifocais a coalescentes (1/6). O encéfalo exibiu área
16 de depressão acinzentada medindo 0,5 x 0,5 cm no córtex parietal direito (1/6), áreas
17 puntiformes avermelhadas desde o córtex frontal até o tálamo (1/6), assimetria com área
18 focalmente extensa acinzentada no hemisfério telencefálico direito com centro enegrecido
19 desde a região do córtex frontal até os núcleos da base, onde tornava-se brancacenta (1/6). O
20 canal medular com massa esbranquiçada irregular infiltrava a região extradural da medula
21 espinhal cervical. Os outros casos foram diagnosticados apenas microscopicamente.

22 Em um caso houve formação de uma massa irregular esbranquiçada firme e unilateral
23 que comprimiu e infiltrou o ureter direito (Figura 2F) desde sua desembocadura na pelve até a
24 porção final medindo 13,0 x 3,0 cm, resultando em hidronefrose. A costela foi afetada em um
25 caso com extensão de massa a partir da musculatura intercostal.



1 **Figura 2.** Aspectos macroscópicos de linfomas em cães. A) Pulmão direito. Visualiza-se dois
 2 nódulos (setas), um esbranquiçado no lobo cranial e outro acinzentado no lobo médio na
 3 superfície pleural. B) Músculo esquelético. Nódulo infiltrativo esbranquiçado multilobulado
 4 por entre as fibras musculares C) Estômago. Múltiplos nódulos (setas) com extensão desde a
 5 submucosa até a serosa. D) Adrenal. Arquitetura com aspecto gelatinoso, acinzentado e
 6 brilhante. E) Testículo. Aumentado de tamanho com superfície de corte difusamente rugosa e
 7 esbranquiçada. F) Trato urinário. Massa irregular esbranquiçada (seta) envolvendo o ureter
 8 medindo 13,0 cm de diâmetro.
 9

1 Os principais sinais clínicos observados foram relacionados ao sistema digestório como
2 anorexia, vômito e emaciação. Esses achados podem ocorrer devido ao comprometimento direto
3 por infiltração neoplásica dos órgãos do trato gastrointestinal ou de outros sistemas como o
4 urinário, ou por síndromes paraneoplásicas [2]. O fígado foi o órgão mais frequentemente
5 acometido e excedeu até mesmo os linfonodos, fato que explica a alta frequência de cães
6 ictericos. As lesões hepáticas visualizadas também foram condizentes as descritas na literatura
7 [7], porém o aspecto umbilicado é pouco descrito e deve ser considerado como diagnóstico
8 diferencial para neoplasias como o colangiocarcinoma hepático que exibem classicamente o
9 mesmo aspecto. Linfomas que cursam com linfadenomegalia, esplenomegalia e/ou
10 hepatomegalia devem ser considerados como diagnósticos diferenciais de doenças neoplásicas
11 como leucemias e de doenças infecciosas como babesiose, erliquiose, leishmaniose, hepatite
12 infecciosa e leptospirose. Porém, a superfície de corte de linfonodos e baço pode auxiliar na
13 distinção entre as doenças [7].

14 A palidez das mucosas pode significar anemia que resulta de diversos fatores como:
15 infiltração direta de células neoplásicas na medula óssea e/ou rins, liberação de fatores como
16 citocinas que afetam a eritopoiese e a anemia da doença crônica que é uma das principais
17 síndromes paraneoplásicas descritas [2].

18 Para alguns dos sistemas afetados como o cardiorrespiratório houve discreta
19 manifestação de sinais clínicos relacionados demonstrando a importância de anamnese
20 minuciosa durante a consulta para percepção dessas alterações e maior detalhamento no
21 preenchimento dos prontuários das fichas clínicas. Vários órgãos foram diagnosticados apenas
22 na microscopia ressaltando a importância da coleta no momento de necropsia e processamento
23 histopatológico dos diversos órgãos em casos de linfomas.

24 Concluiu-se que os linfomas são neoplasias frequentes em cães e cursam com grande
25 variedade de sinais clínicos que dependem dos órgãos afetados. Os linfomas multicêntricos

1 foram os mais comuns, o sistema mais afetado foi o hematopoiético e o fígado foi o órgão mais
 2 acometido. Esses achados ressaltam a importância dos exames físicos, laboratoriais e de
 3 imagem para realização do estadiamento clínico e melhor conduta terapêutica.

4

5

REFERÊNCIAS

6 **1 Batista E.K.F., Pires L.V., Miranda D.F.H., Albuquerque W.R., Carvalho A.R.M., Silva**
 7 **L.S. & Silva S.M.M.S. 2016.** Estudo retrospectivo de diagnósticos post-mortem de cães e gatos
 8 necropsiados no Setor de Patologia Animal da Universidade Federal do Piauí, Brasil de 2009 a
 9 2014. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 53(1):88-96.

10 **2 Bergman P.J. 2013.** Paraneoplastic Syndromes. In: Withrow S.J., Vail D.M. & Page R.L.
 11 (Eds). *Small Animal Clinical Oncology*. Philadelphia: Saunders. 5th ed. pp. 35-53.

12

13 **3 Boes K.M. & Durham A.C. 2017.** Bone Marrow, Blood Cells, and the Lymphoid/Lymphatic
 14 System. In: Zachary J.F. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6th ed. St. Louis, Missouri:
 15 Elsevier. pp.724.

16

17 **4 Cunha F.M., Silveira L.M.G., Xavier J.G., Allegretti L., Bovino E.E.** Linfoma
 18 multicêntrico em *Canis familiaris* (cão doméstico): estudo retrospectivo de 60 casos, entre
 19 agosto de 2009 e dezembro de 2010, no Município de São Paulo-SP. 2011. *Journal of the*
 20 *Health Sciences Institute*. 29(4):299-301.

21 **5 Daleck C.R., Calazans S.G. & DeNardi A.B. 2016.** Linfomas. In.: Daleck C.R., Denardi
 22 A.B. & Rodaski S. *Oncologia em cães e gatos*. 2 ed. São Paulo: Roca. pp. 482-487.

23 **6 Figuera R.A. & Graça D.L. 2016.** Sistema Hematopoiético. In: Santos R.L. & Alessi A.C.
 24 *Patologia Veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca. pp. 553.

25

26 **7 Figuera R.A., Souza T.M., Rodrigues A. & Barros C.S.L. 2006.** Aspectos
 27 clinicopatológicos de 43 casos de linfoma em cães. *MEDVEP – Revista Científica de Medicina*
 28 *Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação*. 4(12):139-146.

29 **8 Figuera R.A., Souza T.M., Silva M.C., Brum J.S., Graça D.L., Kommers G.D., Irigoyen**
 30 **L.F., & Barros C.S.L. 2008.** Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião
 31 do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28(4):223-
 32 230.

33 **9 Gal A.F, Andriopoulou A., Miclăuș V., Tăbăran F., Taulescu M., Nagy A., Rus V., Cora**
 34 **R., Vidrighinescu R. & Cătoi C. 2015.** Comparative Data Concerning the Incidence of Tumors
 35 in Dogs in a Period of Ten Years in Athens (Greece) and Cluj-Napoca (Romania). *Bulletin*
 36 *UASVM Veterinary Medicine*. 72(2):371-377.

37 **10 Merlo D.F., Rossi L., Pellegrino C., Ceppi M., Cardellino U., Capurro C., Ratto A.,**
 38 **Sambucco P.L., Sestito V., Tanara G. & Bocchini V. 2008.** Cancer Incidence in Pet Dogs:

- 1 Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *Journal of Veterinary Internal*
2 *Medicine*. 22:976–984.
- 3 **11 Moreno K. & Bracarense A.P.F.R.L. 2007**, Estudo retrospectivo de linfoma canino no
4 período de 1990 - 2004 na região norte do Paraná. *Brazilian Journal of Veterinary Research*
5 *and Animal Science*. 44:46-52.
- 6
- 7 **12 Neuwald E.B., Teixeira L.V., Conrado F.O., Silva M.O.D., Hlavac N.R.C. & González**
8 **F.H.D. 2014**. Epidemiological, clinical and immunohistochemical aspects of canine lymphoma
9 in the region of Porto Alegre, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34(4):349-354.
- 10
- 11 **13 Newkirk K.M., Brannick E.M. & Kusewitt D.F. 2017**. Neoplasia and Tumor Biology. In.:
12 Zachary J.F. *Pathologic basis of veterinary disease*. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier.
13 pp.286.
- 14
- 15 **14 Palus V., Volk H.A., Lamb C.R., Targett M.P. & Cherubini G.B. 2012**. MRI features of
16 cns lymphoma in dogs and cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 53(1):44–49.
- 17
- 18 **15 Vail D.M., Pinkerton M.E. & Young K.M. 2013**. Hematopoietic Tumors: canine
19 lymphoma and lymphoid leukemias. In.: Withrow S.J., Vail D.M. & Page R.L. *Withrow &*
20 *MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 5th ed. St. Louis: Saunders Elsevier. pp.608-615.
- 21 **16 Valli V.E., Bienzle D. & Meuten D.J. 2017**. Tumors of the Hemolymphatic System. In.:
22 Meuten D.J. *Tumors in domestic animals*. 5th ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc. pp. 20
- 23 **17 Zuckermann I.C.S., Severin K., Hohšteter M., Artuković B., Beck A., Kurilj A.G.,**
24 **Sabočanec R., Petar Džaja P. & Grabarević Z. 2013**. Incidence and types of canine tumours
25 in Croatia. *VETERINARSKI ARHIV*, 83(1):31-45.

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

CAPÍTULO II

**Aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-fenotípicos de linfomas com
envolvimento de sistema nervoso central em cães: 7 casos**

Trabalho será submetido à *Veterinary and Comparative Oncology*
(Qualis A2)

1 **Aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-fenotípicos de linfomas com**
2 **envolvimento de sistema nervoso central em cães: 7 casos**

3
4 Título abreviado: Linfomas de SNC em cães

5
6
7 Ismael Lira Borges¹, Isabel Luana de Macêdo¹, Gian Libânio da Silveira¹, Telma Sousa
8 Lima¹, Francisco Sávio Moreira Martins¹, Rosileide dos Santos Carneiro², Daniel de Araújo
9 Viana³, Glauco José Nogueira de Galiza¹, Antônio Flávio Medeiros Dantas¹.

10
11 ¹Laboratório de Patologia Animal, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Hospital Veterinário
12 Universitário, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil.

13 ²Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Hospital
14 Veterinário Universitário, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil.

15 ³Laboratório PATHOVET – Anatomia Patológica e Patologia Clínica Veterinária, Fortaleza,
16 Ceará, Brasil.

17
18 **Agradecimentos:**

19 Esse trabalho foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
20 Superior (CAPES).

21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

1 **Aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-fenotípicos de linfomas com**
2 **envolvimento de sistema nervoso central em cães: 7 casos**

3
4 I.L. Borges¹, I.L. Macêdo¹, G.L. Silveira¹, T.S. Lima¹, F.S.M. Martins², R.S. Carneiro², D.A.
5 Viana³, G.J.N. Galiza¹, A.F.M. Dantas¹.

6
7 ¹Laboratório de Patologia Animal e Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais, Centro de
8 Saúde e Tecnologia Rural, Hospital Veterinário Universitário, Universidade Federal de
9 Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil.

10 ²Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Hospital
11 Veterinário Universitário, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil.

12 ³Laboratório PATHOVET – Anatomia Patológica e Patologia Clínica Veterinária, Fortaleza,
13 Ceará, Brasil.

14
15 **RESUMO**

16
17 Os linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães são raros e podem ser
18 primários ou metastáticos. Estudos que descrevem suas características anatomopatológicas e
19 imuno-histoquímicas nesta espécie são escassos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi
20 caracterizar os aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-histoquímicas de linfomas com
21 envolvimento do sistema nervoso central em sete cães. Os linfomas com envolvimento de
22 sistema nervoso central representaram 15.7% (7/51) do total de casos de linfomas selecionados
23 para este estudo. Os machos foram mais acometidos que as fêmeas e a idade média foi de 7.4
24 anos. Não houve predileção racial. Os sinais neurológicos apresentados incluíram: convulsões,
25 ataxia, estado semicomatoso e cegueira bilateral. Todos os casos se tratavam de linfomas
26 multicêntricos. Em seis casos foram observadas alterações macroscópicas que afetavam,
27 principalmente, encéfalo e leptomeninges. Nas leptomeninges o principal achado foi a
28 congestão. Microscopicamente, os padrões observados foram o intravascular, perivascular,
29 nodular e focal extenso com quatro casos classificados como linfomas de células T periféricos
30 inespecíficos e três como linfomas intravasculares. Concluiu-se que os linfomas com
31 envolvimento de sistema nervoso central são incomuns ocorrendo principalmente no encéfalo
32 e leptomeninges apresentando a forma intravascular e constituídos por células T.

33
34 *Palavras-chave:* linfoma de células T, neoplasia de sistema nervoso, neoplasia linfóide.

INTRODUÇÃO

Os linfomas com envolvimento de sistema nervoso central (SNC) são neoplasias malignas incomuns em cães e podem ser primárias ou metastáticas sendo as últimas mais frequentes^{1,2}. Os sinais clínicos apresentados são inespecíficos e dependem da extensão e localização da lesão^{3,4}. Os animais podem apresentar depressão, convulsões, ataxia e paresia^{4,5}.

O diagnóstico *ante mortem* é difícil, baseia-se em exames de imagem como tomografia, radiografia e ressonância magnética^{6,7}, na análise citológica de massa no canal medular ou do líquido cefalorraquidiano⁸. Ao exame necroscópico, quando presentes, as lesões incluem, principalmente espessamento e congestão das leptomeninges e áreas multifocais de hemorragia no encéfalo⁹. Histologicamente, as células neoplásicas são visualizadas, principalmente, na luz ou ao redor dos vasos das leptomeninges e/ou do parênquima encefálico^{2,10}.

Devido à baixa frequência de linfomas do SNC, estudos devem ser realizados para melhor caracterização clínica, macro e microscópica das lesões observadas. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi caracterizar os aspectos clínicos, anatomopatológicos e imunofenotípicos de linfomas com envolvimento do SNC em cães.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram revisados os laudos de necropsias de cães do Laboratório de Patologia Animal (LPA) do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande (HVU/CSTR/UFCG), Campus de Patos, Paraíba, de janeiro de 1986 a dezembro de 2018 (32 anos), a fim de identificar todos os prontuários com diagnóstico de linfoma e, posteriormente, selecionar os casos com envolvimento de sistema nervoso central. Os casos foram reavaliados macroscopicamente através das descrições e registros fotográficos e microscopicamente a partir da revisão de lâminas coradas com hematoxilina e eosina (HE).

O SNC foi avaliado externamente no momento da necropsia e posteriormente era fixado em formalina a 10% tamponada por 5 a 10 dias. Após fixação, cortes transversais seriados de aproximadamente 1,0 cm de diâmetro desde o córtex frontal até a medula espinhal lombar eram realizados a fim de visualizar a superfície interna das diferentes porções. Em seguida, fragmentos de telencéfalo (córtex frontal, parietal, temporal, occipital e núcleos da base), diencefalo (tálamo e hipocampo), mesencefalo, rombencefalo (ponte e bulbo), cerebelo e medula espinhal eram rotineiramente embebidos em parafina, seccionados a 5 µm e corados

1 com HE. Os demais órgãos eram igualmente coletados e processados, inclusive a medula óssea
2 para excluir a possibilidade de leucemias.

3 Os padrões de lesão macroscópica foram descritos de acordo com sua distribuição,
4 consistência, coloração, aspecto e tamanho². Microscopicamente, foram divididos conforme
5 sua distribuição em intravascular, perivascular, intraparenquimatoso e extradural com células
6 neoplásicas localizadas predominantemente na luz de vasos sanguíneos, ao redor dos vasos
7 sanguíneos, no parênquima encefálico e entre a dura-máter e o osso vertebral, respectivamente
8 ^{2,10}. A partir de suas características morfológicas e imuno-fenotípicas foram classificadas de
9 acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS)¹¹.

10 Para diferenciação entre neoplasias de linfócitos T e B foi realizada imuno-histoquímica
11 (IHQ) através da técnica de imunoperoxidase utilizando anticorpos policlonais CD3 e CD20. A
12 partir dos blocos de parafina de fragmentos do sistema nervoso central foram feitos cortes
13 histológicos de 4µm que foram desparafinizados em xilol e hidratados em concentrações
14 decrescentes de etanol e lavados em água destilada. Em seguida foram submetidos à
15 recuperação antigênica pelo calor em solução de citrato 10mM (pH 6.0) na panela de pressão
16 (PascalR, Dako®). Não foi realizada recuperação antigênica para o anticorpo CD20.
17 Posteriormente foram colocadas em temperatura ambiente por 20 minutos para resfriamento
18 (somente para o anticorpo CD3) e lavadas com água deionizada. Foi realizado o bloqueio da
19 peroxidase endógena com a imersão das lâminas em peróxido de hidrogênio pronto para uso
20 (Peroxide Block, Cell Marque, 925B-09). Após essa etapa, os cortes foram lavados em solução
21 tris (pH 7,4) e, a seguir, os sítios inespecíficos foram bloqueados com solução bloqueadora de
22 reação inespecífica (protein block serum-free - DAKO® ref. X0909). A incubação com os
23 anticorpos primários foi realizada por 18 horas a 4°C. Como sistema de amplificação e detecção
24 utilizou-se o Envision Dual Link (DAKO®, K4065) e o cromógeno diaminobenzidina
25 (DAKO®, K3468). As lâminas foram contra-coradas com Hematoxilina de Harris (HH).

26 27 **RESULTADOS**

28
29 Durante o período estudado foram revisados 2600 protocolos de laudos de necropsias
30 de cães, dos quais 304 (11.7%) foram diagnosticados com distúrbios neoplásicos, desses 51
31 (16.8%) casos com linfoma e 7 (15.7%) apresentaram envolvimento do SNC. Todos os casos
32 representaram linfomas secundários de SNC visto que vários órgãos foram acometidos. Dados
33 referentes a sexo, raça, idade e demais órgãos afetados estão elencados na Tabela 1.

1 **Tabela 1.** Dados referentes a sexo, raça, idade e sítios afetados de cães com linfomas com
 2 envolvimento de sistema nervoso central.

Caso	Sexo	Raça	Idade	Sítios
1	Fêmea	Pastor Alemão	6 anos	Pulmão
2	Fêmea	Rottweiler	8 anos	Linfonodos Coração Pulmão Pleura parietal Rins Ovário Bexiga Fígado
3	Macho	SRD [†]	NI [‡]	Pele (subcutâneo) Musculatura esquelética
4	Macho	SRD	12 anos	Coração Fígado Vesícula biliar Estômago Intestino Rins Bexiga Adrenal
5	Macho	Rottweiler	5 anos	Linfonodos Pulmão Fígado Baço Rins Estômago Medula óssea
6	Macho	Dachshund	6 anos	Pele (subcutâneo) Musculatura esquelética
7	Fêmea	SRD	Adulto	Pele Musculatura esquelética Linfonodos Fígado Estômago Bexiga Medula óssea

3 [†]SRD: sem raça definida; [‡]NI: não informado

4 Os sinais neurológicos apresentados foram diversos e, macroscopicamente, as lesões
 5 foram ausentes ou afetaram leptomeninges, encéfalo e canal medular (Tabela 2). As principais
 6 lesões macroscópicas foram observadas no encéfalo e leptomeninges (Figura 1). As lesões
 7 macroscópicas referentes ao linfoma nos demais órgãos foram variadas e serão explanadas a
 8 seguir. Os órgãos não mencionados apresentaram apenas infiltração neoplásica à microscopia.

1 No caso 1 os pulmões exibiam pequenas áreas nodulares multifocais amareladas
2 variando de 0.5 a 3.0 cm de diâmetro na superfície pleural que se estendiam ao parênquima dos
3 lobos caudais.

4 No caso 2 observou-se aumento dos linfonodos submandibulares, retrofaríngeos,
5 cervicais, mediastínicos e mesentéricos que variavam de 1.0 cm a 4.0 cm de diâmetro e eram
6 macios com superfície de corte difusamente esbranquiçada. O coração exibiu áreas multifocais
7 esbranquiçadas transmuralis próximos a base, em ambos os ventrículos. Observou-se, também,
8 nódulos esbranquiçados medindo de 1.0 a 3.0 cm de diâmetro nos pulmões, pleura parietal e
9 bexiga.

10 No caso 3 notou-se massa esbranquiçada irregular que se estendia desde o subcutâneo
11 até o canal medular da região cervical.

12 O animal 4 apresentou nódulos bilaterais multifocais a coalescentes, branco-
13 acinzentados, elevados, firmes e irregulares na superfície cortical dos rins. As adrenais estavam
14 aumentadas de tamanho com superfície de corte apresentando deposição de material líquido a
15 pastoso e esbranquiçado, principalmente na região medular. No coração observaram-se áreas
16 multifocais esbranquiçadas transmuralis nos ventrículos.

17 O pulmão do animal 5 apresentou-se não colapsado, brilhante com áreas multifocais
18 puntiformes avermelhadas visualizadas na superfície de corte de todos os lobos.

19 No caso 6 observou-se múltiplos nódulos subcutâneos firmes medindo de 2.0 cm a 7.0
20 cm de diâmetro distribuídos pelas regiões facial, cervical, dorsal e abdominal com superfície
21 de corte multilobulada, brancacenta e compacta.

22 O animal 7 apresentava área focalmente extensa de espessamento da pele associado a
23 áreas multifocais de ulceração com extensão desde a regiões ventral cervical e axilar esquerdas.
24 O subcutâneo e a musculatura adjacente da mesma região apresentaram extensa massa
25 brancacenta e firme. Os linfonodos superficiais estavam difusamente aumentados de volume,
26 brancacentos a amarelados e macios.

27

28

29

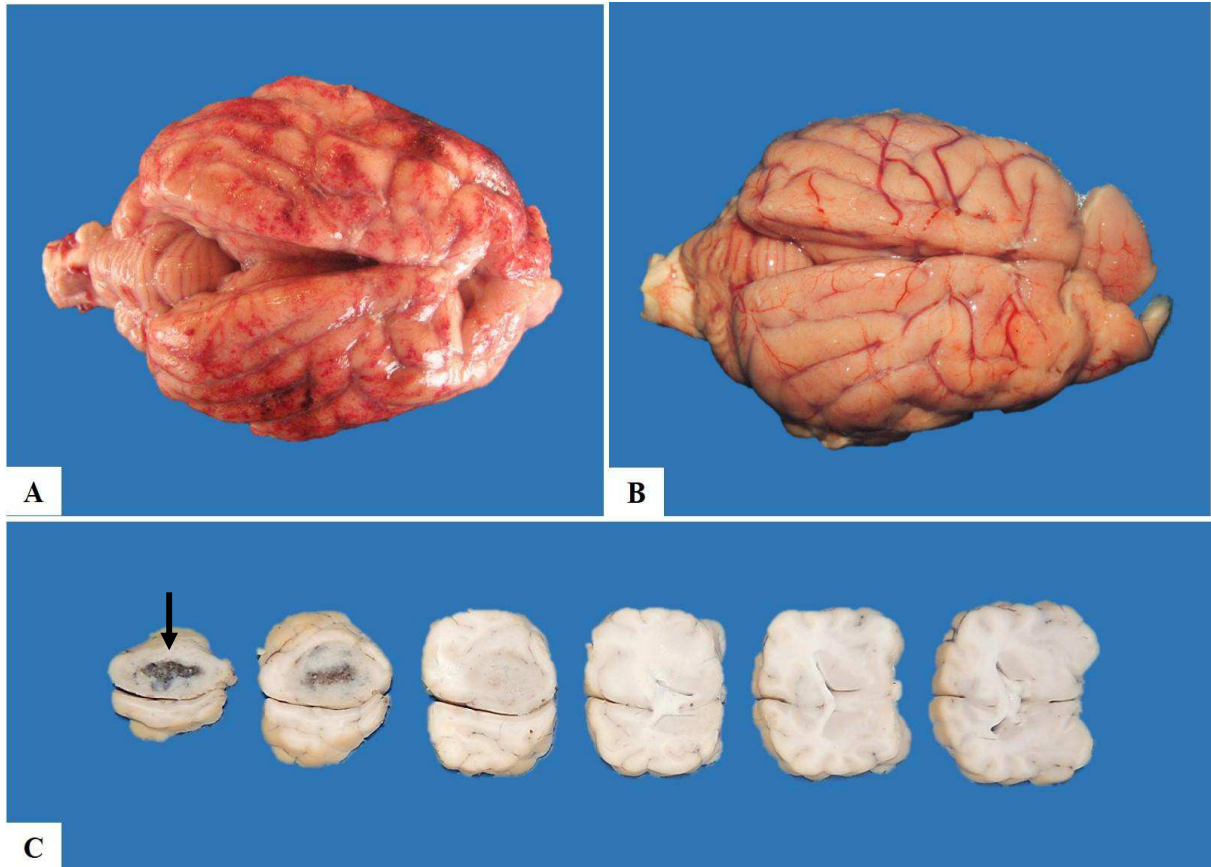
30

31

1 **Tabela 2.** Sinais clínicos neurológicos, região afetada do SNC e macroscopia dos casos de
 2 linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães.

Caso	Sinais clínicos neurológicos	Regiões	Macroscopia
1	Convulsões Ataxia Disfunção do MPE	Meninges Encéfalo	Congestão e espessamento difusos Área de depressão acinzentada medindo 0,5 x 0,5 cm no córtex parietal direito
2	NI [†]	Meninges	Congestão difusa e áreas puntiformes avermelhadas multifocais a coalescentes acentuadas
3	Dor cervical Hiperestesia	Canal medular	Massa esbranquiçada irregular infiltrava na região extradural da medula espinhal cervical
4	Estado semicomatoso Cegueira bilateral Opistótono Síndrome de Schiff-Sherrington	NI	NI
5	NI	Meninges Encéfalo	Congestão difusa Áreas puntiformes avermelhadas desde o córtex frontal até o tálamo
6	Convulsões Andar em círculos Pressão da cabeça contra objetos	Encéfalo	Assimetria com área focalmente extensa no hemisfério telencefálico direito, acinzentada com centro enegrecido desde a região do córtex frontal até núcleos da base, onde tornava-se brancacenta
7	Ausentes	Meninges	Congestão difusa

3 [†]NI: não informado.



1
2 **Figura 1.** Linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães. A) Encéfalo (caso
3 2). Observa-se congestão difusa das leptomeninges associada a áreas multifocais a coalescentes
4 puntiformes e avermelhadas. B) Encéfalo (caso 7). Observa-se congestão difusa das
5 leptomeninges C) Encéfalo (caso 6). Superfície de corte com área focalmente extensa
6 acinzentada com centro enegrecido que se estende desde o córtex frontal (seta) até os núcleos
7 da base, onde se tornava brancacenta.

8
9 Microscopicamente, no caso 1 observou-se distribuição intravascular no SNC (Figura
10 2A) e nos pulmões com infiltração de grandes e pequenos vasos do parênquima e da mucosa de
11 brônquios e bronquíolos. Havia quantidade moderada a acentuada de células neoplásicas na luz
12 de vasos sanguíneos das leptomeninges e do parênquima de todas as regiões do encéfalo.
13 Ocasionalmente células neoplásicas eram visualizadas ao redor dos vasos sanguíneos. As células
14 eram grandes (equivalente ou maior a 2,0 vezes o tamanho de uma hemácia) com núcleos
15 redondos a ovalados, alguns clivados, cromatina frouxa e um ou dois nucléolos evidentes. O
16 citoplasma era escasso a moderado e eosinofílico. Havia anisocitose e anisocariose acentuadas,
17 discreto pleomorfismo nuclear e índice mitótico de 2 por 10 campos de maior aumento (CMA).
18 Achados adicionais consistiram de trombos de fibrina associados aos linfócitos neoplásicos,
19 áreas multifocais extensas de malácia com células gitter, rarefação do neurópilo, edema e
20 moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário ao redor de vasos acometidos.

1 No caso 2 observou-se distribuição intravascular no SNC e nos outros órgãos afetados.
2 Visualizou-se quantidade moderada a acentuada de células neoplásicas na luz de vasos
3 sanguíneos das leptomeninges, do parênquima de todas as regiões do encéfalo e da medula
4 espinhal. Ocasionalmente células neoplásicas eram visualizadas ao redor dos vasos sanguíneos. As
5 células eram grandes com núcleos redondos a ovalados, clivados com cromatina frouxa e um
6 ou múltiplos nucléolos evidentes. O citoplasma era escasso a moderado e eosinofílico. Havia
7 anisocitose e anisocariose acentuadas, acentuado pleomorfismo nuclear, índice mitótico de 3
8 por 10 CMA e frequentes células multinucleadas com até 3 núcleos. Achados adicionais
9 consistiram de trombos de fibrina associados aos linfócitos neoplásicos (Figura 2B), áreas
10 multifocais de hemorragia e moderado infiltrado inflamatório constituído predominantemente
11 por linfócitos, plasmócitos e discreta quantidade de células de Mott e macrófagos contendo
12 pigmento acastanhado intracitoplasmático, ao redor dos vasos acometidos.

13 No animal 3 observou-se infiltrado focal nodular extradural de linfócitos neoplásicos
14 (Figura 2C) com núcleos redondos a ovalados, clivados, cromatina frouxa e um ou múltiplos
15 núcleolos evidentes. O citoplasma era escasso a moderado e eosinofílico. Havia anisocitose,
16 anisocariose e pleomorfismo acentuados, índice mitótico de 5 por 10 CMA e frequentes células
17 multinucleadas com até 3 núcleos. Devido à localização da massa e compressão da medula
18 espinhal, foi visualizada discreta vacuolização da substância branca associada a esferóides
19 axonais e câmaras de digestão. No subcutâneo e musculatura esquelética adjacente, o infiltrado
20 neoplásico era semelhante.

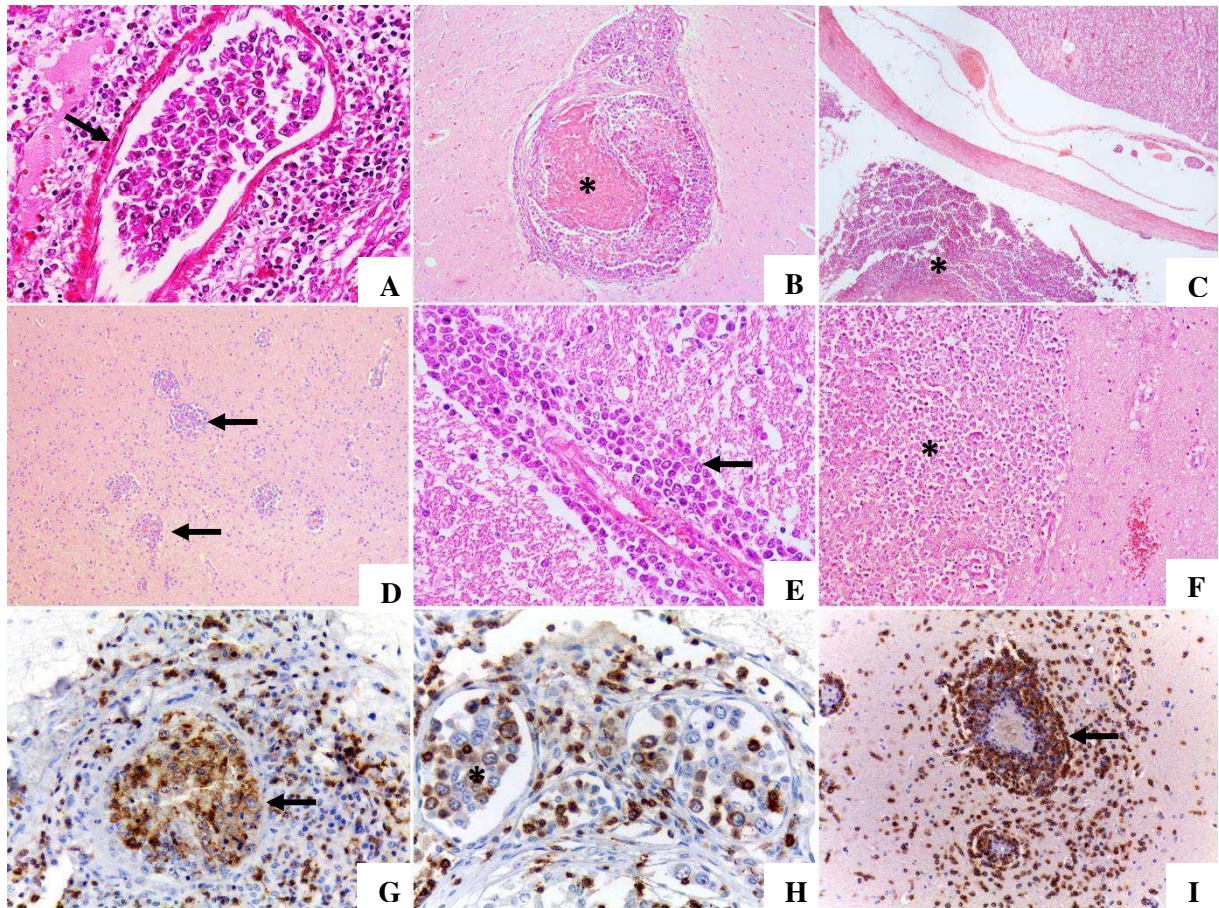
21 No caso 4 as células neoplásicas estavam distribuídas predominantemente ao redor dos
22 vasos sanguíneos (arranjo perivascular) (Figuras 2D e 2E) ou dispersas nas leptomeninges,
23 encéfalo, medula espinhal e plexo coroide. As células variavam de médias (equivalente a 1.5 a
24 2.0 vezes o tamanho de uma hemácia) a grandes com cromatina frouxa e múltiplos nucléolos
25 evidentes. O citoplasma era escasso a moderado e eosinofílico. Exibiam anisocitose,
26 anisocariose e pleomorfismo nuclear moderados, e índice mitótico de 1 por CMA. Observou-
27 se, também, infiltrado perivascular multifocal acentuado de linfócitos, plasmócitos e
28 macrófagos nas leptomeninges, encéfalo, plexo coroide e medula espinhal. Ao redor de alguns
29 vasos era possível observar células neoplásicas em conjunto com células inflamatórias. Havia,
30 também, vacuolização e rarefação multifocal discreta do neurópilo. Nos outros órgãos afetados
31 a proliferação neoplásica variava de discreta (fígado, vesícula biliar e bexiga) a acentuada
32 (coração, estômago, intestino, rins e adrenal) com distribuição multifocal (fígado, vesícula
33 biliar e bexiga), multifocal a coalescente (coração, rins e adrenal) e transmural (estômago e
34 intestino).

1 No animal 5 observou-se distribuição intravascular no SNC e nos demais órgãos
2 acometidos. Visualizou-se quantidade moderada a acentuada de células neoplásicas na luz de
3 vasos sanguíneos das leptomeninges e do parênquima de todas as regiões do encéfalo.
4 Ocasionalmente eram visualizadas ao redor dos vasos sanguíneos. As células eram médias a
5 grandes com núcleos redondos a ovalados, cromatina frouxa e um ou múltiplos nucléolos
6 evidentes. O citoplasma era escasso a moderado e eosinofílico. Havia anisocitose e anisocariose
7 acentuadas, discreto pleomorfismo nuclear e índice mitótico de 1 por 10 CMA. Achados
8 adicionais consistiram de trombos de fibrina associados aos linfócitos neoplásicos e áreas
9 multifocais acentuadas de hemorragia ao redor dos vasos sanguíneos.

10 No animal 6 observou-se área focalmente extensa no parênquima cortical
11 (intraparenquimatoso) (Figura 2F) composta por infiltrado neoplásico de células linfoides
12 médias a grandes, clivadas, com cromatina frouxa e um ou múltiplos nucléolos evidentes. O
13 citoplasma era escasso a amplo e eosinofílico. As células apresentavam pleomorfismo nuclear,
14 anisocitose e anisocariose acentuadas, frequentes células multinucleadas e índice mitótico de 2
15 por 10 CMA. Ao centro da neoplasia (correspondente à área enegrecida visualizada na
16 macroscopia) observou-se grande área de infarto com trombos de fibrina associados a
17 hemorragia. Ocasionais linfócitos neoplásicos eram visualizados na luz de vasos dessa região e
18 das outras porções do encéfalo e leptomeninges. O tecido subcutâneo e musculatura esquelética
19 apresentavam proliferação neoplásica multifocal a coalescente acentuada.

20 No caso 7 o padrão de distribuição era intravascular com discreta quantidade de células
21 neoplásicas ao redor dos vasos sanguíneos. Observou-se quantidade moderada a acentuada de
22 células neoplásicas na luz de vasos sanguíneos das leptomeninges, do parênquima de todas as
23 regiões do encéfalo e do plexo coroide. As células variavam de média a grandes com núcleos
24 redondos a ovalados, alguns clivados, cromatina frouxa e, por vezes, único nucléolo evidente.
25 O citoplasma era escasso a moderado e eosinofílico. Havia anisocitose, anisocariose e
26 pleomorfismo moderados, índice mitótico de 1 por 10 CMA e ocasionais células binculeadas.
27 Achados adicionais incluíram áreas multifocais de hemorragia e moderado infiltrado
28 inflamatório constituído predominantemente por linfócitos e plasmócitos. O mesmo padrão de
29 lesão foi observado nos outros órgãos.

30 A imuno-histoquímica foi realizada nos 7 casos, os quais todos apresentaram
31 imunomarcção positiva para anticorpo CD3 (Figuras 2G, 2H e 2I) e negativa para anticorpo
32 CD20, sendo classificados como linfomas de células T. De acordo com a Organização Mundial
33 de Saúde, os casos 3, 4, 6 e 7 foram classificados como linfomas de células T periféricos
34 inespecíficos e os casos 1, 2 e 5 como linfomas intravasculares de grandes células T.



1
 2 **Figura 2.** Linfomas de sistema nervoso central de cães. A) Leptomeninges (caso 1). Infiltrado
 3 intravascular de células linfoides neoplásicas (seta) associado a meningite linfoplasmocitária.
 4 HE. Obj.40x. B) Encéfalo (caso 2). Infiltrado intravascular de células linfoides neoplásicas
 5 associado a trombo de fibrina (asterisco) nas leptomeninges. HE. Obj.10x. C) Medula espinhal
 6 (caso 3). Proliferação extradural de células neoplásicas (asterisco). HE. Obj. 4x. D) Encéfalo
 7 (caso 4). Infiltrado perivascular de células neoplásicas (setas) no parênquima. HE. Obj. 10x. E)
 8 Encéfalo (caso 4). Células neoplásicas ao redor de vaso sanguíneos no parênquima cortical. HE.
 9 Obj. 40x. F) Encéfalo (caso 6). Proliferação focalmente extensa de linfócitos neoplásicos no
 10 parênquima cortical. HE. Obj.20x. G) Leptomeninges (caso 1). Imunomarcção positiva das
 11 células neoplásicas intravasculares para CD3 (seta). IHQ. Obj.20x. H) Leptomeninges (caso 2).
 12 Células linfoides neoplásicas intravasculares imunomarcadas positivamente para CD3. IHQ.
 13 Obj.20x I) Encéfalo (caso 4). Imunomarcção positiva de infiltrado perivascular de células
 14 neoplásicas para CD3. IHQ. Obj. 20x.

15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23

1 **Tabela 3.** Localização e distribuição microscópica no SNC, achados adicionais e classificação
 2 segundo a OMS de linfomas com envolvimento de sistema nervoso central em cães.

Caso	Localização	Distribuição no SNC	Achados adicionais	Classificação (OMS)
1	Leptomeninges Encéfalo	Intravascular	Trombos Inflamação mononuclear Malácia Edema	Linfoma intravascular de células T
2	Leptomeninges Encéfalo Medula espinhal	Intravascular	Trombos Inflamação mononuclear Hemorragias	Linfoma intravascular de células T
3	Medula espinhal	Extradural	Vacuolização da SB [†] Esferóides axonais Câmaras de digestão	Linfoma de células T periférico inespecífico
4	Leptomeninges Encéfalo Medula espinhal Plexo coroide	Perivascular	Inflamação mononuclear Vacuolização do neurópilo Rarefação do neurópilo	Linfoma de células T periférico inespecífico
5	Leptomeninges Encéfalo	Intravascular	Trombos Hemorragias	Linfoma intravascular de células T
6	Leptomeninges Encéfalo	Intraparenquimatoso	Infarto Trombos Hemorragia Inflamação mononuclear	Linfoma de células T periférico inespecífico
7	Leptomeninges Encéfalo Plexo coroide	Intravascular	Inflamação mononuclear Hemorragias	Linfoma de células T periférico inespecífico

3 [†]SB: substância branca.

4 DISCUSSÃO

5
 6 O diagnóstico de linfoma com envolvimento do SNC foi realizado através dos achados
 7 anatomopatológicos e imuno-histoquímicos. Todos os casos se trataram de linfomas
 8 secundários de SNC corroborando com os achados de outros autores, os quais afirmam que os
 9 linfomas primários de SNC são raros^{1,2}. A idade média dos animais acometidos foi de 7.4 anos,
 10 dado semelhante relatado por outros autores^{4,7}. Geralmente os machos e os cães de raça pura
 11 são mais afetados^{2,7}. No presente estudo não foi possível identificar predisposição racial, porém
 12 os animais da raça Rottweiler parecem ser predispostos aos linfomas de SNC^{1,4}.

13 Na maioria dos casos (6/7) houve envolvimento de leptomeninges e encéfalo, dessa
 14 forma, os sinais clínicos estavam associados, principalmente a lesões nessas regiões. Devido a
 15 extensão da lesão no animal 4 observou-se, além dos sinais relacionados a lesão cerebral, sinais
 16 de origem medular como a síndrome de Schiff-Sherrington¹². O animal 3 apresentou dor

1 cervical local devido à infiltração da massa no canal medular e consequente, compressão da
2 medula espinhal¹².

3 Os linfomas que afetam o SNC nem sempre produzem lesões macroscópicas^{9,13}. Os
4 principais sítios de lesão são as leptomeninges e encéfalo^{2,4,10} como observado no presente
5 estudo. A congestão das leptomeninges e as áreas puntiformes multifocais avermelhadas são
6 lesões descritas nos casos de linfomas intravasculares^{13,18} como constatado no presente trabalho.
7 Os achados adicionais como hemorragias, infartos, malácia e edema são sequentes a oclusão
8 dos vasos por células linfoides neoplásicas e trombos⁹.

9 As neoplasias de medula espinhal podem ser categorizadas de acordo com sua
10 localização em extradurais, intradurais/extramedulares e intramedulares¹⁴. Apesar dos linfomas
11 serem as neoplasias medulares mais comuns nos gatos, em cães são raras e ocorrem,
12 principalmente em região extradural^{14,10,15} como observado no caso 3.

13 Alguns autores relatam que as meningoencefalomielites não-supurativas devem ser
14 consideradas como diferenciais para os linfomas de SNC¹⁶. Um caso de linfoma de células T
15 primário do sistema nervoso central mimetizando uma meningoencefalomielite foi descrito em
16 um gato¹¹. Dessa forma não se descartou a possibilidade da existência concomitante de uma
17 doença inflamatória e o linfoma no animal 4 visto que a neoplasia era metastática.

18 Na maioria dos estudos houve igual prevalência dos fenótipos ou pequena variação, com
19 os linfomas de células B sendo mais frequentes^{2,9,13}, o que não corrobora com os achados do
20 presente trabalho. Dos linfomas de células T descritos em cães², os tipos mais prevalentes
21 foram os linfomas de células T periféricos inespecíficos e os intravasculares como observado
22 nos animais em questão. Observou-se tendência de os linfomas intravasculares possuírem
23 fenótipo T^{2,18}, porém a razão é desconhecida. Apesar do animal 7 exibir padrão de distribuição
24 intravascular no SNC não foi classificado como linfoma intravascular de acordo com a OMS¹¹,
25 pois observou-se proliferação predominante de células tumorais fora dos vasos sanguíneos nos
26 outros órgãos afetados.

27 Dessa forma, concluiu-se que os linfomas com envolvimento de sistema nervoso central
28 são incomuns e a maioria, oriunda de metástases. As principais regiões afetadas foram encéfalo
29 e leptomeninges com infiltrado neoplásico intravascular de grandes células T. Novos pesquisas
30 devem ser realizadas com intuito de elucidar a patogênese dos casos de linfoma com
31 envolvimento de SNC.

32

33

34

REFERÊNCIAS

- 1
2
3 1. Song RB, Vite CH, Bradley CW, Cross JR. Postmortem Evaluation of 435 Cases of
4 Intracranial Neoplasia in Dogs and Relationship of Neoplasm with Breed, Age, and Body
5 Weight. *J Vet Intern Med* 2013;27:1143–1152.
- 6 2. Sisó, S, Marco-Salazar P, Moore PF, et al. Canine Nervous System Lymphoma Subtypes
7 Display Characteristic Neuroanatomical Patterns. *Vet Pathol* 2017;54(1):53-60.
- 8 3. Snyder JM, Lipitz L, Skorupski KA, Shofer FS, Van Winkle TJ. Secondary Intracranial
9 Neoplasia in the Dog: 177 Cases (1986–2003). *J Vet Intern Med* 2008;22:172–177.
- 10 4. Snyder JM, Shofer FS, Van Winkle TJ, Massicotte C. Canine Intracranial Primary Neoplasia:
11 173 Cases (1986–2003). *J Vet Intern Med* 2006;20:669-675.
- 12 5. Higgins RJ, Bollen, AW, Dickinson PJ, Sisó-Llonch S. Tumors of the Nervous System. In.:
13 Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 5th ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc;
14 2017:834-931.
- 15 6. Veraa S, Dijkman R, Meij BP, Voorhout G. Comparative imaging of spinal extradural
16 lymphoma in a Bordeaux dog. *Can Vet J* 2010;51(5):519-521.
- 17 7. Palus V, Volk HA, Lamb CR, Targett MP, Cherubini GB. MRI features of CNS lymphoma
18 in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound* 2012;53(1):44-49.
- 19 8. LaRue MK, Taylor AR, Back AR. Central nervous system lymphoma in 18 dogs (2001 to
20 2015). *J Small Anim Pract* 2018;59(9):547-552.
- 21 9. Degl'Innocenti S, Camera ND, Falzone C, Cantile C. Canine Cerebral Intravascular
22 Lymphoma: Neuropathological and Immunohistochemical Findings. *Vet Pathol*
23 2018;56(2):239-243.
- 24 10. Heck LC, Cony FG, Bianchi MV, Driemeier D, Sonne L, Pavarin SP. Pathological features
25 of 78 metastatic or multicentric neoplasms involving the central nervous system in dogs. *Pesq.*
26 *Vet Bras* 2018; 38(10):1989-1998.
- 27 11. Valli VE, Bienzle D.. Meuten DJ. Tumors of the Hemolymphatic System. In.: Meuten DJ.
28 Tumors in domestic animals. 5th ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc; 2017:203-321.

- 1 12. Taylor SM. Doenças neuromusculares. In: Nelson RW, Couto CG. Medicina interna de
2 pequenos animais. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010:985-1120.
- 3 13. McDonough SP, Van Winkle TJ, Valentine BA, Van Gessel YA, Summers BA.
4 Clinicopathological and Immunophenotypical Features of Canine Intravascular Lymphoma
5 (Malignant Angioendotheliomatosis). *J Comp Path* 2002;126:277–288.
- 6 14. Bagley RS. Spinal neoplasm in small animals. *Vet Clin. Small Anim* 2010;40:915–927.
- 7 15. McNaught KA, Morris J, Lazzerini K, Millins C, José-López R. Spinal extradural T-cell
8 lymphoma with paraneoplastic hypereosinophilia in a dog: clinicopathological features,
9 treatment, and outcome. *Clin Case Rep* 2018;6(6):999-1005.
- 10 16. O’neil EJ, Merrett D, Jones B. Granulomatous meningoencephalomyelitis in dogs: A
11 review. *Ir Vet J* 2005;58(2):86–92.
- 12 17. Guil-Luna S, Carrasco L, Gómez-Laguna J, et al. Primary central nervous system T-cell
13 lymphoma mimicking meningoencephalomyelitis in a cat. *Can Vet J* 2013;54:602-605.
- 14 18. Machado GF, Castro MB, Melo GD, Ferreira WL, Aylon EG, Alessi AC. Intravascular
15 Lymphomatosis in the Central Nervous System of Dogs: Immunohistochemical Investigation
16 in Two Cases. *Braz J Vet Pathol* 2011;4(1):47-51.

17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

CAPÍTULO III

Linfoma hepatocitotrópico de células T em cão: relato de caso

Trabalho será submetido à *Journal of Comparative Pathology*
(Qualis B1)

Linfoma hepatocitotrópico de células T em cão: relato de caso

I.L. Borges*, R.C. Alves*, A.M. Silveira*, C.B. Carvalho*, R.S. Carneiro*, D.A. Viana[†],
G.J.N. Galiza*, A.F.M. Dantas*

*Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Hospital Veterinário Universitário, Universidade
Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil.

[†]Laboratório PATHOVET – Anatomia Patológica e Patologia Clínica Veterinária

Autor para correspondência: I.L. Borges. +55 (83) 99968-1561.
Ismael.Lborges@yahoo.com.br. Avenida Filomeno Gomes, 860 - Jacarecanga, Fortaleza,
Ceará, Brasil.

Resumo

O linfoma hepatocitotrópico é um tipo raro que ocorre em cães caracterizado pela infiltração das células neoplásicas nos sinusóides e nos cordões de hepatócitos. Dessa forma, o objeto desse trabalho foi relatar um caso de linfoma hepatocitotrópico de células T em um cão, enfatizando seus aspectos clínicos, anatomopatológicos e imuno-histoquímicos. Um cão sem raça definida de 11 anos apresentou histórico de inapetência, anorexia, vômito, diarreia e mucosas oculares amareladas há três dias. Ao exame físico foi observado apatia, desidratação, icterícia e hepatomegalia. Os achados laboratoriais demonstraram função hepática alterada e hipoalbuminemia. Na urinálise foi observado principalmente, hiperbilirrubinúria. Macroscopicamente observou-se fígado difusamente amarelado, aumentado de tamanho com bordos abaulados e acentuação do padrão lobular. Microscopicamente, visualizou-se infiltração difusa de células linfóides neoplásicas na luz de sinusóides e dissecando os cordões de

1 hepatócitos individualmente ou em pequenos agrupamentos, associados a áreas multifocais
2 moderadas de necrose. Infiltrado semelhante foi observado nos rins. O perfil imuno-
3 histoquímico revelou co-expressão CD3/CD20 com predomínio de células neoplásicas CD3
4 positivas sendo classificado como linfoma hepatocitotrópico de células T. Concluiu-se que o
5 linfoma hepatocitotrópico é raro em cães e a avaliação histopatológica e imuno-histoquímica é
6 fundamental para o diagnóstico definitivo.

7 *Palavras-chave:* canino, fígado, linfoma de células T, linfossarcoma, neoplasia linfóide,

8

9 Atualmente os linfomas de cães são classificados de acordo com suas características
10 celulares microscópicas, imunofenotípicas e padrões de distribuição conforme a classificação
11 da Organização Mundial da Saúde (Valli *et al.*, 2011). Os cinco tipos mais frequentemente
12 diagnosticados são: o linfoma difuso de grandes células B, o linfoma de células T periférico
13 inespecífico, o linfoma zonal de células T, o linfoma linfoblástico de células T e o linfoma de
14 zona marginal (Valli *et al.*, 2017).

15 As outras classificações são consideradas incomuns e entre elas, está o linfoma
16 hepatocitotrópico (Valli *et al.*, 2017). O termo linfoma hepatocitotrópico foi proposto por Keller
17 *et al.* (2012) para diferenciá-los dos linfomas hepatoesplênicos de células T. A principal
18 diferença é que no primeiro, as células tumorais invadem tanto os sinusóides hepáticos como
19 os cordões de hepatócitos mimetizando uma condição de emperopolese (células tumorais sendo
20 fagocitadas por hepatócitos).

21 Duas condições semelhantes foram observadas em gatos, ambas investigadas através de
22 microscopia eletrônica. A primeira descrita por Ossent *et al.* (1989), denominada de
23 emperopolese em que foi constatada a presença de células tumorais dentro do citoplasma dos
24 hepatócitos e a segunda relatada por Susuki *et al.*, 2011 em que ocorria a invaginação de células
25 tumorais na membrana dos hepatócitos, porém sem invasão no citoplasma.

1 Visto que os linfomas hepatocitrópicos são raramente descritos em cães (Keller *et al.*,
2 2012), o objetivo desse trabalho foi relatar um caso de um cão diagnosticado com linfoma
3 hepatocitotrópico de células T, enfatizando seus aspectos clínicos, anatomopatológicos e
4 imuno-histoquímicos.

5 Um canino sem raça definida (SRD), macho de 11 anos pesando 16.0 kg apresentou
6 histórico de anorexia, vômito, diarreia, urina escura e mucosas oculares amareladas há 3 dias.
7 Ao exame físico constatou-se apatia, desidratação, icterícia, focinho seco e hepatomegalia à
8 palpação abdominal. O animal veio à óbito poucos minutos após o atendimento, porém exames
9 laboratoriais foram realizados como bioquímicas séricas hepáticas e renais e urinálise.
10 Observou-se aumento acentuado da uréia 256.85 mg/dL (valores de referência: 21.4 – 59.92
11 mg/dL), alanina-aminotransferase (ALT) 674.4 UI/L (valores de referência: 21.0 – 102.0 UI/L),
12 aspartato-aminotransferase (AST) 306.2 UI/L (valores de referência: 23.0 – 66.0 UI/L), gama
13 glutamil-transferase (GGT) 18.9 UI/L (valores de referência: 1.2 – 6.4 UI/L), bilirrubina total
14 16.50mg/dL (valores de referência: 0.1 – 0.5 mg/dL), sendo a direta 12.24 mg/dL (valores de
15 referência: 0.06 – 0.12 mg/dL) maior que a indireta 4.26 mg/dL (valores de referência: 0.01 –
16 0.49 mg/dL), além de hipoalbuminemia 1.26g/dL (valores de referência: 2.6 – 3.3 mg/dL). A
17 creatinina 2.3 mg/dL (valores de referência: 0.5 - 1.5 mg/dL) também estava aumentada e na
18 urinálise foi observado, principalmente hiperbilirrubinúria.

19 Na necropsia observou-se pele, mucosas e tecido subcutâneo intensamente amarelados.
20 O fígado estava difusamente amarelado, aumentado com bordos abaulados e com acentuação
21 do padrão lobular (Fig. 1A). A superfície de corte apresentava-se difusamente amarelada
22 entremeada por áreas multifocais puntiformes avermelhadas. Os rins estavam difusamente
23 amarelados com superfície subcapsular de aspecto granular. O lúmen intestinal estava
24 preenchido por líquido enegrecido e na região proximal do duodeno havia área ulcerada de 1,5
25 cm de diâmetro com bordos elevados e centro avermelhado. Os pulmões não estavam

1 colapsados, hipocrepitantes e com superfície pleural lisa e brilhante. No lobo caudal esquerdo
2 observou-se nódulo de 1,0 cm de diâmetro, macio que ao corte era bem delimitado com halo
3 avermelhado e drenava material amarelado, purulento e inodoro.

4



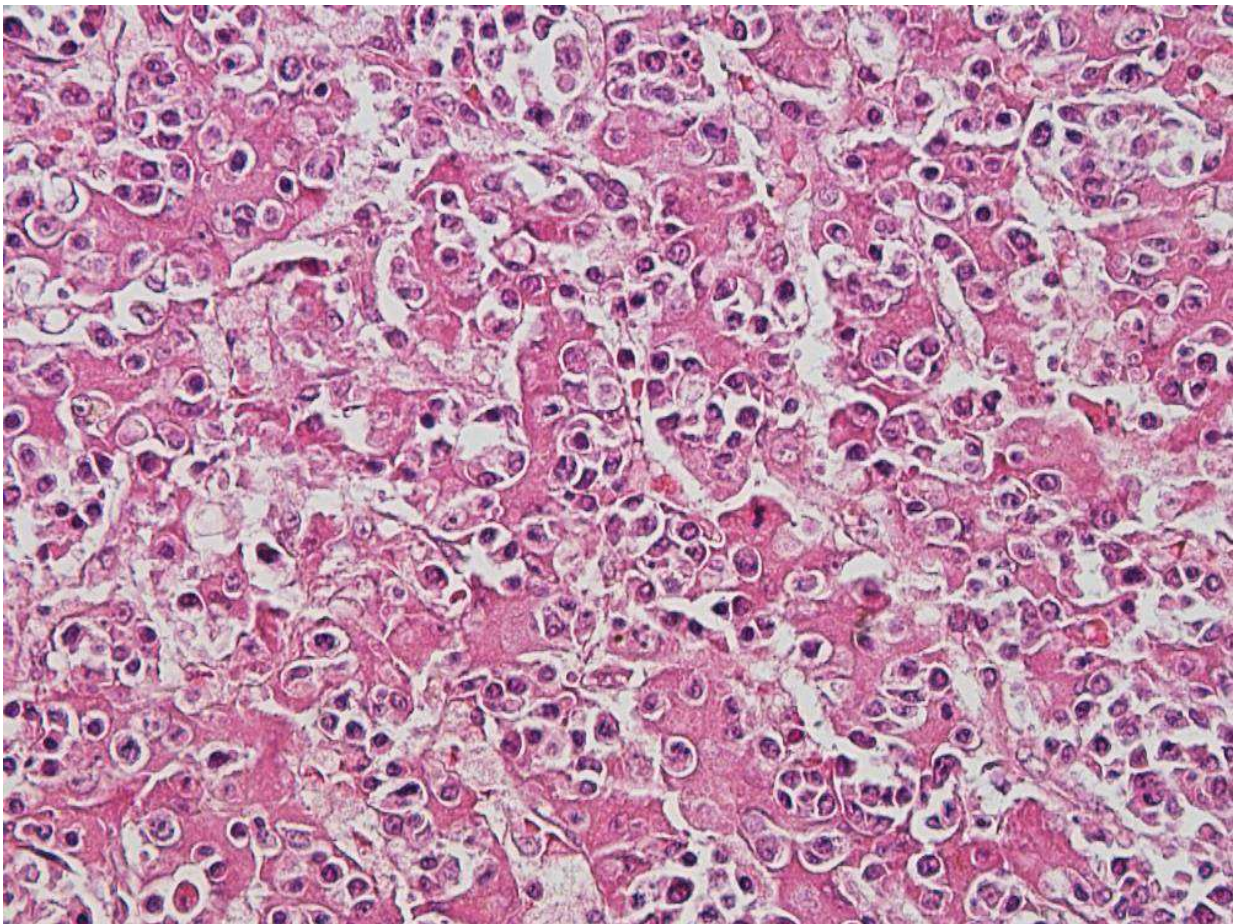
5

6 **Figura 1.** Linfoma hepatocitotrópico em cão. Observa-se fígado difusamente amarelado e
7 aumentado de tamanho com bordos abaulados e acentuação do padrão lobular.

8

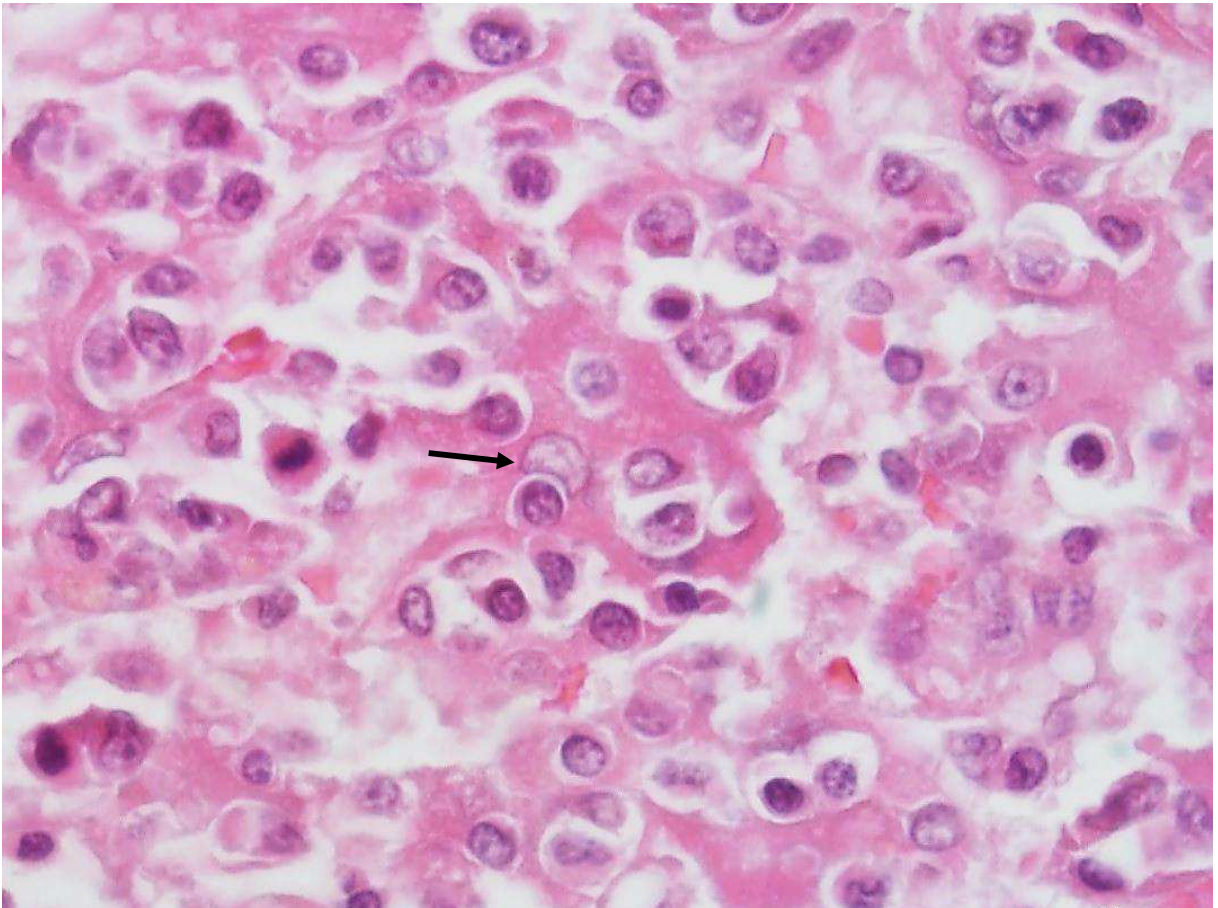
9 Amostras teciduais de todos os órgãos foram coletadas, fixadas em formalina a 10%
10 tamponada, processadas rotineiramente para histopatologia e coradas com hematoxilina-eosina
11 (HE). Microscopicamente, as principais alterações estavam localizadas no fígado onde
12 observou-se infiltração difusa de células linfoides neoplásicas na luz de sinusóides, dissecando
13 os cordões de hepatócitos (individualizadas ou em agrupamentos) (Fig.2) e visivelmente dentro
14 do citoplasma dos mesmos (Fig. 3), associadas a áreas multifocais discretas de necrose e
15 hemorragia. As mesmas células eram visualizadas nos espaços porta e por vezes, no epitélio
16 biliar. As células eram redondas, intermediárias (1.5 a 2.0 vezes o tamanho de uma hemácia) a
17 grandes (equivalente ou maior a 2.0 vezes o tamanho de uma hemácia) com citoplasma escasso

1 a moderado e eosinofílico. Os núcleos eram redondos a ovais, alguns clivados, com cromatina
2 frouxa e nucléolos predominantemente ausentes ou ocasionalmente únicos ou múltiplos.
3 Visualizou-se anisocitose e anisocariose moderadas, ocasionais células binucleadas e média de
4 1 figura de mitose por campo de maior aumento. Adicionalmente, observou-se moderada
5 deposição de pigmento granular acastanhado no citoplasma de hepatócitos e de células de
6 Kupffer, além de discreta degeneração vacuolar multifocal dos hepatócitos. Não foram
7 visualizadas células neoplásicas na medula óssea descartando processo leucêmico.



8 **Figura 2.** Linfoma hepatocitotrópico em cão. No fígado observa-se acentuado infiltrado
9 neoplásico difuso de células linfoides individualizadas ou formando pequenos agrupamentos
10 na luz dos sinusóides e dissecando os cordões de hepatócitos. HE. Obj. 40x.
11

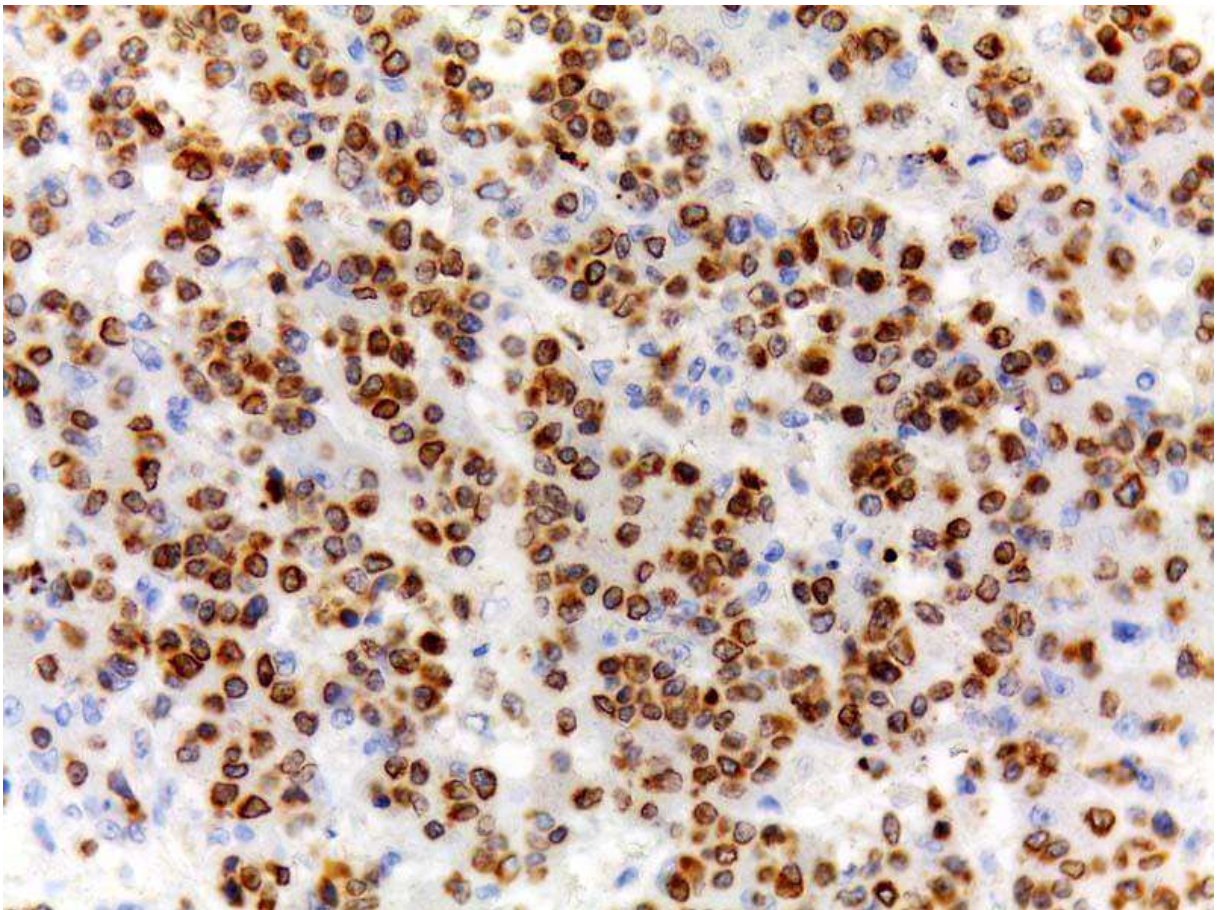
1 Infiltrado neoplásico semelhante foi observado de forma multifocal moderada nos tufos
2 glomerulares, interstício e vasos linfáticos renais. Visualizou-se glomerulonefrite associada a
3 esclerose glomerular, nefrite intersticial, deposição de cilindros hialinos e de bilirrubina na luz
4 de túbulos, pigmento acastanhado (bilirrubina) no citoplasma das células epiteliais tubulares e
5 fibrose intersticial. No intestino delgado havia uma enterite linfoplasmocitária associada a
6 ulceração e fibrose. No pulmão observou-se pneumonia intersticial e o nódulo descrito se
7 tratava de um carcinoma bronquíolo-alveolar associado a necrose e infiltrado inflamatório
8 supurativo.



9 **Figura 3.** Linfoma hepatocitotrópico em cão. No fígado observa-se células neoplásicas
10 aparentemente dentro do citoplasma de um hepatócito (seta). HE. Obj.100x.

11 A amostra de fígado foi submetida à técnica de imuno-histoquímica (IHQ) utilizando
12 anticorpos policlonais CD3 e CD20 para diferenciação entre linfócitos T e B, respectivamente.
13 A recuperação antigênica foi realizada através do calor em solução de citrato 10mM (pH 6.0)
14 na panela de pressão (PascalR, Dako). Não foi realizado recuperação antigênica para o
15

1 anticorpo CD20. Posteriormente foram colocadas em temperatura ambiente por 20 minutos
2 para resfriamento (somente para o anticorpo CD3) e lavadas com água deionizada. Foi realizado
3 o bloqueio da peroxidase endógena com a imersão das lâminas em peróxido de hidrogênio
4 pronto para uso (Peroxide Block, Cell Marque®, 925B-09). Após essa etapa, os cortes foram
5 lavados em solução tris (pH 7,4) e, a seguir, os sítios inespecíficos foram bloqueados com
6 solução bloqueadora de reação inespecífica (protein block serum-free - DAKO® ref. X0909).
7 A incubação com os anticorpos primários foi realizada por 18 horas a 4°C. Como sistema de
8 amplificação e detecção utilizou-se o Envision Dual Link (DAKO®, K4065) e o cromógeno
9 diaminobenzidina (DAKO®, K3468). As lâminas foram contra-coradas com Hematoxilina de
10 Harris (HH). O perfil imuno-histoquímico revelou co-expressão CD3/CD20 com predomínio
11 de células neoplásicas CD3 positivas (Fig.4). O que permitiu, em conjunto com os achados
12 histopatológicos, o diagnóstico final de linfoma hepatocitotrópico de células T.



13
14
15

Figura 4. As células linfoides neoplásicas são intensamente positivas para CD3. IHQ. Obj.40x.

1 O diagnóstico de linfoma hepatocitotrópico foi realizado através dos achados
2 anatomopatológicos e imuno-histoquímicos. Geralmente os animais com linfoma
3 hepatocitotrópico ou condições semelhantes apresentam icterícia acentuada devido ao grande
4 aporte de células tumorais e consequente compressão dos cordões de hepatócitos (Ossent *et al.*,
5 1989; Keller *et al.*, 2012). O alto grau de lesão no fígado resulta no aumento das enzimas
6 hepáticas, outro achado frequente nesses animais (Ossent *et al.*, 1989; Keller *et al.*, 2012). A
7 hipoalbuminemia pode ser resultante de múltiplas condições que foram observadas no animal
8 em questão. Os sinais de vômito e diarreia, além das lesões hepáticas e renais podem ter sido
9 responsáveis por esse quadro. O conjunto dos sinais clínicos com as alterações laboratoriais e
10 anatomopatológicas indicam que o óbito desses animais ocorre devido a insuficiência hepática
11 e o curso clínico é rápido e agressivo (Ossent *et al.*, 1989; Keller *et al.*, 2012), como observado
12 no presente relato.

13 No estudo de Keller *et al.* (2012), a necropsia foi realizada em apenas um cão com
14 linfoma hepatocitotrópico e não foram visualizadas lesões macroscópicas no fígado, porém
15 Ossent *et al.* (1989) observaram hepatomegalia e amarelamento do fígado de felinos
16 acometidos. O padrão de lesão hepática visualizada no animal em questão pode mimetizar as
17 observadas em doenças infecciosas como leptospirose (Tochetto *et al.*, 2012), hepatite
18 infecciosa canina (Souto *et al.*, 2018), leishmaniose (Valli *et al.*, 2016), babesiose (Valli *et al.*,
19 2016), erliquiose (Harrus *et al.*, 2012) e outras neoplasias como outros tipos de linfomas e
20 leucemias (Valli *et al.*, 2017), devendo ser consideradas como diagnósticos diferenciais.

21 Microscopicamente o padrão de distribuição e as características das células neoplásicas
22 foram condizentes aos descritos por Susuki *et al.* (2011) e Keller *et al.* (2012), porém,
23 adicionalmente, observou-se áreas multifocais de necrose de hepatócitos em meio a neoplasia.
24 A invasão de linfócitos neoplásicos nos cordões de hepatócitos permite diferenciar o linfoma
25 hepatocitotrópico de outras subclassificações de neoplasias linfoides que apresentem infiltração

1 neoplásica difusa nos sinudóides como é o caso do linfoma hepatoesplênico (Fry *et al.*, 2003;
2 Cienava *et al.*, 2004). Outros achados como acometimento concomitante de baço e fígado,
3 eritrofagocitose por células neoplásicas ou macrófagos e hematopoiese extramedular são,
4 geralmente, observados nos linfomas hepatoesplênicos, mas não nos linfomas
5 hepatocitotrópicos (Fry *et al.*, 2003; Cienaval *et al.*, 2004; Keller *et al.*, 2012).

6 Na análise imuno-histoquímica houve co-expressão CD3/CD20 com predomínio de
7 células neoplásicas CD3 positivas o que não corrobora com os outros estudos onde a maioria
8 dos linfomas hepatocitotrópicos foram positivos para marcadores de células T e negativos para
9 marcadores de células B (Susuki *et al.*, 2011; Keller *et al.*, 2012). Em apenas um dos casos
10 relatados por Susuki *et al.* (2011) não houve expressão nem de marcadores para linfócitos T e
11 nem para linfócitos B.

12 Concluiu-se que o linfoma hepatocitotrópico de células T é raro em cães e as
13 características histopatológicas e imuno-histoquímicas foram essenciais para elucidação do
14 diagnóstico. Clinicamente e macroscopicamente deve ser considerado diagnóstico diferencial
15 para doenças infecciosas e neoplásicas que cursam, principalmente, com hepatomegalia difusa
16 e icterícia.

17

18 **Agradecimentos**

19 Os autores agradecem o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
20 Superior (CAPES).

21

22 **Declaração de conflito de interesse**

23 Os autores declaram não haver conflitos de interesse com relação à publicação desse
24 manuscrito.

25

1 Referências

- 2 Cienava EA, Barnhart KF, Brown R, Mansell J, Dunstan R *et al.* (2004) Morphologic,
3 immunohistochemical, and molecular characterization of hepatosplenic T-cell lymphoma in a
4 dog. *Veterinary Clinical Pathology*, **33**, 105-110.
- 5 Fry MM, Vernau W, Pesavento PA, Brömel C, Moore PF *et al.* (2003) Hepatosplenic
6 Lymphoma in a Dog. *Veterinary Pathology*, **40**, 556–562.
- 7 Harrus S, Waner T, Neer, TM (2012) Ehrlichia and anaplasma infections. In: *Infectious diseases*
8 *of the dog and cat*. 4th Edit., CE Greene, Ed., Elsevier Saunders, St. Louis, pp. 227-238.
- 9 Keller SM, Vernau W, Hodges J, Kass PH, Vilches-Moure JG *et al.* (2012) Hepatosplenic and
10 Hepatocytotropic T-Cell Lymphoma: Two Distinct Types of T-Cell Lymphoma in Dogs.
11 *Veterinary Pathology*, **50**, 281-290.
- 12 Ossent P, Stockli RM, Pospischil A (1989) Emperipolesis of Lymphoid Neoplastic Cells in
13 Feline Hepatocytes. *Veterinary Pathology*, **26**, 279-280.
- 14 Erick P.F. Souto EPF, Maia LA, Ferreira JS, Gomes LCVM, Carneiro RS *et al.* (2018) Aspectos
15 epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos da hepatite infecciosa canina: 15 casos.
16 *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **38**, 1608-1614.
- 17 Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th Edit.,
18 Academic Express, pp.928.
- 19 Suzuki M, Kanae Y, Kagawa Y, Ano N, Nomura K *et al.* (2011) Emperipolesis-like Invasion
20 of Neoplastic Lymphocytes into Hepatocytes in Feline T-cell Lymphoma. *Journal of*
21 *Comparative Pathology*, **144**, 312-316.

- 1 Tochetto C, Flores MM, Kommers GD, Barros CSL, Figuera RA (2012) Aspectos
2 anatomopatológicos da leptospirose em cães: 53 casos (1965-2011). *Pesquisa Veterinária*
3 *Brasileira*, **32**, 430-443.
- 4 Valli VE, Bienzle, D, Meuten DJ (2017) Tumors of the Hemolymphatic System. In: *Tumors in*
5 *domestic animals*. 5th Edit., DJ Meuten, Ed., John Wiley & Sons Inc., Ames, pp.203-321.
- 6 Valli VEO, Kiupel M, Bienzel D (2016) Hemaotopoietic System. In: *Jubb, Kennedy and*
7 *Palmer's – Pathology of Domestic Animals*. 6th Edit., Vol. 3, MG Maxie, Ed., Elsevier, St.
8 Louis, pp. 102-268.
- 9 Valli VE, San Myint M., Barthel A, Bienzle D, Caswell J. *et al.* (2011) Classification of canine
10 malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. *Veterinary*
11 *Pathology*, **48**, pp. 198-211.

12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28

CONCLUSÃO GERAL

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

Com esse trabalho foi possível determinar a frequência de cães com linfomas diagnosticados em necropsias no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa constatando ser uma neoplasia frequente na rotina e uma das principais causadoras de morte nesses animais. Acometem diversos órgãos, apresentam grande variedade de sinais clínicos e aspectos macroscópicos e microscópicos.

Os linfomas com envolvimento de sistema nervoso central são incomuns e podem afetar todas as regiões desse sistema resultando em diferentes sinais neurológicos. Novas pesquisas devem ser realizadas com o intuito de melhor caracterizar e detalhar as lesões envolvidas para maior conhecimento do comportamento biológico do tumor quando há envolvimento do sistema nervoso.

O linfoma hepatocitotrópico de células T é raro em cães resultando em insuficiência hepática e rápido curso clínico. O diagnóstico definitivo baseia-se na realização de análise histopatológica e imuno-histoquímica.