

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

EDUARDA NAPOLITANO GIULIANO

LINFOMA CUTÂNEO NÃO-EPITELIOTRÓPICO EM CÃO: RELATO DE CASO

UBERLÂNDIA
2021

EDUARDA NAPOLITANO GIULIANO

LINFOMA CUTÂNEO NÃO-EPITELIOTRÓPICO EM CÃO: RELATO DE CASO

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi

UBERLÂNDIA
2021

EDUARDA NAPOLITANO GIULIANO

LINFOMA CUTÂNEO NÃO-EPITELIOTRÓPICO EM CÃO: RELATO DE CASO

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária

Orientadora: Profª. Dra. Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi

Uberlândia, 16/06/2021

Banca Examinadora:

Profª. Dra. Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi
Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó
Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Me. Lígia Assunção Oliveira

A todos que perderam colegas,
amigos, família e amores durante a
pandemia do COVID-19, dedico.

AGRADECIMENTOS

Sou muito grata a Dra. Alessandra Aparecida Medeiros-Ronchi por toda a orientação e auxílio, não só durante a elaboração desse trabalho, mas também em todo o decorrer da minha graduação. Os alunos da Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia têm muita sorte em ter uma pessoa tão fofa e iluminada como professora.

Agradeço a todo o Setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia por terem tornado esse trabalho possível.

Obrigada a todos os meus colegas da 82ª turma de Medicina Veterinária da UFU, foi um prazer e uma honra ter vocês ao meu lado durante a graduação.

Obrigada aos melhores amigos do mundo: Ana Clara, Daniel, Isabele, Sara e Sofia por estarem sempre do meu lado e nunca permitirem que eu me sentisse sozinha, mesmo nos momentos mais difíceis. Vocês já são parte de mim e eu vou levá-los para onde quer que eu vá.

Agradeço também a minha mãe, meu pai, minha irmã, minha tia e minha prima por terem me ajudado a me reerguer inúmeras vezes, sempre permitindo que eu trilhasse o meu próprio caminho. Vocês são a família mais linda do mundo e acreditaram em mim mesmo quando eu não consegui. Obrigada por tanto amor.

RESUMO

O linfoma cutâneo é um tumor linfoide que se caracteriza pela proliferação clonal de linfócitos atípicos na pele. Os linfomas cutâneos podem ser divididos em dois grupos, baseados no tropismo das células neoplásicas pelo epitélio: linfoma cutâneo epiteliotrópico e linfoma cutâneo não-epiteliotrópico, sendo a primeira forma mais comum. O linfoma não-epiteliotrópico é mais agressivo e pode ser originário de linfócitos B ou T, a maioria exibe rápida progressão e infiltração em linfonodos, com subsequente envolvimento sistêmico. O presente estudo tem como objetivo relatar um caso de linfoma cutâneo não-epiteliotrópico em um canino, fêmea, sem raça definida e de oito anos de idade. Após avaliação clínica suspeitou-se de lesão neoplásica e o animal foi submetido à biópsia incisional com punch. Com base nas alterações microscópicas diagnosticou-se linfoma cutâneo não-epiteliotrópico e foi instituído tratamento quimioterápico inicialmente com lomustina, sem resposta, e depois com vincristina e ciclofosfamida, também sem resposta. O animal foi a óbito 41 dias após o diagnóstico e foi submetido à necropsia. Amostras de nódulo cutâneo em região peitoral, aorta, coração, fígado e rins foram coletados e apresentaram características histológicas semelhantes, com infiltração de células neoplásicas redondas, inclusive infiltrando o lúmen de vasos linfáticos, caracterizando capacidade metastática via linfática. O prognóstico do linfoma cutâneo não-epiteliotrópico geralmente é reservado e a média de sobrevida é de um a 36 meses, sendo que a sobrevida de um cão com linfoma que não responde ao tratamento é de 26 dias.

Palavras-chave: Neoplasia linfóide. Canino. Pele. Metástase. Sobrevida.

ABSTRACT

Cutaneous lymphoma is a lymphoid tumor characterized by clonal proliferation of atypical lymphocytes in the skin. Cutaneous lymphomas can be divided into two groups, based on the tropism of neoplastic cells for the epithelium: epitheliotropic cutaneous lymphoma and non-epitheliotropic cutaneous lymphoma, being the first most common form. Non-epitheliotropic lymphoma is more aggressive and may originate from B or T lymphocytes, most of which exhibit rapid progression and infiltration into lymph nodes, with subsequent systemic involvement. The present study aims to report a case of non-epitheliotropic cutaneous lymphoma in an eight-year-old, mixed-breed female canine. After clinical evaluation, the suspicion was of neoplastic lesion and it was made an incisional punch biopsy in the animal. Based on the microscopic changes, the diagnosis of non-epitheliotropic cutaneous lymphoma was made and chemotherapy was instituted initially with lomustine, without response, and then with vincristine and cyclophosphamide, also without response. The animal died 41 days after diagnosis and was subjected to necropsy. Samples of skin nodule in the pectoral region, aorta, heart, liver and kidneys were collected and showed similar histological characteristics, with infiltration of round neoplastic cells, the lumen of lymphatic vessels also presented these cells, characterizing metastatic capacity via lymphatics. The prognosis of cutaneous non-epitheliotropic lymphoma is generally reserved and the average survival is one to 36 months, with the survival of a dog with lymphoma that does not respond to treatment is 26 days.

Keywords: Lymphoid neoplasm. Canine. Skin. Metastasis. Survival.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1	Órgãos linfóides	10
2.2	Linfoma Canino	10
2.2.1	<i>Epidemiologia</i>	11
2.2.2	<i>Classificação anatômica</i>	11
2.2.2.1	<i>Linfoma multicêntrico</i>	12
2.2.2.2	<i>Linfoma alimentar</i>	12
2.2.2.3	<i>Linfoma mediastínico</i>	13
2.2.2.4	<i>Linfoma cutâneo</i>	13
2.2.2.5	<i>Linfoma extranodal</i>	14
2.3	Sinais clínicos	15
2.4	Diagnóstico	15
2.4.1	<i>Diagnóstico histológico</i>	16
2.4.2	<i>Diagnóstico citológico</i>	17
2.4.3	<i>Imunofenotipagem</i>	20
2.5	Tratamento	21
2.6	Prognóstico	22
3	RELATO DE CASO	23
4	DISCUSSÃO	29
5	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Os avanços na medicina veterinária contribuíram para prolongar o tempo de vida dos animais domésticos e, como consequência, houve aumento da incidência de doenças crônicas, como o câncer (KIMURA, 2012). Dentre as diversas neoplasias que acometem os cães, o linfoma está entre as mais frequentemente diagnosticadas (ZANDVLIET, 2016). O linfoma é um tumor linfoide que se origina em órgãos linfohematopoiéticos sólidos, como linfonodo, baço, fígado e agregados linfoides associados às mucosas (FIGHERA et al., 2006), sendo considerado o tumor de origem hematopoiética mais importante em caninos (RIBEIRO; ALEIXO; ANDRADE, 2015).

O linfoma pode ser classificado de acordo com a sua localização anatômica nas formas: multicêntrica, alimentar, mediastínica, cutânea e extranodal (RIBEIRO; ALEIXO; ANDRADE, 2015). O linfoma cutâneo se caracteriza pela proliferação clonal de linfócitos atípicos na pele (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013) e Moore e Olivry (1994) propuseram a classificação dos linfomas cutâneos em epiteliotrópicos e não-epiteliotrópicos, baseada no tropismo das células neoplásicas pelo epitélio.

O linfoma cutâneo é raro em todas as espécies, sendo cães e gatos as espécies mais acometidas (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Em um estudo que analisou a frequência de neoplasias cutâneas em 549 cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, entre os anos 2000 e 2010, apenas 0,59% dos animais foram diagnosticados com linfoma (FERNANDES, Carla et al., 2015).

O diagnóstico de linfoma em animais é feito a partir de espécime citológico ou histológico. Porém, apesar do diagnóstico de linfoma ser relativamente fácil, a determinação do tipo de linfoma requer outras vias de diagnóstico. A classificação do tipo de linfoma é realizada por meio de avaliação da morfologia (citologia ou histologia), determinação do imunofenótipo (citometria de fluxo ou imunistoquímica), características moleculares e comportamento biológico (agressivo, indolente, responsivo aos tratamentos). Na avaliação histológica ou citológica é realizada análise das características celulares e nucleares, organização histológica, bem como padrões de crescimento dos linfomas (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017).

A imunofenotipagem para determinar se a neoplasia é de linhagem de células B ou T ou um fenótipo atípico é atualmente um componente central da classificação linfomas (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Porém, na maioria das situações, não há a possibilidade da imunofenotipagem por limitação financeira dos tutores e a doença é diagnosticada simplesmente como linfoma. Apesar dos resultados da imunofenotipagem influenciarem as

recomendações de tratamento, essa ainda não é uma realidade na maioria dos casos de linfoma diagnosticados no Brasil.

O linfoma cutâneo tende a ser uma doença progressiva, começando com o desenvolvimento de tumores cutâneos multicêntricos e, em última análise, envolvendo os linfonodos regionais e vísceras (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Considerando que os linfomas não-epiteliotrópicos são incomuns (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013), mais agressivos e rapidamente progressivos, este trabalho teve como objetivo relatar um caso de linfoma cutâneo não-epiteliotrópico em um cão, descrevendo evolução clínica, lesões macroscópicas e microscópicas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O linfoma cutâneo canino foi descrito pela primeira vez em 1972 (KELLY et al., 1972), e é considerada por alguns autores como uma doença rara e de etiologia desconhecida (FONTAINE et al., 2009; WITHROW et al., 2013).

2.1 Órgãos Linfoides

O sistema linfoide constitui-se de uma população de linfócitos B, T e Natural Killer (NK), responsáveis pela resposta imunológica inespecífica (NK), pela específica humoral (linfócitos B) e celular (linfócito T). Estas células estão presentes nos órgãos linfoides primários, como timo e medula óssea e secundários, como tecidos linfoides associados à mucosa (MALT), baço e linfonodos. São MALT os tecidos linfoides associados ao trato gastrointestinal (GALT), aos brônquios (BALM), à narina (NALT), à pele (SALT), aos vasos sanguíneos (VALT), à conjuntiva ocular (CALT), além dos órgãos acessórios do sistema digestório, como tonsilas faríngeas, linguais e glândula parótida (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2014).

É nos órgãos linfoides primários que ocorre a produção e maturação dos linfócitos B e T (processo chamado hematopoiese) e nos órgãos linfoides secundários ocorre a ativação dessas células (GOLDSBY et al., 2002). Os linfócitos B são responsáveis pela resposta imunitária humoral, ou seja, pela produção de anticorpos e são oriundos das células pluripotentes da medula óssea. Eles são produzidos e maturados na medula óssea, e vão para os órgãos linfoides secundários, sendo capazes de produzir imunoglobulinas, ao contrário dos linfócitos T, que também são oriundos da medula óssea, porém precisam passar no timo para amadurecer (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2014).

2.2 Linfoma Canino

O linfoma é a neoplasia maligna dos linfócitos proveniente de órgãos linfoides primários (timo e medula óssea) e órgãos linfoides secundários (linfonodos, baço, fígado), podendo ocorrer em qualquer tecido (VAIL; YOUNG, 2007; DALECK; CALAZANS; DE NARDI, 2009). Mais recentemente o termo "linfoma" é utilizado para descrever um grupo heterogêneo de doenças que envolvem proliferação de linfócitos malignos (ITO, FRANTZ, MODIANO, 2014).

Segundo o modelo Revised European-American of Lymphoid Neoplasms (REAL) de 1994 os linfomas em cães e gatos são classificados em Hodgkins-símiles e não Hodgkins-símiles, ambas as classificações, humana e animal, seguem esse modelo. Os Hodgkins-símiles são raros, principalmente em cães. Os não Hodgkins-símiles são comuns e divididos em linfomas B ou T/NK. Os linfomas B ou T/NK são subdivididos em linfomas de células precursoras ou maduras (periféricos) (GRANDI; BARRA, 2019).

Nos cães o linfoma tem aparecimento espontâneo, sua etiologia é considerada multifatorial (FISHER; FISHER, 2004) e apresenta características semelhantes ao linfoma não Hodgkin em humanos, em termos moleculares, apresentação clínica e tratamento (CARTAGENA; DUARTE, 2021). O sistema de classificação histológica do linfoma humano, preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), foi aplicado ao cão (VALLI et al., 2011) e verificou-se que a maioria dos casos de linfoma canino se enquadravam em um desses cinco subtipos: linfoma difuso de grandes células B (50%); linfoma periférico de células T não especificado de outra forma (15%), linfoma da zona T (5-10%), linfoma linfoblástico T (4%) e linfoma da zona marginal (5-10%) (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017).

2.2.1 Epidemiologia

Neoplasias hematopoiéticas são o terceiro tipo mais comum de tumores diagnosticados em cães, representando 8 a 9% de todos os tumores malignos, sendo o linfoma a neoplasia de sistema hematopoiético mais comum nesta espécie (MORRIS; DOBSON, 2007). Vários autores estimaram a incidência de linfoma canino entre 20 a 107 casos a cada 100 mil animais, indicando que a incidência da doença é maior em cães do que em humanos (DOBSON et al., 2002; EDWARDS et al., 2003; MERLO et al., 2008; TESKE, 1994). Acomete as espécies humana, canina e felina, sendo que as faixas etárias mais acometidas são animais de meia idade e idosos, sem predileção de gênero (FOURNEL-FLEURY et al., 2002; ETTINGER, 2003).

2.2.2 Classificação anatômica

O linfoma canino é classificado anatomicamente em forma multicêntrica, alimentar, mediastínica, cutânea e extranodal (RUTLEY; MACDONALD, 2007; MORRIS; DOBSON, 2007), sendo o tipo multicêntrico o mais diagnosticado na espécie canina (cerca de 80% dos casos) (COUTO, 2015). Com relação à apresentação clínica, a forma multicêntrica é a mais

comum de linfoma canino e afeta linfonodos periféricos, mas existem as formas extranodais que incluem: linfoma mediastinal, linfoma abdominal (gastrointestinal, hepático, esplênico, renal), linfoma cutâneo, linfoma ocular, linfoma do sistema nervoso central e linfoma pulmonar (ZANDVLIET, 2016).

2.2.2.1 Linfoma multicêntrico

O linfoma multicêntrico pode acometer os linfonodos superficiais e profundos, o baço, o fígado, as tonsilas e a medula óssea (FIGHERA et al., 2006). Aproximadamente 80% dos casos de linfoma canino são do tipo multicêntrico e por isso é a forma mais diagnosticada na espécie (COUTO, 2015; VAIL; YOUNG, 2007). O fato do linfoma multicêntrico poder infiltrar-se em qualquer parte do organismo mimetiza algumas vezes outras formas anatômicas (MORENO; BRACARENSE, 2007).

Os sinais clínicos mais comumente apresentados por cães com linfoma multicêntrico incluem linfadenopatia generalizada, anorexia, apatia, perda de peso, caquexia, esplenomegalia, hepatomegalia, aumento de volume das tonsilas, desidratação, febre, ascite, edema localizado, palidez das mucosas e icterícia (FIGHERA et al., 2006). O edema localizado pode aparecer nos membros torácicos ou pélvicos e é provavelmente causado pela obstrução do fluxo linfático devido à linfadenomegalia regional (CARDOSO et al., 2004; COUTO, 2015).

2.2.2.2 Linfoma alimentar

O linfoma alimentar (ou intestinal) é definido pela presença da neoplasia no trato gastrointestinal ou nos linfonodos mesentéricos, sendo esta forma a segunda mais comum em cães, correspondendo de 5 a 7% de todos os linfomas (VAIL; YOUNG, 2007). É a segunda neoplasia de intestino mais comum em cães (10% das neoplasias intestinais), depois do adenocarcinoma (FIGHERA; SOUZA; BARROS, 2002). O linfoma intestinal pode apresentar infiltração solitária, difusa ou multifocal do trato gastrointestinal com ou sem linfadenopatia mesentérica. Os cães podem apresentar vômito, diarreia, anorexia, perda de peso, tenesmo e, ocasionalmente, peritonite secundária à obstrução completa e ruptura do intestino. Massa abdominal, linfonodos mesentéricos aumentados e espessamento de alças intestinais podem ser palpáveis (NEUWALD, 2013; COUTO, 2015).

2.2.2.3 Linfoma mediastínico

A forma mediastínica envolve o timo e os linfonodos mediastinais anteriores e posteriores. Essa é a terceira variante mais comum de linfoma em cães (FIGHERA et al., 2006), correspondendo a cerca de 5% de todos os casos de linfoma na espécie canina (PROENÇA, 2009). Cães com linfoma mediastínico podem apresentar dispneia, taquipneia, tosse, regurgitação, cianose, intolerância a exercícios, alterações nos sons pulmonares e cardíacos, esses sinais ocorrem por compressão das vias aéreas e do esôfago (FIGHERA et al., 2006). Nos casos com compressão da veia cava anterior pode ocorrer edema cervical, da face e dos membros torácicos (PROENÇA, 2009).

2.2.2.4 Linfoma cutâneo

O linfoma cutâneo representa de 1% a 8% das neoplasias cutâneas em cães (GOLDSCHMIDT; SHOFER, 1992) e de 3% a 8% de todos os linfomas caninos (FOURNEL-FLEURY et al., 2002). Um estudo retrospectivo realizado na Universidade da Flórida relatou prevalência de 0,02% de cães com micose fungoide, entre 1991 e 2004 (SANTORO; MARSELLA; HERNANDEZ, 2007).

Linfoma cutâneo pode acometer cães de qualquer idade, porém a maioria são animais adultos a idosos (NELSON; COUTO, 2015; DALECK; DE NARDI, 2016). A etiologia é considerada multifatorial, porém acredita-se que possa haver um componente genético envolvido (NELSON; COUTO, 2015) e associação com dermatite atópica (SANTORO; MARSELLA; HERNANDEZ, 2007).

O linfoma cutâneo pode ser primário (originado na pele) ou secundário (encontrado predominantemente em outros locais do corpo). O primário inclui duas formas (epiteliotrópica e não-epiteliotrópica) (MOORE; OLIVRY, 1994) que são derivadas de linfócitos T ou B (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017, HERNÁNDEZ, 2017) e que embora se originem na pele, podem se disseminar posteriormente para órgãos abdominais, linfonodos e medula óssea (MORRIS; DOBSON, 2007). A forma epiteliotrópica é mais comum do que a não-epiteliotrópica (MOORE; OLIVRY, 1994; FONTAINE et al., 2009; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

O linfoma epiteliotrópico cutâneo de células T geralmente se apresenta como uma doença multifocal crônica, mas também pode afetar membranas mucosas (especialmente bucais) e junções mucocutâneas (MOORE et al., 2009). As lesões cutâneas são variáveis na

aparência e incluem eritema difuso, descamação, hipopigmentação focal, placas e nódulos (FONTAINE; HEIMANN; DAY, 2010). Inicialmente, a doença é limitada à pele, mas posteriormente podem ocorrer linfadenopatia, leucemia e envolvimento concomitante de órgãos internos, um estágio que em humanos é referido como síndrome de Sezary (MAGNOL et al., 1996).

O linfoma não-epiteliotrópico é mais agressivo (MORRIS; DOBSON, 2007), pode ser primário (origem dérmica) ou secundário a um linfoma disseminado (FONTAINE et al., 2009) e pode ser originário de células B ou T (HENDRICK, 2017). A maioria dos linfomas de pele não-epiteliotrópicos exibem rápida progressão e infiltração em linfonodos, com subsequente envolvimento sistêmico (BOSSCHERE; DECLERCQ, 2008).

Os sinais clínicos e as características das lesões são extremamente variáveis e podem mimetizar qualquer lesão cutânea primária ou secundária (COUTO, 2015). As lesões mais frequentes são nódulos, placas, úlceras e eritema, e são comumente pruriginosas (LOWER, 2001). Os nódulos são geralmente alopecícos e, por vezes, ulcerados, acometendo principalmente a cabeça, tronco e extremidades (KIMURA, 2012). O linfoma cutâneo pode provocar metástases em outros órgãos, como linfonodos, baço, fígado e medula óssea (VAIL; YOUNG, 2007). Pode ocorrer como uma lesão tardia decorrente de um processo sistêmico, como o linfoma multicêntrico, sendo difícil determinar o foco inicial das lesões (ROCHA; SUZANO; RODRIGUES, 2010).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece três formas de linfoma epiteliotrópico de células T: micose fungoide (MF), Síndrome de Sézary e reticulose pagetoide (MOORE et al., 2009; GROSS et al., 2009), sendo que a micose fungoide é a forma mais comum na espécie canina (MOORE; OLIVRY, 1994). Em 2005 a Organização Mundial da Saúde – Organização Europeia de Investigação e Tratamento do Câncer propôs a reclassificação da reticulose pagetoide humana como uma variante da MF (WILLEMZE et al., 2005). Na MF há uma infiltração de linfócitos T neoplásicos restrita à epiderme e estruturas anexas (MOORE; OLIVRY, 1994, MORRIS; DOBSON, 2007, MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

2.2.2.5 Linfoma extranodal

O aparecimento de um tumor linfoide isolado em qualquer órgão não pertencente ao tecido linfoide primário ou secundário é considerado como linfoma extranodal. A forma extranodal primária é a menos prevalente e pode ocorrer em qualquer localização fora do sistema linfoide, incluindo pele, olho, sistema nervoso central, osso, testículo, vesícula urinária,

coração, cavidade nasal e vasos sanguíneos (VAIL; YOUNG, 2007). Os sinais clínicos nos cães com linfomas extranodais são extremamente variáveis e dependem da localização da neoplasia (COUTO, 2015).

2.3 Sinais clínicos

O linfoma cutâneo, além da pele, pode comprometer a cavidade oral, linfonodos, baço, fígado e medula óssea. As lesões podem ser generalizadas ou multifocais, iniciando com aparecimento de eritema, descamação, despigmentação, alopecia, crostas, pápulas e evoluindo para formação de placas e nódulos, podendo ter ulcerações (FONTAINE et al., 2009; NELSON; COUTO, 2015; DALECK; DE NARDI, 2016).

Uma lesão característica é uma massa dermoepidermoide circular elevada e eritematosa, possuindo pele normal no centro. Além disso, também é comum o inchaço difuso (FONTAINE et al., 2009; NELSON; COUTO, 2015; DALECK; DE NARDI, 2016). São comuns lesões apresentando aspecto arciforme, serpiginoso ou em formato de ferradura, além de prurido, que pode variar de ausente a intenso. A hipopigmentação focal é manifestada em cerca de 50% dos casos (DALECK; DE NARDI, 2016).

2.4 Diagnóstico

O diagnóstico de linfoma em animais é feito a partir de espécime citológico ou histológico. Porém, apesar do diagnóstico de linfoma ser relativamente fácil, a determinação do tipo de linfoma requer outras vias de diagnóstico. Na rotina veterinária nos Estados Unidos da América, o diagnóstico definitivo de linfoma baseia-se nos resultados histopatológicos em apenas 28% dos casos. A grande maioria dos oncologistas veterinários tende a introduzir quimioterapia antineoplásica com base no exame citológico e imunofenotipagem, e consideram essa prática recomendável (REGAN; KAPLAN; BAILEY, 2012).

A classificação do tipo de linfoma é realizada por meio de avaliação da morfologia (citologia ou histologia), determinação do imunofenótipo (citometria de fluxo ou imunistoquímica), características moleculares e comportamento biológico (agressivo, indolente, resposivo aos tratamentos). Na avaliação histológica ou citológica é realizada análise das características celulares e nucleares, organização histológica, bem como padrões de crescimento dos linfomas (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017).

O exame citológico e histológico de linfoma cutâneo pode ser um desafio quando as células neoplásicas são pequenas e bem diferenciadas, ou quando estão confinados à epiderme. Esses casos podem exigir identificação de um único clone de células por meio de imunohistoquímica ou citometria de fluxo para determinar se a infiltração é neoplásica. As formas de células grandes e imunoblásticas são mais fáceis de diagnosticar, mas algumas variantes de células médias a grandes podem ser difíceis de distinguir de células de histiocitoma na citologia e em lâminas de Hematoxilina-Eosina, sendo que as células de histiocitoma nunca entram no epitélio folicular ou anexial (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017).

2.4.1 Diagnóstico histológico

Para o diagnóstico histopatológico é indicado realizar biópsia de lesões não contaminadas e não ulceradas, placas ou nódulos intactos (FONTAINE et al., 2009). Em tumores epiteliotrópicos, as células neoplásicas são células T e têm uma afinidade pela epiderme e epitélio anexial. Linfócitos neoplásicos, que podem variar desde pequenos e bem diferenciados até grandes e histiocitóides, invadem a epiderme difusamente ou em pequenos clusters (chamados de microabscessos de Pautrier). Infiltrados semelhantes são vistos no folículo do pelo e células epiteliais da glândula apócrina, sendo esta uma característica importante usada para distinguir linfoma de inflamação ou outros tumores de células redondas ((HENDRICK, 2017).

As células neoplásicas são também vistas na derme, mas é o epiteliotropismo que distingue essa forma. A atividade mitótica nesta forma é geralmente baixa. O termo "reticulose pagetoide" é usado quando o infiltrado neoplásico é limitado à epiderme e estruturas anexiais, e por alguns é considerada uma subvariante de micose fungoide. Quando linfoma epiteliotrópico é acompanhado por envolvimento simultâneo dos gânglios linfáticos e sangue periférico, a doença é chamada Síndrome de Sézary (HENDRICK, 2017).

Os tumores não-epiteliotrópicos são de origem de células B ou T e são caracterizados por camadas e grupos de linfócitos neoplásicos predominantemente na derme. Pode haver leve infiltrado na epiderme, mas os anexos não são afetados. As células podem variar na morfologia e os linfócitos neoplásicos estão frequentemente misturados com linfócitos normais, plasmócitos e histiócitos, escondendo a verdadeira natureza neoplásica da lesão. Quando as células neoplásicas são pequenas e bem diferenciadas, o diagnóstico pode ser difícil. Os fenótipos mais comuns de linfoma não-epiteliotrópico, em cães e gatos, são as formas

linfoblásticas e imunoblásticas que podem ser reconhecidas por suas características nucleares e citoplasmáticas. Os índices mitóticos variam de moderado a alto (HENDRICK, 2017).

2.4.2 Diagnóstico citológico

A citologia é um excelente meio para diagnosticar linfoma (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Muitos autores têm recomendado o uso da citologia como método diagnóstico para linfomas caninos, especialmente se houver confirmação por imunocitoquímica ou citometria de fluxo, sendo que cerca de 96% dos médicos veterinários recomendam citologia como um dos exames necessários para o diagnóstico definitivo de linfoma (REGAN; KAPLAN; BAILEY, 2012).

A citologia é uma ferramenta barata, de fácil execução, segura e um método confiável de diagnóstico de linfoma com alta precisão em comparação com o exame histopatológico (AMORES-FUSTER et al., 2014). Na oncologia canina é especialmente valiosa para diagnosticar os subtipos de linfomas mais comuns (FOURNEL-FLEURY et al., 1997; JAGIELSKI et al., 2002; SAPIERZYŃSKI et al., 2010; COMAZZI; GUSCETTI; MARCONATO, 2013).

Na medicina veterinária, a biópsia excisional do linfonodo e a histopatologia só devem ser considerados quando o exame citológico fornece resultado inconclusivo (MESSICK, 2007; COMAZZI; GUSCETTI; MARCONATO, 2013). O exame citológico permite diferenciação entre processos reativos e neoplásicos, indica o subtipo de linfoma mais provável, ajuda na seleção do linfonodo mais representativo para coleta histológica, no estadiamento da doença, na monitoração pós-quimioterapia e detecção de potenciais recidivas (GRANDI; BARRA, 2019).

Ao longo do tempo, os sistemas de classificação dos linfomas passaram por uma progressão gradual que levaram ao entendimento universal de que não existe um padrão-ouro de classificação que se aplica a todos os subtipos de linfoma em todas as espécies (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Vários sistemas de classificação têm sido propostos, entre eles o sistema Working Formulation (WF) criado pelo Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos da América que define os tipos de linfoma pela histologia; REAL que foi proposta para contornar a falta de diferenciação entre células B e T existente no sistema WF; Kiel adaptada por Fournel-Fleury (VALLI et al., 2000) e outros.

A OMS adota o sistema de classificação REAL, que tem como base o exame histopatológico (GRANDI; BARRA, 2019), seguido de imunofenotipagem e alterações

citogenéticas (COSTA et al., 2005). Este sistema de classificação também conta com esquema de estadiamento com base nos locais anatômicos afetados (de I a V) e subestágio a ou b com base na apresentação clínica (REGAN; KAPLAN; BAILEY, 2012). Porém, a aplicação da classificação de linfoma recomendada pela OMS na oncologia canina pode ser problemática em alguns casos. Como requer a avaliação da arquitetura dos linfonodos (difuso ou folicular), a amostra só pode ser coletada por exérese cirúrgica sob efeito de anestesia geral e esse procedimento pode ser inviável em pacientes em estado grave.

Já o sistema Kiel se baseia na comparação entre a morfologia da célula neoplásica e a morfologia da célula normal, por meio do exame citopatológico. Devido ao desenvolvimento da imunohistoquímica e crescente compreensão da fisiologia das células e órgãos linfoides, a classificação de Kiel foi atualizada, considerando agora as características morfológicas das células e seu imunofenótipo. Em 1997, o sistema de Kiel foi adaptado para a espécie canina, sendo denominado classificação Fournel-Fleury ou Kiel adaptada por Fournel-Fleury. As adaptações adicionaram subtipos descritos em cães que não eram contemplados na classificação humana original (GRANDI; BARRA, 2019).

O sistema Kiel adaptado usado para cães é o segundo sistema de classificação mais usado para determinar subtipos de linfoma canino (FOURNEL-FLEURY et al., 1997; FOURNEL-FLEURY et al., 2002; PONCE et al., 2010; FERNANDES, Natália et al., 2015). Esse sistema é baseado na morfologia da célula neoplásica (centroblástica, centrocítica ou imunoblástica) e imunofenótipo (células B ou T), comparando similaridades com linfócitos normais em diferentes estágios de maturidade. Ambos critérios podem ser estabelecidos com análise microscópica de amostras celulares, sendo que os critérios microscópicos incluem tamanho da célula e do núcleo, basofilia do citoplasma, formato do núcleo, densidade da cromatina, presença, tamanho e distribuição de nucléolo e atividade mitótica. (GRANDI; BARRA, 2019; PONCE et al., 2004; VAIL; YOUNG, 2007; FOURNEL-FLEURY et al., 1997).

O tamanho celular é definido a partir do tamanho nuclear que é determinado usando eritrócitos como parâmetro. Se o diâmetro nuclear é menor que dois eritrócitos o linfócito é considerado pequeno, se o diâmetro nuclear for igual a dois eritrócitos é um linfócito médio e se for maior que dois eritrócitos é um linfócito grande. O índice mitótico (IM) é estimado em cinco campos de grande aumento (CGA), o IM é baixo quando são visualizadas uma ou duas mitoses nesses cinco campos, o IM é intermediário quando há de duas a quatro mitoses nos campos e alto quando há mais de cinco (GRANDI; BARRA, 2019; FOURNEL-FLEURY et al., 1997).

Outros parâmetros morfológicos que podem ser usados são presença de macrófagos com corpos tingíveis e presença de corpúsculos linfoglandulares. Macrófagos locais fagocitam fragmentos de células apoptóticas causando o aparecimento dos macrófagos com corpos tingíveis, eles frequentemente aparecem em linfomas de alto grau (intensa atividade apoptótica). Os corpúsculos linfoglandulares são estruturas basofílicas que podem ter variados tamanho e aparecem devido fragmentação do citoplasma de linfócitos. Os corpúsculos linfoglandulares podem estar presentes em exames citológicos de tecidos linfóides normais, hiperplásicos e neoplásicos. Em 1994, Erick Teske e colaboradores demonstraram que linfomas B de alto grau tem maior quantidade de corpúsculos em comparação com linfomas T (GRANDI; BARRA, 2019).

A classificação de Fournel-Fleury pode ser didaticamente dividida em três passos, o primeiro é a avaliação morfológica com os critérios citados anteriormente, o segundo é classificar os linfomas como de alto ou baixo grau. Linfomas de alto grau têm como característica células médias ou grandes e IM intermediário ou alto, recebem o sufixo “blástico”. Os de baixo grau tem células pequenas e índice mitótico de intermediário a baixo e recebem o sufixo “cítico” ou “citoide”. O último passo é a denominação do tipo de linfoma (GRANDI; BARRA, 2019).

Os tipos de linfomas contemplados pela classificação de Fournel-Fleury são linfoma linfoblástico, linfoma de pequenas células claras, linfoma centroblástico centrocítico, linfoma centroblástico monomórfico folicular, linfoma centrocítico, linfoma de células médias macronucleoadas, linfoma centroblástico monomórfico difuso, linfoma centroblástico polimórfico, linfoma imunoblástico, linfoma anaplásico/mediastinal, linfoma linfocítico (B ou T), linfoma pró-linfocítico (B ou T), linfoma linfoplasmocitóide/plasmocítico, linfoma pleomórfico de pequenas células, linfoma pleomórfico de grandes células, linfomas pleomórfico misto de pequenas e grandes células e micose fungoide (GRANDI; BARRA, 2019).

A micose fungoide é um linfoma epiteliotrópico, ou seja, os linfócitos neoplásicos têm afinidade com epitélios em geral. A micose fungoide clássica é um linfoma cutâneo epiteliotrópico de baixo grau. Lesões em mácula ou placa são compostas por linfócitos pequenos a intermediário (com núcleo medindo 1,5 eritrócitos), núcleos clivados a convolutos, nucléolos indistintos, citoplasma escasso com basofilia discreta, cromatina fina a grosseira e índice mitótico baixo. Em lesões tumorais há aparecimento de linfócitos maiores, com citoplasma eosinófilo a claro e mais amplo (aspecto histiocitoide) e índice mitótico mais amplo

do que em mácula/placa. As descrições citológicas restringem-se a raros relatos de casos, dificultando o diagnóstico citológico (GRANDI; BARRA, 2019; THRALL et al., 1984).

A vantagem desse sistema é a forte relação entre a morfologia das células neoplásicas e seu imunofenótipo, que permite diagnosticar o subtipo de linfoma com 90% de precisão (PONCE et al., 2010; SAPIERZYŃSKI; DOLKA; FABISIAK, 2012), a única exceção são os linfomas linfoblásticos, que são caracterizados pela mesma morfologia independentemente do imunofenótipo, nesses casos imunofenotipagem é essencial para diagnóstico definitivo da neoplasia (FOURNEL-FLEURY et al., 2002; SAPIERZYŃSKI; DOLKA; FABISIAK, 2012).

2.4.3 Imunofenotipagem

A imunofenotipagem para determinar se a neoplasia é de linhagem de células B, T ou de um fenótipo atípico é atualmente um componente central da classificação linfomas (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017). Porém, na maioria das situações, não há a possibilidade da imunofenotipagem por limitação financeira dos tutores e a doença é diagnosticada simplesmente como linfoma. Apesar dos resultados da imunofenotipagem influenciarem as recomendações de tratamento, essa ainda não é uma realidade na maioria dos casos de linfoma diagnosticados no Brasil.

Essa técnica utiliza anticorpos como reagentes específicos capazes de identificar e estabelecer ligação com constituintes teciduais que funcionam como antígenos. Esta ligação permite identificar a presença de variadas substâncias nas células e tecidos por intermédio da cor que é associada aos complexos antígeno-anticorpo formados (POLACK; VAN NOORDEN, 2003). A imunofenotipagem pode ser realizada através da imunohistoquímica, que é associada a metodologias que usam imunoenaios para localizar um epítipo de interesse em cortes de tecido. Na maioria dos casos, o tecido é removido do animal e conservado/fixado por congelamento ou por métodos químicos (uso de formaldeído) e embebido em parafina. Posteriormente são obtidas secções muito finas, de cerca de 4µm, a partir do material congelado ou incluído em parafina e colocadas em lâminas de vidro. Desta forma, é possível localizar os antígenos nos componentes histológicos e celulares, mantendo a arquitetura original do tecido circundante (HARLOW; LANE, 1998).

Também pode ser realizada a imunocitoquímica que usa imunoenaios para localizar um epítipo de interesse em esfregaços citológicos. Esses testes requerem diferentes medidas de controle de qualidade, com ênfase na utilização de controles positivos e negativos apropriados. A maioria da matriz extracelular e outros componentes do estroma tecidual não

estão presentes, deixando apenas as células isoladas ou em pequenos agregados. Pode ser aplicado um procedimento de permeabilização na amostra, para que os anticorpos possam atingir alvos intracelulares (FERRO, 2014).

2.5 Tratamento

A quimioterapia é o tratamento mais utilizado, já que a doença normalmente é diagnosticada em estágio avançado (DE LORIMIER, 2006), porém seu efeito não costuma ser duradouro em pacientes com linfoma cutâneo (DALECK; DE NARDI, 2016). Os tratamentos cirúrgico e radioterápico podem ser usados em casos com apresentações localizadas juntamente com a quimioterapia (NELSON; COUTO, 2015; DALECK; DE NARDI, 2016). A cirurgia é indicada somente após estadiamento clínico do paciente e quando a possibilidade de lesões adicionais disseminadas é descartada (DE LORIMIER, 2006).

Dentre os protocolos quimioterápicos, destacam-se dois principais: quimioterapia de indução, que é seguida por manutenção e quimioterapia mais agressiva por um período de tempo finito, na qual não se utiliza qualquer quimioterapia de manutenção (COUTO, 2015). A preferência do protocolo deve obedecer aos critérios de estágio da doença, classificação citopatológica, condições gerais do paciente, presença ou ausência de síndrome paraneoplásica, relação custo-benefício, tempo-eficácia, grau de toxicidade e às experiências anteriores (DALECK; CALAZANS; DE NARDI, 2009; DE CÁPUA et al., 2011). Segundo Couto (2015) a primeira abordagem é menos agressiva e fundamentada em COP (ciclofosfamida, vincristina e prednisona). Já na quimioterapia mais agressiva são utilizados protocolos do tipo CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) (GARRETT et al., 2002). Os protocolos com os agentes MOPP (mecloretamina, vincristina, procarbazina e prednisona) e lomustina, actinomicina D, mitoxantrona são satisfatoriamente empregados atualmente, com taxa de remissão de até 50% (PROENÇA, 2009). O alto poder de resistência adquirido no decorrer do tratamento pelas células malignas é uma das principais causas pelos quais a poliquimioterapia é avaliada mais efetiva do que o uso de um agente quimioterápico único no tratamento do linfoma (DE CÁPUA et al., 2011).

A lomustina tem sido descrita como o quimioterápico de primeira escolha para o tratamento de casos de linfoma epiteliotrópico, na dose mínima de 50mg/m² (DALECK; DE NARDI, 2016). Seus efeitos colaterais são neutropenia, leucopenia, trombocitopenia e hepatotoxicidade (KRISTAL et al., 2004; RISBON et al., 2006). Estudos retrospectivos com 82 cães com linfoma cutâneo de células T tratados com lomustina na dose de 60-70 mg/m²

mostram que 26% dos animais alcançaram remissão completa, sendo que o tempo médio de resposta foi de 95 dias (WILLIAMS et al., 2006; RISBON et al., 2006).

2.6 Prognóstico

Linfomas de baixo grau de malignidade, caracterizados pela presença de células pequenas com uma baixa taxa de mitose, tipicamente apresentam uma progressão lenta e estão associados com longas taxas de sobrevida quando o animal não recebe quimioterapia agressiva. Os linfomas de alta grau de malignidade e alta taxa mitótica, apesar de evoluírem mais rapidamente, são mais responsivos a quimioterapia do que os de baixo grau de malignidade, apresentando, com maior frequência, remissão completa (VAIL; YOUNG, 2007; NEUWALD, 2013).

Observa-se remissão completa em 60 a 80% dos cães com linfoma que são tratados com quimioterapia. O tempo médio de sobrevida é de 6 a 12 meses e apenas 10% sobrevivem por dois anos ou mais, o tempo de sobrevida para um cão que não responde ao tratamento é de apenas 26 dias (PONCE et al., 2004; ETTINGER, 2003; VAIL; YOUNG, 2007; ARESPACOHAGA; SCHWENDENWEIN; WEISSENBOCK, 2007).

3 RELATO DE CASO

Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) um canino, fêmea, oito anos de idade, sem raça definida que apresentava múltiplos nódulos cutâneos, sendo todos de consistência firme, com limites mal definidos, não-ulcerados e tamanhos variando de três a 10 cm de diâmetro.

Após avaliação clínica suspeitou-se de lesão neoplásica e o animal foi submetido à biópsia incisional com punch. Coletou-se material para análise histopatológica de três lesões cutâneas, sendo: lesão cutânea em placa localizada em região toraco-lateral esquerda, que possuía formato de 8, de aproximadamente 5 cm, consistência firme, não aderida, não ulcerada, não alopecica. Desta lesão foram coletados dois fragmentos medindo 0,5 cm cada, firmes, com pele e de coloração brancacenta. A segunda lesão cutânea coletada foi a de formato serpiginoso, localizada dorsalmente a primeira, era firme, não aderida, não ulcerada, não alopecica. Desta lesão coletou-se somente um fragmento de consistência firme, com pele e de coloração brancacenta com punch de 0,8 cm. A terceira amostra foi coletada de nódulo cutâneo de aproximadamente 4 cm, localizado cranialmente a segunda lesão, de consistência firme, não aderido, não ulcerado, não alopecico. Desta lesão dois fragmentos foram coletados, de um e 0,5 cm, respectivamente, ambos firmes, com pele e de coloração brancacenta.

As alterações microscópicas encontradas foram semelhantes em todas as amostras coletadas. Os fragmentos de pele apresentaram proliferação de células redondas, na derme superficial, ao redor dos folículos piloso, infiltrando derme profunda, hipoderme e por vezes, musculatura. As células neoplásicas estavam arranjadas em manto, quanto ao tamanho variavam de pequenas células bem diferenciadas a grandes células histiocitoides. Células apresentavam citoplasma escasso a moderado, núcleos redondos, cromatina frouxa e nucléolos evidentes. As figuras de mitose eram raras, com baixo índice mitótico, tendo em média uma figura de mitose por campo de grande aumento (CGA).

Com base nos achados microscópicos estabeleceu-se diagnóstico de linfoma cutâneo não-epiteliotrópico e foi instituído tratamento quimioterápico com lomustina, sem reposta. Outra sessão de quimioterapia foi realizada, 15 dias após a primeira, com vincristina e ciclofosfamida. O animal foi a óbito cerca de uma hora após a aplicação desses medicamentos e encaminhado para o Setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia para ser submetido à necropsia.

Macroscopicamente foi observado múltiplos nódulos cutâneos, localizados em pálpebra esquerda, região peitoral, região dorsal torácica, região lateral abdominal esquerda, mama

abdominal caudal direita e mama inguinal direita, sendo todos esses nódulos firmes, com limites mal definidos, tamanhos variando de três a 10 cm de diâmetro, não-ulcerados, irregulares. Ao corte se apresentaram sólidos, de coloração heterogênea, predominantemente brancacentos com áreas avermelhadas multifocais (Figura 1).

Figura 1 – Linfoma não-epiteliotrópico em cão, fêmea, oito anos de idade, sem raça definida. A. Nódulos cutâneos em região dorsal torácica, ulcerados, consistência firme, com limites mal definidos. B. Nódulo cutâneo regular, não ulcerado em membro torácico direito, consistência firme. C. Nódulo cutâneo regular, não ulcerado em membro pélvico direito, consistência firme. D. Nódulo em região peitoral, consistência firme, com limites mal definidos, não ulcerado.



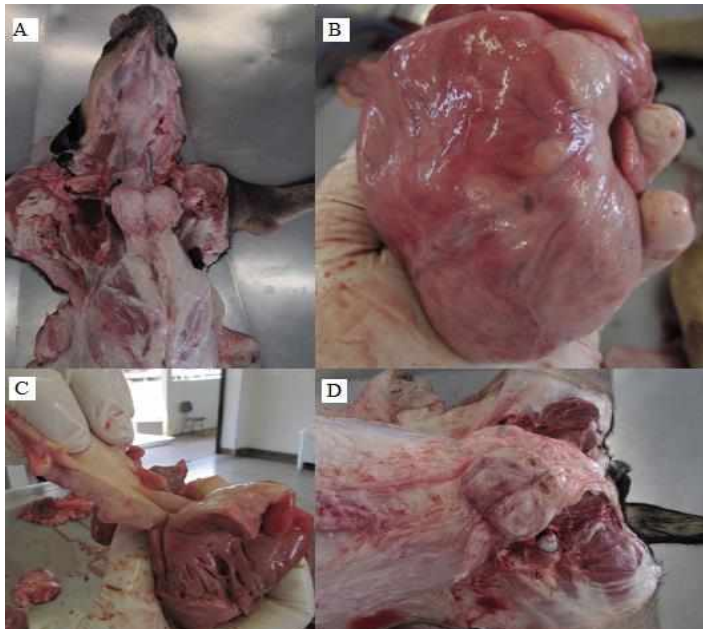
Fonte: Setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

Na cavidade torácica observou-se discreta quantidade de líquido aquoso e translúcido livre. O coração apresentava morfologia irregular, perda do formato cônico e espessamento da parede atrial e ventricular esquerda devido ao tecido brancacento, irregular, firme e sem limites definidos que infiltrava todas as camadas e, também, envolvia tronco pulmonar e artéria aorta. Havia discreta redução do lúmen da aorta.

Observou-se linfadenomegalia generalizada, com aumento acentuado de volume dos linfonodos submandibulares, pré-escapulares, axilares, aórticos lombares e inguinal superficial direito. Esses linfonodos tinham consistência firme, com superfície regular e, ao corte, eram heterogêneos, com coloração predominantemente brancacenta e áreas avermelhadas (Figura 2).

Linfonodos traqueobronquial e mediastinal caudal com as mesmas características dos outros linfonodos descritos, porém com formato irregular e aspecto multinodular.

Figura 2 - Metástases de linfoma não-epiteliotrópico em cão, fêmea, oito anos de idade, sem raça definida. A. Superfície de corte de nódulo sólido em região peitoral apresentando coloração heterogênea, predominantemente brancacento com áreas avermelhadas multifocais. B. Coração de formato irregular e com áreas brancacentas multifocais que se aprofundam ao corte. C. Parede atrial e ventricular direita espessadas por infiltração de tecido brancacento, irregular, firme e sem limites definidos, que se estendia por todas as camadas e também envolvia tronco pulmonar e artéria aorta. D. Linfonodo inguinal superficial direito de consistência firme, superfície regular e, ao corte, heterogêneo, com coloração predominantemente brancacenta e áreas avermelhadas.

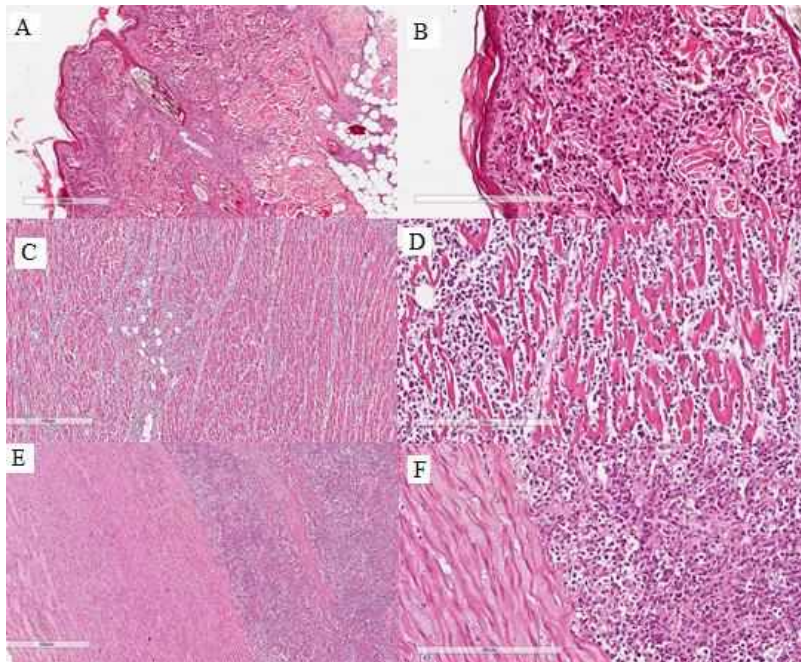


Fonte: Setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

Na abertura da cavidade abdominal havia cerca de 100 mL de líquido livre aquoso e translúcido. Estômago repleto, com acentuada quantidade de líquido espesso e vermelho-escuro, contendo múltiplas soluções de continuidade da mucosa, com bordos irregulares e espessados, medindo entre 0,5 a quatro cm de diâmetro cada, de coloração avermelhada. Demais órgãos não apresentaram alterações significativas.

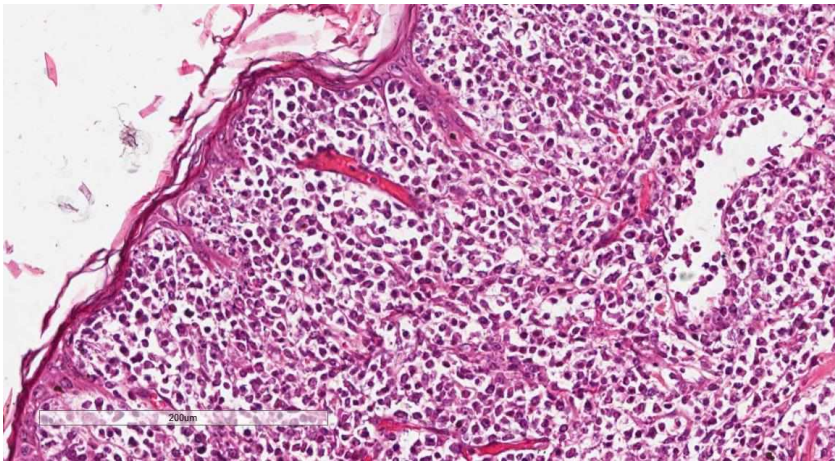
Fragments do nódulo em região peitoral, aorta, coração, fígado e rins foram coletados e fixados em formaldeído a 10%, incluídos em parafina, processados histologicamente e corados por hematoxilina e eosina. Todas as amostras apresentaram características semelhantes, com infiltração de células neoplásicas redondas, dispostas em manto. As células neoplásicas possuíam formato arredondado, de tamanho duas a três vezes o diâmetro das hemácias, com citoplasma escasso e fracamente basofílico, núcleo central arredondado a endentado, cromatina grosseira a frouxa e múltiplos nucléolos evidentes, dispostos de forma concêntrica e periférica (Figura 3). Apresentavam moderadas anisocitose e anisocariose, e discreto pleomorfismo celular. Nos fragmentos cutâneos havia epiderme delgada, com redução do número de células da camada espinhosa, porém as células neoplásicas não infiltravam epiderme e anexos cutâneos (Figura 4). Havia células neoplásicas infiltrando o lúmen de vasos linfáticos, caracterizando capacidade metastática via linfática. Na aorta as células neoplásicas infiltravam camada adventícia e no coração havia distorção da arquitetura tecidual e espaçamento das fibras musculares devido à infiltração das células neoplásicas de origem linfoide.

Figura 3 - Fotomicrografias de linfoma canino cutâneo não-epiteliotrópico metastático. A e B. Fragmento de pele exibindo infiltração de células neoplásicas redondas, dispostas em manto. As células neoplásicas possuem formato arredondado, de tamanho 2 a 3 vezes o diâmetro das hemácias, moderada anisocitose e anisocariose. A epiderme está delgada, com redução do número de células da camada espinhosa, porém as células neoplásicas não infiltram a epiderme e anexos cutâneos. C e D. Fragmento de miocárdio com distorção da arquitetura tecidual e espaçamento das fibras musculares devido à infiltração de células neoplásicas de origem linfóide. E e F: fragmento de aorta com camada adventícia infiltrada por células neoplásicas linfóides, dispostas em manto.



Fonte: Setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

Figura 4 - Fotomicrografia de linfoma canino cutâneo não-epiteliotrópico metastático. Há infiltração de células neoplásicas redondas, dispostas em manto na derme superficial e profunda. As células neoplásicas possuem formato arredondado, de tamanho 2 a 3 vezes o diâmetro das hemácias, moderada anisocitose e anisocariose, citoplasma escasso e fracamente basofílico, núcleo arredondado a indentado e central, cromatina grosseira a frouxa e múltiplos nucléolos evidentes. A epiderme está delgada, com redução do número de células da camada espinhosa, porém as células neoplásicas não infiltram a epiderme e anexos cutâneos.



Fonte: Setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo o linfoma foi diagnosticado como linfoma cutâneo não-epiteliotrópico. O linfoma cutâneo em cães é incomum, representando de 1% a 8% das neoplasias cutâneas em cães (GOLDSCHMIDT; SHOFER, 1992) e de 3% a 8% de todos os linfomas caninos (FOURNEL-FLEURY et al., 2002). Pode ser classificado em epiteliotrópico e não-epiteliotrópico (GROSS et al. 2009, MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013) sendo o tipo epiteliotrópico mais comum. No caso em questão, o linfoma era cutâneo e não-epiteliotrópico, que tende a ser mais agressivo (MORRIS; DOBSON, 2007) exibindo rápida progressão e infiltração em linfonodos, com subseqüente envolvimento sistêmico (BOSSCHERE; DECLERCQ, 2008).

A idade do animal no momento do diagnóstico (8 anos) e as características das lesões macroscópicas são semelhantes às relatadas por Fontaine et al. (2009), Nelson e Couto (2015) e Daleck e De Nardi (2016) que relataram que os cães acometidos são, geralmente, de meia idade a idosos e podem apresentar lesões multifocais com eritema, formação de placas e nódulos, aspecto serpiginoso e ausência de ulcerações.

A etiologia do linfoma cutâneo é considerada multifatorial, porém acredita-se que possa haver um componente genético envolvido (NELSON; COUTO, 2015) e associação com dermatite atópica (SANTORO; MARSELLA; HERNANDEZ, 2007). O cão em questão era sem raça definida e o proprietário não relatou afecções cutâneas prévias. Outros fatores predisponentes para ocorrência de linfoma canino incluem exposição a poluentes, agrotóxicos, pesticidas ou convívio com tabagistas (ZANINI et al., 2013) e, por falta de informações sobre o animal, não foi possível associar o linfoma cutâneo a outros fatores de risco.

A apresentação clínica do linfoma cutâneo é variada e pode mimetizar diversas dermatopatias. Deve-se considerar como principais diagnósticos diferenciais: distúrbios dermatológicos (alérgicos, infecciosos e imunomediados) e outras neoplasias cutâneas (DALECK; CALAZANS; DE NARDI, 2009; DAGLI, 2015).

O diagnóstico de linfoma é feito a partir de exame citológico ou histológico. O exame citológico e histológico de linfoma cutâneo pode ser um desafio quando as células neoplásicas são pequenas e bem diferenciadas, ou quando estão confinados à epiderme. As formas de células grandes e imunoblásticas são mais fáceis de diagnosticar, mas algumas variantes de células médias a grandes podem ser difíceis de distinguir de células de histiocitoma, sendo que as células de histiocitoma nunca infiltram no epitélio folicular ou anexial (VALLI; BIENZLE; MEUTEN, 2017).

Comentado [DN1]: Qual a referencia para citar no final?

Comentado [AM2R1]: Errei o ano. É 2009

A avaliação histopatológica dos fragmentos cutâneos, coletados na biopsia incisional com punch e nas amostras colhidas da pele durante a necropsia, revelou tratar-se de linfoma cutâneo não-epiteliotrópico, caracterizado por proliferação de células neoplásicas na derme superficial, ao redor dos folículos pilosos, infiltrando derme profunda, hipoderme e por vezes, musculatura. Segundo Moore e Olivry (1994) o linfoma cutâneo não-epiteliotrópico se caracteriza histologicamente por uma infiltração dérmica e subcutânea difusa de linfócitos neoplásicos.

No caso do linfoma, o prognóstico desfavorável é estabelecido baseado em fatores como: tumores classificados como sendo do subestádio b, células do tipo T, tratamento prévio prolongado com corticoides, linfadenopatia craniomediastinal e localização anatômica, como na medula óssea, cutânea, alimentar e acometimento hepatoesplênico (WITHROW; VAIL, 2007; KIMURA, 2012).

Na primeira avaliação clínica, o cão aqui relatado já exibia linfadenomegalia generalizada e vários nódulos cutâneos e apresentou sobrevida de somente 41 dias. O prognóstico do linfoma cutâneo não-epiteliotrópico geralmente é reservado e a média de sobrevida é de um a 36 meses (MOORE, AFFOLTER; KELLER, 2013). Arespacochaga, Schwendenwein e Weissenböck (2007) relataram que a sobrevida de um cão com linfoma que não responde ao tratamento é de 26 dias.

5 CONCLUSÃO

O linfoma cutâneo não-epiteliotrópico, apesar de incomum, pode ser agressivo e apresentar rápida progressão e infiltração em linfonodos e órgãos viscerais. O diagnóstico definitivo foi realizado através da avaliação histopatológica, para melhor caracterização das células neoplásicas.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Cellular and Molecular Immunology**. 8. Ed. [S. l.], Editora Saunders, p. 544, 2014.
- AMORES-FUSTER, I. et al. The diagnostic utility of lymph node cytology samples in dogs and cats. **Journal Of Small Animal Practice**, [S.l.], v. 56, n. 2, p. 125-129, 2014.
- ARESPACOCCHAGA, A. G.; SCHWENDENWEIN, I.; WEISSENBOCK, H. Retrospective Study of 82 Cases of Canine Lymphoma in Austria based on the Working Formulation and Immunophenotyping. **Journal Of Comparative Pathology**, [S.l.], v. 136, n. 2-3, p. 186-192, 2007.
- BOSSCHERE H.; DECLERCQ J. **Cutaneous nonepitheliotropic B-cell lymphoma in a Golden retriever**. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, v. 77, p. 315-318, 2008.
- CARDOSO, M. J. L. et al. Linfoma canino – achados clínico-patológicos. **Archives of Veterinary Science**, [S.l.], v. 9, n. 2, p. 25-29, 2004.
- CARTAGENA, J. C.; DUARTE, A. A. R. **Oncologia em animais geriátricos com casos clínicos**. São Paulo: Editora Medvet, 2021. 160 p.
- COMAZZI, S.; GUSCETTI, F.; MARCONATO, L. First meeting of the European canine lymphoma group. Workshop: state of the art and comparative aspects in canine lymphoma. CH-Lugano. **Hematological Oncology**, [S.l.], v. 32, n. 2, p. 68-71, 2013.
- COSTA, F. P. S. et al. A utilidade da citologia por punção com agulha fina aliada a imunofenotipagem no diagnóstico dos linfomas não-Hodgkin. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 27, n. 1, p.16-20, 2005.
- COUTO, C. G. Linfoma. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap. 77, p. 1160-1174, 2015.
- DAGLI, M. L. Z. Introdução a oncologia veterinária. In: JERICÓ, M. M.; KOGIKA, M. M.; NETO, J. P. A. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015. p. 478.
- DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.
- DALECK, C. R.; CALAZANS, S. G.; DE NARDI, A. B. Linfomas. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009, cap 31, p. 481-502.
- DE CÁPUA, M. L. B. et al. Linfoma canino: clínica, hematologia e tratamento com o protocolo de Madison-Wisconsin. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1245-1251, 2011.
- DE LORIMIER, L. P. **Updates on the management of canine epitheliotropic cutaneous T-cell lymphoma**. Veterinary Clinics - Small animal practice, USA, v.36, p.213-228, 2006.

- DOBSON, J.M. et al. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J. Small Anim. Pract.*, v. 43, p. 240–246, 2002.
- EDWARDS, D. S. et al. **Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs.** *Vet. Comp. Oncol.* V. 1, p. 200–206, 2003.
- ETTINGER, S. N. Principles of treatment for canine lymphoma. **Clinical Techniques In Small Animal Practice**, [S.l.], v. 18, n. 2, p. 92-97, 2003.
- FERNANDES, Carla C. et al. **Frequência de neoplasias cutâneas em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal de Uberlândia durante os anos 2000 a 2010.** *Bioscience Journal*, v. 31, n. 2, 24, 2015.
- FERNANDES, Natália C. C. A. et al. Liquid-based cytology and cell block immunocytochemistry in veterinary medicine: comparison with standard cytology for the evaluation of canine lymphoid samples. **Veterinary and Comparative Oncology**, [S.l.], v. 14, p.107-116, 2015.
- FERRO, A. B. Imunohistoquímica. In: FERRO, Amadeu Borges. **Imunohistoquímica**. [S.L.]: Amadeu Borges Ferro, 2014. Cap. 1. p. 1-7.
- FIGHERA, R. A. et al. Aspectos clinicopatológicos de 43 casos de linfoma em cães. **MEDVEP – Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 4, n. 12, p. 139-146. 2006.
- FIGHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; BARROS, C. S. L. Linfossarcoma em cães. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 895-899, 2002.
- FISHER, S. G.; FISHER, R. I. **The epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma.** *Oncogene*, [S.l.], v. 1, n. 23, p. 6524-6534, 2004.
- FONTAINE J.; HEIMANN M.; DAY M. J. **Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review of 30 cases.** *Vet Dermatol*, v. 21, p. 267-275, 2010.
- FONTAINE, J. et al. **Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review.** *Veterinary and Comparative Oncology*, Belgium, v.7, n.1, p.1-14, 2009.
- FOURNEL-FLEURY, C. et al. Canine T-cell Lymphomas: A Morphological, Immunological, and Clinical Study of 46 New Cases. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 39, n. 1, p. 92-109, 2002.
- GARRETT, L. D. et al. Evaluation of a 6-month chemotherpy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.16, n.6, p.704-709, 2002.
- GOLDSBY, R. A. et al. **Immunology**. 5 ed. New York, NY: W. H. Freeman, p. 603, 2002.
- GOLDSCHMIDT, M. H.; SHOFER, F. S. **Skin tumors of the dog and cat.** Oxford: Pergamon Press, 1992. 316 p.

- GRANDI, F.; BARRA, C. N. **Citopatologia dos linfomas em cães e gatos**. São Paulo: Vet School São Paulo, 2019. 157 p.
- GROSS, T. L. et al. **Doenças de Pele do Cão e do Gato: Diagnóstico Clínico e Histopatológico**. 2. ed, Roca, 2009. 904 p.
- HARLOW, E.; LANE, D. **Using Antibodies: a laboratory manual**. [S.L.]: Cold Spring Harbor Laboratory, 1998. 495 p.
- HENDRICK, M. J. Mesenchymal Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: Meuten DJ. **Tumors in Domestic Animals**. 5 ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc; 2017. p. 142-175.
- HERNÁNDEZ, G. V. **Linfomas cutâneos em cães: estudo epidemiológico, morfológico, imunofenotípico e seroproteico**. 2017. 105 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2017. Cap. 1. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/151209/vargashernandez_g_dr_jabo_sub.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acesso em: 17 maio 2021.
- ITO, D.; FRANTZ, A. M.; MODIANO, J. F. Canine lymphoma as a comparative model for human non-Hodgkin lymphoma: recent progress and applications. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 159, p. 192–201, 2014.
- JAGIELSKI, D. et al. A Retrospective Study of the Incidence and Prognostic Factors of Multicentric Lymphoma in Dogs (1998-2000). **Journal Of Veterinary Medicine Series A**, [S.l.], v. 49, n. 8, p. 419-424, 2002.
- KELLY D. F.; HALLIWELL R. E.; SCHWARTZMAN R. M. **Generalized cutaneous eruption in a dog, with histological similarity to human mycosis fungoides**. British Journal of Dermatology. 86, 164, 1972.
- KIMURA, K. C. **Linfoma canino: papel do meio ambiente**. 2012. 139 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- KRISTAL, O. et al. Hepatotoxicity associated with CCNU (Lomustine) chemotherapy in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 18, n. 1, p. 75-80, 2004.
- LOWER, K. Neoplastic and nonneoplastic tumors. In: MEDLEAU, L.; HNILICA, K. A. **Small animal dermatology: A color atlas and therapeutic guide**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p. 285- 325, 2001.
- MAGNOL J. P. et al. **Clinical, morphologic and immunophenotypic data based on 10 cases of canine muco-cutaneous epidermotropic T-lymphoma (analogous to mycosis fungoide). Important of an animal model of spontaneous pathology**. Bull Acad Natl Med, v. 180, p. 449-462, 1996.
- MERLO, D. F. et al. **Cancer incidence in pet dogs: findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy**. J. Vet. Int. Med Am. College Vet. Int. Med., v. 22, p. 976–984, 2008.

MESSICK J. B. The lymph nodes. In: COWELL, R. L. et al. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat**. 3. ed. [S. l.], Cap. 11. p. 179-192. 2007.

MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E.; CAMPBELL, K. Tumors of lymphoid Origem. In: **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology**, 7 ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders, p.810-840, 2013.

MOORE P.F.; AFFOLTER V.K.; Keller S.M. Canine inflamed nonepitheliotropic cutaneous T-cell lymphoma: a diagnostic conundrum. 2013. **Veterinary Dermatology**, v. 24, p. 204-211.

MOORE P. F. et al. **Canine epitheliotropic cutaneous T-cell lymphoma**: an investigation of T-cell receptor immunophenotype, lesion topography and molecular clonality. *Vet Dermatol*, v. 20, p. 569-576, 2009.

MOORE, P. F.; OLIVRY, T. Cutaneous lymphomas in companion animals. **Clinics in Dermatology**, v. 12, n.4, p. 499-505, 1994.

MORENO, K.; BRACARENSE, A.P.F.R.L. Linfoma canino de células T: aspectos epidemiológicos, clínicos e morfológicos de 38 casos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, (supl.), p. 103-110. 2007.

MORRIS, J.; DOBSON, J. **Small Animal Oncology**. [S. L.]: Blackwell Science, p. 292, 2001.

MORRIS, J.; DOBSON, J. Sistema Hematopoiético. In: **Oncologia em pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2007. p. 229-252.

NELSON, R. W.; COUTO, G. C. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

NEUWALD, E. B. **Aspectos epidemiológicos, laboratoriais e cardíacos do linfoma canino**. 2013. 111 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

POLACK, J. M.; VAN NOORDEN, S. **Introduction to Immunocytochemistry**. 3. ed. Oxford: Bios Scientific Publishers, 2003. 176 p.

PONCE, F. et al. Prognostic significance of morphological subtypes in canine malignant lymphomas during chemotherapy. **The Veterinary Journal**, [S.l.], v. 167, n. 2, p. 158-166, 2004.

PONCE, F. et al. A Morphological Study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between Canine and Human Lymphoma morphology. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 47, n. 3, p. 414-433, 2010.

PROENÇA, A. R. S. G. **Linfoma maligno multicêntrico canino**. 2009. 99 f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa.

REGAN, R. C.; KAPLAN, M. S. W.; BAILEY, D. B. Diagnostic evaluation and treatment recommendations for dogs with substage-a high-grade multicentric lymphoma: results of a survey of veterinarians. **Veterinary and Comparative Oncology**, [S.l.], v. 11, n. 4, p. 287-295, 2012.

RIBEIRO, R. C. S.; ALEIXO, G. A. S.; ANDRADE, L. S. S. Linfoma canino: revisão de literatura. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, [S. l.], v. 9, p.10-19, 2015.

RISBON, R. E. et al. **Response of Canine Cutaneous Epitheliotropic Lymphoma to Lomustine (CCNU): a retrospective study of 46 dogs (1999-2004)**. Journal of Veterinary Internal Medicine, v.20, p.1389-1397, 2006.

ROCHA, A. A.; SUZANO, S. M. C.; RODRIGUES, R. L. Classificação Histológica e Imunohistoquímica em Três Casos de Linfoma Canino. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, [S.l.], v. 9, n.9, p. 32-47, 2010.

RUTLEY, M.; MACDONALD, V. Managing the canine lymphosarcoma patient in general practice. **Cancer Veterinary Journal**, [S.l.], v. 48, n. 9, p. 977-979, 2007.

SANTORO, D.; MARSELLA, R.; HERNANDEZ, J. Investigation on the association between atopic dermatitis and the development of mycosis fungoides in dogs: a retrospective case-control study. **Veterinary Dermatology**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 101-106, abr. 2007.

SAPIERZYŃSKI, R. Practical aspects of immunocytochemistry in canine lymphomas. **Polish Journal Of Veterinary Sciences**, [S.l.], v. 13, n. 4, p. 661-668, 2010.

SAPIERZYŃSKI, R.; DOLKA, I.; FABISIAK, M. High agreement of routine cytopathology and immunocytochemistry in canine lymphomas. **Polish Journal Of Veterinary Sciences**, [S.l.], v. 15, n. 2, p. 247-252, 2012.

SOUZA, T. M. et al. **Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães**. Ciência Rural, Santa Maria, v.36, n.2, p.555-560, 2006.

TESKE, E. **Canine malignant lymphoma: a review and comparison with human non-Hodgkin's lymphoma**. Vet. Quart., v. 16, p. 209-219, 1994.

THRALL, M. A. et al. Cutaneous Lymphosarcoma and Leukemia in a Dog Resembling Sézary Syndrome in Man. **Veterinary Pathology**, [S.l.], v. 21, n. 2, p. 182-186, 1984.

VAIL, D. M.; YOUNG, K. M. Canine lymphoma and lymphoid leukemia. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, cap. 31, p. 699-733, 2007.

VALLI, V. E. et al. The Histologic Classification of 602 Cases of Feline Lymphoproliferative Disease using the National Cancer Institute Working Formulation. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S.l.], v. 12, n. 4, p. 295-306, 2000.

VALLI, V. E.; BIENZLE, D.; MEUTEN, D. J. Tumors of the Hemolymphatic System. *In*: MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. 5° ed. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc, 2017. p. 203 – 321.

WILLEMZE, R. et al., WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. **Blood**; 105: 3768-86, 2005.

WILLIAMS, L. E. et al. **CCNU in the treatment of canine epitheliotropic lymphoma**. *J Vet Intern Med* v.20, p.136-143, 2006.

WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology**. Philadelphia: Saunders Company, 2007. 864 p

ZANDVLIET, M. Canine lymphoma: a review. **Veterinary Quarterly**, v. 36, n. 2, p. 76-104, 2016.

ZANINI, D. A. et al. Environmental risk factors related to the development of canine non-Hodgkin's lymphoma. **Ciência Rural**, v. 43, n.7, p. 1302-1308, 2013.