

Linfoma multicêntrico de células T com metástases no SNC em um Equino

Multicentric T-cell Lymphoma with Metastases in the CNS of an Equine

Fabiano da Rosa Venancio^{1,2}, Taina dos Santos Alberti³, Haide Valeska Scheid⁴,
Thais Martins Engelmänn², Eliza Simone Viégas Sallis⁵ & Ana Lucia Schild²

ABSTRACT

Background: Lymphomas are neoplasms of hematopoietic origin and can affect all domestic species. In horses, the pathogenesis of lymphoma is still controversial, but it is known that it is not related to viral infections as it occurs in cattle and cats. The overall incidence of lymphomas in the world's equine population is between 1.3% and 2.8% of all neoplasms in this species, and cases of primary lymphomas or metastases to the central nervous system (CNS) are rare. The objectives of this paper were to report one case of multicentric lymphoma with metastasis in the CNS of an equine and to describe the macroscopic, histological and immunohistochemical characteristics of this neoplasm.

Case: A Crioulo male equine with a history of respiratory distress and locomotor disorders was necropsied. Macroscopically, firm whitish cutaneous nodules 3-10 cm in diameter were observed. Also, the mesenteric lymph nodes were increased in size, and yellowish nodules 0.2-0.7 cm in diameter were observed in the left adrenal gland. Nodules similar to the skin nodules were observed in the lung and in the thoracic cavity. Between the 6th and 7th thoracic vertebrae, there was a rounded, white and firm nodule. Fragments of all nodules, organs and the CNS were collected and fixed in 10% buffered formalin. Subsequently, these tissues were routinely processed, and selected sections were submitted to immunohistochemistry (IHC) using CD3 and CD79 α antibodies. Histologically, in all sections, there was proliferation of pleomorphic lymphocytes with scarce cytoplasm, large, vacuolated nuclei and evident nucleoli, and 2 to 4 mitotic figures per higher magnification field. A thin fibrovascular stroma supported neoplastic cells that were arranged in cords or mantle. In the CNS, neoplastic cells were located both inside and around vessels forming cuffs. There were tumor cells inside blood vessels in the skin nodules. On IHC, the samples showed intense positive immunostaining for CD3 and were negative for CD79 α .

Discussion: In the literature, there are few cases of neoplasms affecting the CNS of horses, but among the reported cases, the most prevalent are lymphomas. In the majority of cases of equine lymphomas, several organs have had lesions, and consequently, clinical signs are related to the affected systems and organs. Multicentric lymphomas are the most frequently diagnosed in horses, and it has been mentioned that the most frequent histogenesis is malignant T-cell-rich large B-cell lymphoma, followed by peripheral T-cell lymphomas. Neoplasia in the equine CNS is rare, and when it occurs, it is often associated with multicentric lymphomas. Cases of solitary malignant lymphomas in the equine CNS are rare. Lymphomas with lesions in different regions of the CNS and peripheral nerves have been mentioned in horses and are associated with B and T lymphocytes, with a predominance of B lymphocytes. The perivascular localization of neoplastic cells in the nervous system has been reported, as in the present case, reinforcing the hypothesis that these are metastases and not a primary neoplastic site. This paper led to the conclusion that multicentric lymphomas should be considered in the differential diagnosis of other diseases, including neurological diseases. The importance of careful histological analysis even in organs that do not present macroscopic lesions is also concluded. The location of tumor cells within and around vessels in different regions of the CNS demonstrated that, in this case, there was metastasis to this organ.

Keywords: equine, immunohistochemistry, IHQ, lymphoma, central nervous system, CNS.

Descritores: equino, imunohistoquímica, IHQ, linfoma, sistema nervoso central, SNC.

DOI: 10.22456/1679-9216.133586

Received: 30 June 2023

Accepted: 20 November 2023

Published: 11 December 2023

¹Programa de Pós-Graduação, ²Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD) & ³Departamento de Patologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, Brazil. ⁴Universidade de Cruz Alta (Unicruz), Cruz Alta, RS, Brazil. ⁵Centro de Anatomia Patológica Veterinária (CapVet), Pelotas. CORRESPONDENTE: F.R. Venancio [fabianodarosavenancio@gmail.com] & A.L. Schild [alschild@terra.com.br]. Faculdade de Veterinária - UFPEL. Campus Universtário s/n. CEP 96010-900 Capão do Leão, RS, Brazil.

INTRODUÇÃO

Os linfomas são neoplasias de origem hematopoiética e acometem todas as espécies domésticas [13,14]. Em equinos a incidência de linfomas na população mundial está entre 1,3% e 2,8% de todas as neoplasias que acometem esta espécie [10]. No Brasil, em um estudo de 15 anos em São Paulo a incidência foi de 4% [2]. Em estudo retrospectivo realizado no Rio Grande do Sul, em 34 anos, as neoplasias corresponderam a 19,2% dos diagnósticos [8] e os linfomas foram a 6ª neoplasia mais frequente correspondendo a 2,14% desses diagnósticos na espécie [8]. Por outro lado, neoplasias no SNC dos equinos são raras, tanto os de origem primária como os metastáticos [1,7].

A patogênese da doença nesta espécie é, ainda, desconhecida, mas sabe-se que não tem relação com infecções virais como ocorre em bovinos e felinos [4,5,14].

Nos equinos os linfomas são classificados em 5 tipos: cutâneo, alimentar, abdominal, esplênico e multicêntrico, os quais por formarem nodulações são denominados de linfomas sólidos [13]. O linfoma em equinos pode ocorrer, também, na forma leucêmica (leucemia linfocítica aguda ou crônica) quando as células neoplásicas são observadas na medula óssea, vasos linfáticos e sanguíneos, sem formarem nodulações em órgãos ou tecidos [13]. Macroscopicamente caracterizam-se por massas brancacentas ou amareladas macias a elásticas e histologicamente pela proliferação de células redondas com padrões histológicos variados dependendo da origem celular.

Os objetivos deste trabalho foram relatar um caso de linfoma multicêntrico com metástase no SNC de um equino e determinar as características macroscópicas, histológicas e imuno-histoquímicas desta neoplasia nesta espécie animal.

CASO

Um equino, macho, da raça Crioula de 15 anos de idade com suspeita de adenite, apresentou emagrecimento progressivo e dificuldade respiratória por uma semana e posteriormente foi observada secreção nasal de odor fétido. Uma semana antes de ser eutanasiado e necropsiado, apresentava incoordenação motora, depressão e letargia. Havia inúmeros nódulos subcutâneos, especialmente na região do tórax. Estes nódulos variavam de 3-10 cm de diâmetro e sobressaíam na pele do animal; eram firmes e ao corte

tinham aspecto homogêneo e brancacento (Figura 1). Na abertura das cavidades corporais os linfonodos mesentéricos estavam aumentados e na adrenal esquerda havia nódulos amarelados de 0,2-0,7 cm de diâmetro. No pulmão havia nódulos semelhantes aos cutâneos e na cavidade torácica entre a 6ª e 7ª vertebra havia um nódulo arredondado, brancacento e firme de 12,0 cm no seu maior eixo, aderido à parede da aorta (Figura 2). Fragmentos de todos os órgãos e o SNC, além de fragmentos das massas cutâneas e da massa da cavidade torácica foram coletados e fixados em formalina 10% tamponada. Após 48 h os fragmentos foram clivados, processados rotineiramente, emblocados em parafina¹, cortados em secções de 3 µm de espessura e corados com hematoxilina e eosina² (HE)



Figure 1. Equino com linfoma multicêntrico apresentando emagrecimento e presença de nódulos subcutâneos de tamanhos variados na porção lateral do tórax, região axilar e na tábua do pescoço. Inset: ao corte os nódulos são branco-amarelados e homogêneos.



Figure 2. Cavidade torácica de equino com linfoma multicêntrico observando-se nódulo de 10 cm de comprimento aderido a aorta na altura da 6ª e 7ª vértebras torácicas.

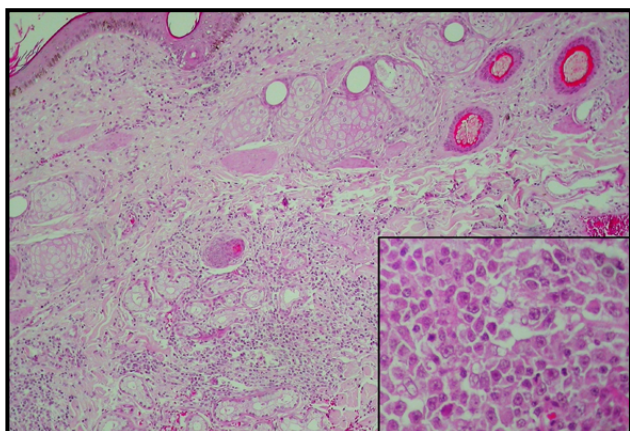


Figure 3. Células tumorais neoplásicas de nódulo subcutâneo invadindo a derme (HE; 10x). Inset: linfócitos neoplásicos pleomórficos, com citoplasma escasso, com núcleos vesiculosos e nucléolos evidentes, arranjados em manto [HE; 40x].

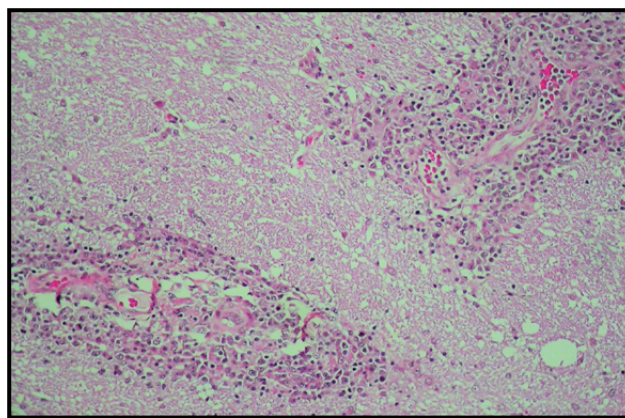


Figure 4. Região do tálamo em sistema nervoso central de equino com linfoma multicêntrico, mostrando as células neoplásicas no interior de vasos sanguíneos e formando manguitos perivasculars [HE; 40x].

e posteriormente visualizados em microscópio óptico. Para a realização da técnica de IHQ foram selecionados cortes dos blocos de parafina que foram cortados em secções de 3 µm de espessura em lâminas silanizadas. As lâminas foram desparafinizadas e a recuperação antigênica foi realizada com o sistema PT Link Dako³. A incubação dos anticorpos primários foi realizada em aparelho Autostainer Link³. Os anticorpos utilizados foram CD3 polyclonal rabbit³ e CD79a clone JCB117³. O sistema de detecção³ foi utilizado e como substrato revelador o DAB³. Para controle positivo foi utilizado corte de tonsila palatina. Após a revelação com DAB as lâminas foram desidratadas, clarificadas e coradas com hematoxilina de Harris⁴. A técnica de IHQ resultou positiva para o anticorpo policlonal CD3 e negativa para o anticorpo CD79a.

Histologicamente, nos nódulos observados no tecido subcutâneo e nos diversos órgãos havia proliferação de linfócitos pleomórficos com citoplasma escasso, núcleos grandes, vacuolizados e eventualmente hipercromáticos, nucléolos evidentes e 2-4 figuras de mitose por campo de maior aumento (Figura 3). As células neoplásicas arranjavam-se em cordões ou manto e eram sustentadas por um fino estroma fibrovascular. No SNC células semelhantes às observadas nos diversos órgãos estavam presentes nas meninges, medula cervical e diferentes regiões do tronco encefálico, principalmente no interior e ao redor de vasos sanguíneos formando manguitos (Figura 4). Pela técnica de IHQ observou-se que as células neoplásicas do tipo T estavam presentes também no interior de vasos sanguíneos tanto na pele e tecido subcutâneo como no SNC (Figura 5).

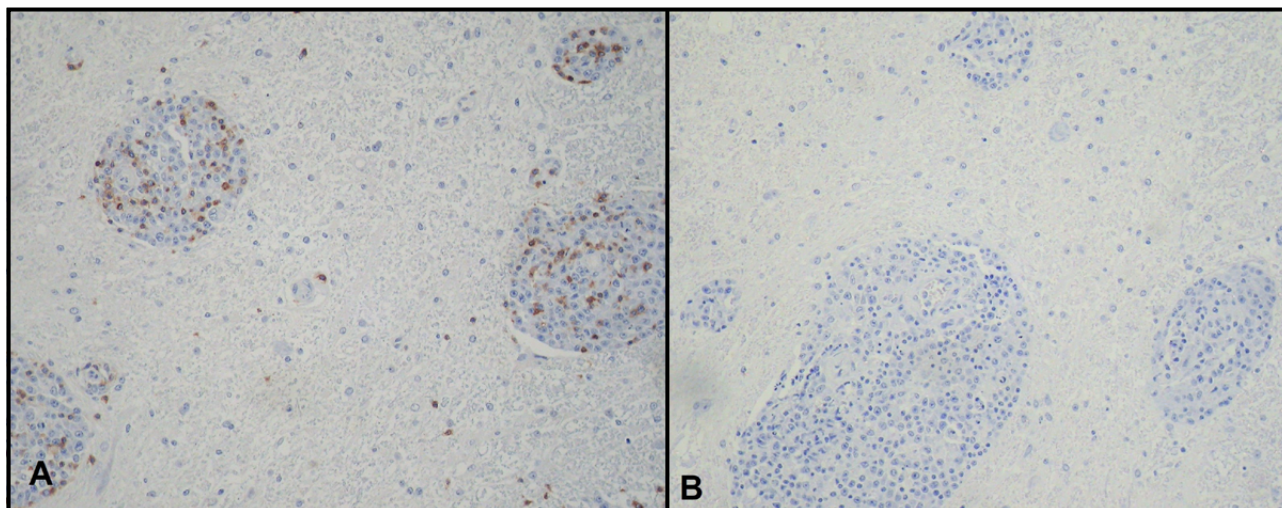


Figure 5. Imuno-histoquímica da medula cervical de equino com linfoma multicêntrico. A- Marcação positiva para linfócitos T utilizando o anticorpo policlonal rabbit CD3 [20x]. B- Não houve marcação para linfócitos B utilizando o anticorpo clone JCB117 CD79a [20x].

DISCUSSÃO

O diagnóstico de linfoma multicêntrico foi baseado nas lesões macroscópicas observadas na pele, linfonodos, pulmão, mediastino e adrenal, e lesões histológicas observadas nestes órgãos e no SNC. A IHQ permitiu identificar a origem histogênica da neoplasia caracterizada pela proliferação de linfócitos T. A classificação da organização mundial da saúde (OMS) denomina de linfoma maligno de células T periférico [3]. Este tipo de linfoma é o 2º mais frequentemente observado na espécie equina [13].

Em geral os sinais clínicos observados nas doenças linfoproliferativas são inespecíficos e estão relacionados aos sistemas ou órgãos afetados [1,9,11,12]. No presente caso os sinais respiratórios e o emagrecimento progressivo levaram a suspeita de adenite, o que indica que o linfoma multicêntrico pode ser confundido com diferentes enfermidades de acordo com os sinais clínicos apresentados pelo animal.

Na literatura são escassos os casos de neoplasias afetando o SNC desta espécie animal [6,9]. Em um estudo de 2026 diagnósticos realizados em equinos em um período de 34 anos, na região sul do Rio Grande do Sul, 23,05% corresponderam a neoplasias ou lesões tumoriformes, sendo que no SNC foi encontrado apenas um caso de colesteatoma. Os linfomas em outros órgãos representaram apenas 2,14% das neoplasias diagnosticadas [8]. Um caso de linfoma primário do SNC, sem lesões em outros órgãos, foi diagnosticado em 1 equino na mesma região em uma oportunidade [7]. A grande maioria dos casos de linfomas na espécie equina é do tipo multicêntrico afetando linfonodos e órgãos não linfoides [13].

O estudo histológico no presente relato demonstrou que as células tumorais no SNC estavam ao redor de vasos sanguíneos, formando manguitos no neurópilo e nas meninges e estavam presentes, também, no interior de vasos tanto no SNC como na pele. Isso indica a possibilidade de as lesões no SNC serem metástase tumoral e não propriamente um sítio

primário da neoplasia. Esta possibilidade é reforçada pelo fato de que os linfomas no SNC de equinos são raros e quando ocorrem geralmente há lesões multicêntricas [6].

Linfomas malignos com lesão exclusivamente no SNC foram relatados em 2 equinos, um da raça Crioula de 20 anos [7] e outro Thoroughbred de 12 anos [9] e nestes casos a lesão no SNC era o sítio primário e único da neoplasia. Neste último caso, no entanto, havia lesões granulomatosas no fígado e pulmão, porém as células T marcadas na IHQ eram células linfoides maduras consideradas inflamatórias e não tumorais [9]. No presente caso as células positivas para CD3 tinham a mesma morfologia em todos os sítios observados o que reforça o diagnóstico de linfoma multicêntrico com metástase no SNC.

Histologicamente as células neoplásicas tanto no SNC como nos demais órgãos eram semelhantes às células tumorais descritas em trabalho de classificação de linfomas equinos, como linfoma de células T periférico que é uma neoplasia relativamente rara em equinos sendo categorizada como um linfoma não Hodgkin [3].

Este trabalho permitiu concluir que linfomas multicêntricos devem ser considerados no diagnóstico diferencial de outras enfermidades, incluindo as doenças neurológicas. Conclui-se, também, a importância da análise histológica criteriosa mesmo em órgãos que não apresentam lesões macroscópicas. A localização das células tumorais dentro e ao redor de vasos em diferentes regiões do SNC demonstrou que, neste caso, houve metástase para este órgão.

MANUFACTURERS

¹Produtos Citológicos Soldan Ltda. Porto Alegre, RS, Brazil.

²Easyway Comercio e Servicos em Informática Ltda. São Bernardo do Campo, SP, Brazil.

³Agilent Technologies. Santa Clara, CA, USA.

⁴PROGAU - Produtos para Laboratórios Ltda. Recife, PE, Brazil.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper.

REFERENCES

- 1 **Adolf J.E., Perkins G.A., Ainsworth D.M. & Lahunta A. 2001.** Lymphoma of the central nervous system in horses. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 23(2): 194-202.
- 2 **Baccarin R.Y.A., Ida K.K., Oliveira S.L.P., Matushima E.R., Belli C.B. & Fernandes W.R. 2011.** Ocorrência de neoplasia em 15 anos de atendimento hospitalar de equídeos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 48(6): 439-445.

- 3 **Durham A.C., Pillitteri C.A., San Myint M. & Valli V.E. 2012.** Two Hundred Three Cases of Equine Lymphoma Classified According to the World Health Organization (WHO) Classification Criteria. *Veterinary Pathology*. 50(1): 86-93. DOI: 10.1177/0300985812451603.
- 4 **Figuera A.F & Graça L.D. 2016.** Sistema Hematopoético. In: Santos R.L & Alessi A.C. (Eds). *Patologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Editora Roca, pp.533-650.
- 5 **Kelley L.C. & Mahaffey E. 1998.** A. Equine malignant lymphomas: morphologic and immunohistochemical classification. *Veterinary Pathology*. 35(4): 241-252.
- 6 **Lehmbecker A., Liebing J., Barthel Y., Habierski A., Cavalleri J., Puff C., Rademacher B., Lumpe S. & Beineke A. 2014.** Neurolymphomatosis in Three Horses with Multicentric T-cell-rich B-cell Lymphoma. *Journal of Comparative Pathology*. 151: 181-185. DOI: 10.1016/j.jcpa.2014.04.004.
- 7 **Marcolongo-Pereira C., Curcio R.B., Pacheco O.D., Barreto C.AC., Lemos S.B. & Schild A.L. 2015.** Primary telencephalic lymphoma in a horse. *Semina: Ciências Agrárias*. 36(6): 3801-3805. DOI: 10.5433/1679-0359.2015v36n6p3801.
- 8 **Marcolongo-Pereira C., Estima-Silva P., Soares M.P., Sallis E.S.V., Grecco F.B., Raffi M.B., Fernandes C.G. & Schild A.L. 2014.** Doenças de equinos na região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34(3): 205-210.
- 9 **Morrison L.R., Freel K., Henderson I., Hahn C. & Smith S.H. 2008.** Lymphoproliferative Disease with Features of Lymphoma in the Central Nervous System of a Horse. *Journal of Comparative Pathology*: 139: 256-261. DOI: 10.1016/j.jcpa.2014.04.004.
- 10 **Santos F.C.C., Ugolini L.W., Oliveira H.R., Machado T.P. & Alves L.P. 2017.** Linfoma cutâneo em equino Quarto de Milha. *Acta Scientiae Veterinariae*. 45(1): 206.
- 11 **Silva T.G., Deconto I., Dornbusch P., Barros Filho I.R. & Souza R.S. 2012.** Linfoma multicêntrico em cavalo: relato de caso. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 19(2): 66-70. DOI: 10.4322/rbcv.2014.089.
- 12 **Torrent A., Kilcoyne I., Johnson A., Affolter V.K., Berryhill E. & Aleman M. 2019.** An atypical presentation of multi-systemic B-cell lymphoma in a horse. *Canadian Veterinary Journal*. 60: 300-304.
- 13 **Valli V.E., Bienzle D. & Meuten D.J. 2017.** Tumors of the Hemolymphatic System. In: *Tumors in Domestic Animals*. 5th edn. Ames: Iowa State University Press, pp.213-321.
- 14 **Valli V.E.O., Kiupel M. & Bienzle D. 2016.** Hematopoietic System. In: *Jubb Kennedy and Palmer's. Pathology of Domestic Animals*. 6th edn. St. Louis: Elsevier, pp.103-267.