

## Linfoma de células T multicêntrico e ocular em equino\*

Mariana C. Oliveira<sup>1</sup>, Rayssa D. Faleiro<sup>2</sup>, Cinthia C.A. Santos<sup>3</sup>, Gabriela F. Oliveira<sup>4</sup>, Yasmin Daoualibi<sup>1</sup>, Luciana Sonne<sup>5</sup>, Marilene F. Brito<sup>1</sup> e Daniel G. Ubiali<sup>1\*</sup>

**ABSTRACT.** Oliveira M.C., Faleiro R.D., Santos C.C.A., Oliveira G.F., Daoualibi Y., Sonne L., Brito M.F. & Ubiali D.G. [**Ocular and multicentric T-cell lymphoma in horse.**] Linfoma de células T multicêntrico e ocular em equino. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):147-151, 2016. Setor de Anatomia Patológica, Departamento Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: danielubiali@hotmail.com

A 10-year-old gelding, mixed breed had body score condition 3 (1-10), with reluctance to move due to the loss of visual acuity in both eyes, right eye swelling and marked dyspnea. The ophthalmic examination showed no response to threat of reflection, objects test or direct reflection and consensus of both eyes. Examination with visor magnifier and Finoff transilluminator revealed buftalmia, hyphema, aqueous flare, corneal neovascularization and posterior synechiae with irregular bulging of the iris in the right eye and aqueous flare, central anterior synechiae and mature cataract in the left eye. It was found corneal integrity in both eyes with the fluorescein test. Urine sample submitted for PCR to *Leptospira* sp. resulted negative. Euthanasia was performed after unsuccessful treatment attempts. At necropsy there was a mass in the right eyeball, the pleural surface of the diaphragm and the mesentery. There was multifocal to coalescing whitish nodules between 1 and 4 cm in diameter in the lung, filling about 80% of the lungs' surface, mainly in the ventral region. Morphology of masses was histopathologically compatible with lymphoma. Anti-CD3 antibody resulted positive in all samples analyzed characterizing immunophenotypic T-cell lymphoma.

**KEY WORDS.** Neoplasia, round cells, eyeball, pathology, horse.

**RESUMO.** Descreve-se linfoma em um equino com emagrecimento, relutância em se movimentar devido à perda da acuidade visual em ambos os olhos, aumento de volume do olho direito e marcada dispneia. No exame oftalmológico revelou-se ausência de resposta no reflexo de ameaça, teste de objetos e no reflexo direto e consensual de ambos

os olhos. O exame com lupa de pala e transiluminador de Finoff revelou buftalmia, hífema, flare aquoso, neovascularização da córnea e sinéquias posteriores com abaulamento irregular da íris no olho direito e flare aquoso, sinéquias anterior central e catarata madura no olho esquerdo. Verificou-se a integridade da córnea em ambos os olhos no

---

\*Recebido em 26 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 25 de outubro de 2016.

<sup>1</sup> Setor de Anatomia Patológica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Rodovia BR-465 Km 7, Seropédica RJ 23890-000. E-mail: marimedvet2009@gmail.com; yasmin.daoualibi@hotmail.com; marilene@ufrj.br; \* Autor para correspondência, E-mail: danielubiali@hotmail.com

<sup>2</sup> Médica-veterinária, Residente do Setor de Oftalmologia Veterinária, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Rodovia BR-465 Km 7, Seropédica RJ 23890-000. E-mail: rayssadiaz16@hotmail.com

<sup>3</sup> Médica-veterinária, Residente do Hospital Veterinário de Grandes Animais, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Rodovia BR-465 Km 7, Seropédica RJ 23890-000. E-mail: cinthiacarvalho\_1@hotmail.com

<sup>4</sup> Médica-veterinária, Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ, Rodovia BR-465 Km 7, Seropédica RJ 23890-000. E-mail: gabi.ufrj@gmail.com

<sup>5</sup> Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Prédio 42505, Porto Alegre RS, 91540-000. E-mail: lusonne@yahoo.com.br

teste de fluoresceína. Amostra de urina submetida à PCR para *Leptospira* sp. resultou negativa. A eutanásia foi realizada após tentativas mal sucedidas de tratamento. À necropsia havia uma massa no globo ocular direito, na superfície pleural do diafragma e no mesentério. Nódulos multifocais a coalescentes, esbranquiçados, entre 1 e 4cm de diâmetro, ocupavam cerca de 80% dos pulmões, principalmente nas regiões ventrais. A morfologia das massas foi compatível com linfoma. O imunofenótipo T foi detectado através da positividade do anticorpo anti-CD3.

**PALAVRAS-CHAVE.** Neoplasia, células redondas, globo ocular, patologia, equino.

## INTRODUÇÃO

O linfoma é a neoplasia hematopoética maligna mais comum em equinos (Munoz et al. 2009) e corresponde a 1-3% dos tumores nesta espécie (Savage 1998). O linfoma equino pode ser classificado de acordo com as síndromes clínicas, em multicêntrico ou generalizado, alimentar, mediastinal, cutâneo e tumor solitário em sítio extranodal (Taintor & Schleis 2011). As manifestações oculares associadas a linfoma multicêntrico incluem tumefação intermitente de pálpebras, descarga ocular crônica, edema de terceira pálpebra, exoftalmia, massa corneoescleral e uveíte crônica não responsiva a tratamentos (Murphy et al. 1989, Rebhun & Del Piero 1998, Stoppini et al. 2005, Germann et al. 2008). Sinais oculares podem representar o primeiro sinal clínico do linfoma multicêntrico em equinos (Rebhun & Del Piero 1998).

As neoplasias orbitais em equinos podem ser de origem primária (globo ocular, nervo óptico, pálpebras e anexos), por extensão a partir de estruturas adjacentes ou por metástase hematogênica (Wilcock & Njaa 2016). As estruturas intra-oculares não apresentam vasos linfáticos, portanto tumores metastáticos alcançam a úvea unicamente por via arterial hematogênica (Bradley et al. 2000). Síndromes paraneoplásicas relacionadas ao linfoma em equinos incluem eritrocitose atribuída à produção de eritropoetina, hipercalcemia e mineralização de tecidos moles (Mair et al. 1990, Koch et al. 2006).

O objetivo deste relato é descrever aspectos clínicos e patológicos de um equino com cegueira bilateral devido ao linfoma ocular.

## HISTÓRICO

Um equino macho de aproximadamente 10 anos, sem raça definida, com escore corporal 3 (1-10), foi doado por um carroceiro para a Área de Campo Experi-

mental da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Ao exame clínico, durante a ausculta pulmonar, evidenciou-se uma linha de silêncio indicativa de efusão pleural. Realizou-se punção torácica e drenagem de 54 litros de conteúdo serossanguinolento da cavidade torácica em dois procedimentos, com intervalo de três dias.

O hemograma demonstrou neutrofilia absoluta, linfopenia relativa e anisocitose de linfócitos. Amostra de soro foi coletada e posteriormente submetida à prova sorológica (Imunodifusão em Gel de Ágar) para o diagnóstico de Anemia Infecciosa Equina, que resultou negativo. Instituiu-se terapia durante 10 dias, com associação de penicilinas, gentamicina e metronidazol, além de anti-inflamatório não esteroide (flunixin meglumine). O equino apresentou melhora clínica e foi solto no pasto. Após dois meses, o equino apresentou cegueira bilateral, exoftalmia direita, tumefação da pálpebra superior direita (Fig.1A) e acentuada dispneia.

O exame físico oftálmico revelou ausência de resposta no reflexo de ameaça, teste de objetos e no reflexo direto e consensual de ambos os olhos. O equino apresentava ambulância em trajeto com obstáculos. Com o auxílio da lupa de pala e do transiluminador de Finoff foi possível observar buftalmia, hifema, flare aquoso, neovascularização corneana e sinéquia posterior com abaulamento irregular da íris no olho direito. No olho esquerdo havia flare aquoso, sinéquia anterior central e catarata madura. O teste da fluoresceína apresentou resultado negativo para ambos os olhos, revelando integridade corneana. Não foi possível realizar fundoscopia em ambos os olhos, visto que estes apresentavam turbidéz devido a uveíte, que impossibilitou a visualização da retina. Investigou-se a presença de DNA de *Leptospira* sp. em amostra de urina pela PCR, a qual resultou negativo.

Foi instituído tratamento local das lesões oculares com colírios à base de tobramicina e gentamicina, seis vezes ao dia, e uso de colírio anti-inflamatório à base de diclofenaco, quatro vezes ao dia, além de colírio de atropina três vezes ao dia.

Após terapias, sem melhora clínica do equino, optou-se pela eutanásia. A necropsia foi realizada no Setor de Anatomia Patológica da UFRRJ. Ao exame externo observou-se edema ventral. À abertura da cavidade torácica havia moderada quantidade de líquido avermelhado e aderência da pleura pulmonar ao diafragma, além de moderado edema da pleura e moderada quantidade de filamentos de fibrina aderidos aos órgãos. Havia nódulos multifocais a coalescentes no pulmão, com 1 a 4cm de diâmetro, esbranquiçados, ocupando cerca de 80% do parênquima pulmonar (Fig.2). Massas semelhantes foram visualizadas na superfície pleural do diafragma. Observou-se um nódulo esbranquiçado, com 4x3x2cm no mesentério, adjacente à serosa do ceco.

O globo ocular direito, à superfície de corte, apresentava massa de consistência firme, com superfície de corte compacta, esbranquiçada, com pontos negros, ocupando a totalidade da câmara anterior e a porção rostral da câmara posterior, a qual provocou uma luxação do

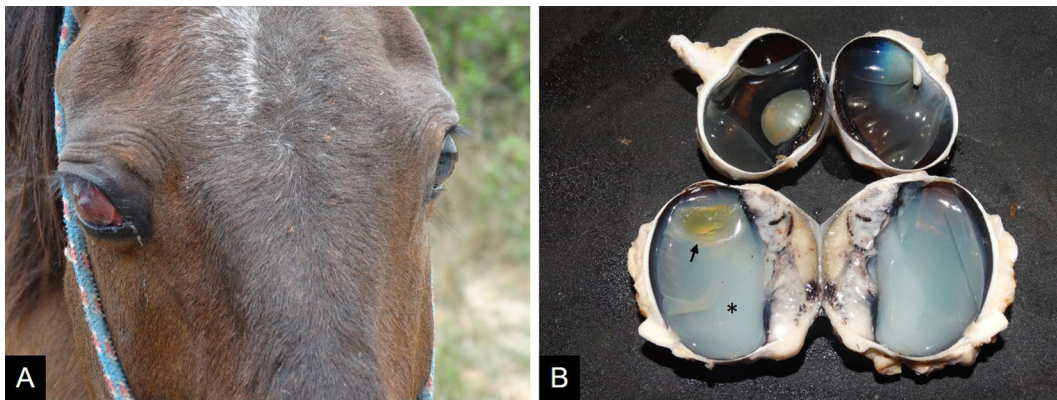


Figura 1. **A.** Equino com tumor orbital apresentando marcada exoftalmia direita e tumefação de pálpebra superior direita. **B.** Corte sagital do globo ocular direito com massa ocupando toda a câmara anterior e a porção rostral da câmara posterior. Há luxação do cristalino (seta) que se apresenta amarelo e o humor vítreo opaco (asterisco). Globo ocular esquerdo sem alteração macroscópica.

cristalino que estava com coloração amarelada e o humor vítreo apresentava-se opaco (Fig.1B). Fragmentos de órgãos foram coletados, fixados em formalina a 10% tamponada e processados para exame histológico.

As massas do globo ocular direito, pulmão, diafragma e mesentério, coradas pela HE, eram compostas por alta densidade de linfócitos com citoplasma variando de amplo e eosinofílico a escasso; os núcleos eram clivados ou pleomórficos, de distribuição paracentral, hiper cromáticos ou vesiculares, com um ou mais nucléolos evidentes (Fig.3A). Havia moderada anisocitose, anisocariose, células binucleadas, corpúsculos linfogranulares, acentuada atividade mitótica, áreas multifocais de necrose e êmbolos tumorais (Fig.3B). No globo ocular direito verificou-se infiltração neoplásica na câmara anterior e no terço rostral da câmara posterior (Fig.3C).

Exames imuno-histoquímicos (polímero MACH 4) foram realizados para a caracterização imunofenotípica das massas do globo ocular direito, pulmão e diafragma utilizando anticorpos anti-CD3 (Dako) na diluição de 1:500 e anti-CD79 $\alpha$  (Dako) na diluição de 1:100, recuperações antigênicas com Protease IVX por 15 minutos respectivamente e com revelação pelo cromógeno DAB (Dako). Os aspectos morfológicos e imuno-histoquímicos foram compatíveis com linfoma de células T (Fig.3D).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Neoplasias oculares em equinos são incomuns, porém em todas as espécies, o linfoma é um importante tumor metastático intra-ocular (Wilcock & Njaa 2016). Durham et al. 2012 observaram linfoma ocular em apenas 4% (8/203) dos equinos com linfoma estudados. Martins & Barros (2014) encontraram 23 lesões oculares e perioculares em equinos durante 50 anos em um laboratório de patologia veterinária no Estado do Rio Grande do Sul. Dentre os tumores de maior incidência, o carcinoma de células escamosas e sarcoide equino foram os que



Figura 2. Pleura pulmonar com nódulos multifocais a coalescentes, entre 1 e 4cm de diâmetro, esbranquiçados e área amarela de edema. A área dorsal (asterisco) está livre dos nódulos.

se destacaram, porém, o linfoma não foi observado. Outros tumores oculares podem causar cegueira em equinos, tais como tumores neuroendócrinos, paraganglioma extra-adrenal, sarcomas anaplásicos (Bauer 2015) e melanoma (Murphy & Young 1979).

Linfoma multicêntrico em cães, gatos e bovinos envolvem regularmente o olho e pode resultar em cegueira (Wilcock & Njaa 2016), embora, em bovinos, o tecido retrobulbar seja mais frequentemente afetado do que o próprio olho (Panziera et al. 2014).

Linfoma de células T foi relatado em um equino de 19 anos com anorexia, dispneia, aumento de linfonodos, nódulos no baço, coração e traqueia (Campos et al. 2014). Seis equinos, de um levantamento de 31 casos, também apresentaram linfoma de células T (Kelley & Mahaffey 1998). Outro estudo identificou essa neoplasia com distribuição

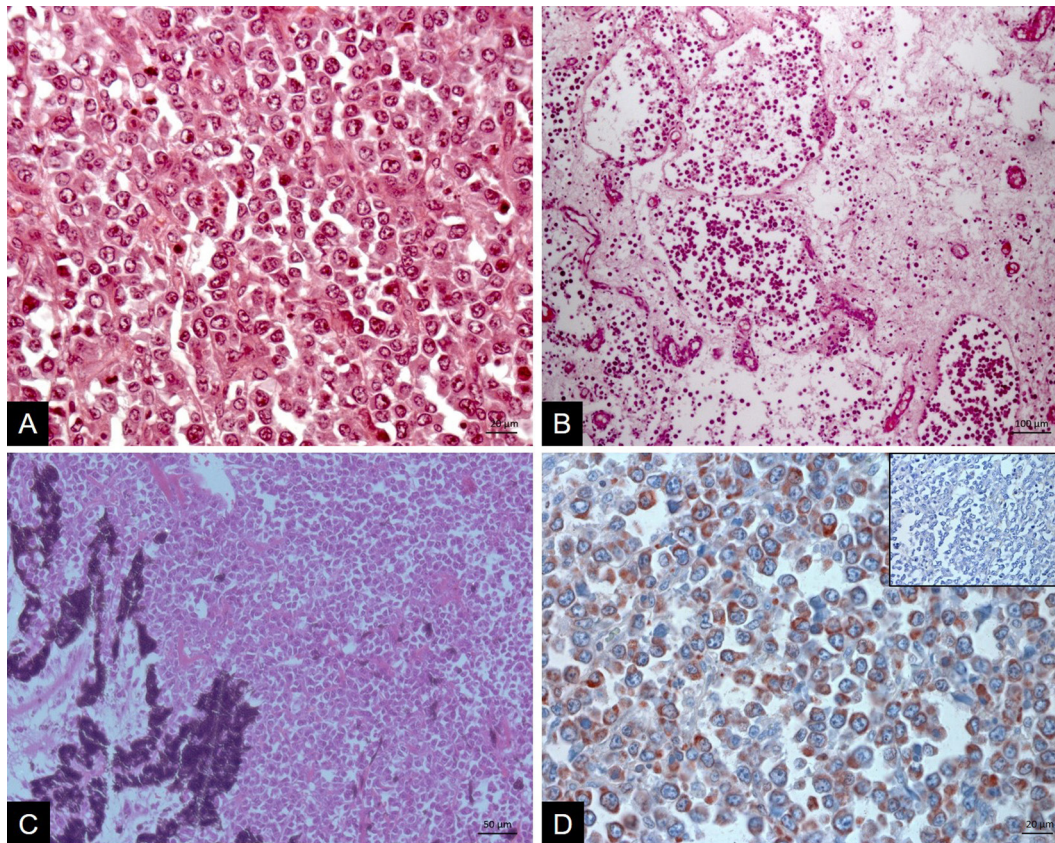


Figura 3. **A.** Massa do pulmão com proliferação de células com citoplasma variando de amplo e eosinofílico a escasso, com núcleos clivados ou pleomórficos, de distribuição paracentral, vesiculares com nucléolos evidentes. Há grande quantidade de mitoses e moderada quantidade de corpúsculos linfogranulares. HE, obj.40x; **B.** Pulmão com êmbolos linfáticos compostos por linfócitos neoplásicos. HE, obj.40x; **C.** Massa do globo ocular direito com infiltração de linfócitos neoplásicos no processo ciliar. HE, obj.10x; **D.** Linfócitos T neoplásicos positivos ao anti-CD3, obj.40x. Detalhe: Linfócitos T neoplásicos negativos ao anti-CD79 $\alpha$ , obj.40x.

multicêntrica em 41% (83/203) equinos com linfoma (Durham et al. 2012). Esses achados foram semelhantes, em parte, ao presente caso, o qual apresentou lesões multicêntricas em globo ocular, pulmões, diafragma e mesentério.

Baptiste & Grahn (2000) observaram em 10 equinos com neoplasias orbitais, sinais incluindo exoftalmia, prolapso de terceira pálpebra, tumefação das pálpebras, uveíte e aumento dos linfonodos mandibulares. Edema de pálpebra é considerado um dos sinais clínicos comuns do linfoma ocular em equinos (Murphy et al. 1989, Rendle et al. 2012). No equino do presente caso, uveíte bilateral e tumefação palpebral também foram encontrados.

No equino do presente caso, a cegueira bilateral foi justificada, no olho direito, pela massa neoplásica, e no olho esquerdo, por uveíte, flare aquoso, sinéquia anterior central e catarata madura. Em um estudo retrospectivo de 21 equinos com linfoma ocular, apenas quatro tinham uveíte. Destes, três tinham uveíte bilateral e um uveíte unilateral, o que resultou em cegueira (Rebhun & Del Piero 1988). Germann et al. (2008) relataram um caso de

linfoma associada à uveíte aguda não responsiva a antibióticos e anti-inflamatórios. O quadro clínico cursava com perda de peso, anorexia e moderada ascite. Na presença de uveítes não responsivas às terapias, deve ser dada atenção aos sinais clínicos sistêmicos de letargia, febre, perda de peso e aparecimento de edemas (Germann et al. 2008), conforme relatado neste caso. Causas de cegueira, como a Uveíte Recorrente Equina, são frequentemente citadas com alta prevalência e estão correlacionadas com infecção por *Leptospira* sp. (Bauer 2015). No entanto, neste equino, a investigação para *Leptospira* sp. resultou negativa. Outros diagnósticos diferenciais para uveíte aguda em equinos incluem diversos parasitas, bactérias, vírus ou úlcera de córnea e trauma (Bauer 2015).

Neste estudo, a extensa massa neoplásica infiltrou a câmara anterior, limbo, corpo ciliar e parte da câmara posterior do globo ocular direito. Germann et al. (2008) descreveram uma pequena massa formada por linfócitos neoplásicos infiltrados na coróide, corpo ciliar e limbo. Trope et al. (2014) diagnosticaram linfoma ocular ocupando o globo

ocular direito a partir do corpo ciliar e íris, e se estendendo à coroide.

Estudos analisam a hipótese de a transformação maligna de um retrovírus estar envolvida na patogênese de linfoma em equinos (Meyer et al. 2006), como é conhecido em bovinos (Durkin et al. 2016) e em gatos (Kaye et al. 2016). A partir de um relato de linfoma em um feto equino abortado (Haley & Spraker 1983) e em dois cavalos com idade inferior a um ano (Meyer et al. 2006), sugere-se que as alterações genéticas congênitas possam contribuir para o desenvolvimento de linfoma em equinos.

Devido à variedade de sinais clínicos não específicos, o diagnóstico de linfoma pode ser difícil e a confirmação *ante mortem* ocorre em menos de 60% dos casos (Schneider 2003, Taintor & Schleis 2011). No entanto, o exame citológico do humor aquoso pode ser uma útil ferramenta clínica (Trope et al. 2014).

Neoplasias intra-oculares associadas com uveíte devem ser incluídas como diagnóstico diferencial em equinos que não respondem ao tratamento tradicional, especialmente quando surgem sinais sistêmicos.

## REFERÊNCIAS

- Bauer B.S. Ocular pathology. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 31:425-44, 2015.
- Baptiste K.E. & Grahn B.H. Equine orbital neoplasia: a review of 10 cases (1983-1998). *Canadian Veterinary Journal*, 41:291-295, 2000.
- Bradley A.E., Pirie R.S. & MacIntyre N. Thyroid carcinoma with multiple metastases in a horse. *Equine Veterinary Education*, 12:170-174, 2000.
- Campos C.G., Lopes L.L., Silva G.S., Cruz R.A.S., Falsoni P.C.G., Rondelli A.L.H., Luis M.A., Veronezi R.C. & Pescador C.A. Linfoma de células T multicêntrico em um equino quarto de milha. *Acta Scientiae Veterinariae*, 42, 2014.
- Durham A.C., Pillitteri C.A., Myint M.S. & Valli V.E. Two hundred three cases of equine lymphoma classified according to the World Health Organization (WHO) classification criteria. *Veterinary Pathology*, 50:86-93, 2012.
- Durkin K., Rosewick N., Artesi M., Hahaut V., Griebel P., Arsic N., Burny A., Georges M. & Broeke A.V. Characterization of novel Bovine Leukemia Virus (BLV) antisense transcripts by deep sequencing reveals constitutive expression in tumors and transcriptional interaction with viral microRNAs. *Retrovirology*, 13, 2016.
- Germann S.E., Richter M., Schwarzwald C.C., Wimmershoff J. & Spiess B.M. Ocular and multicentric lymphoma in a young race-horse. *Veterinary Ophthalmology*, 11:51-56, 2008.
- Haley P.J. & Spraker T. Lymphosarcoma in an aborted equine fetus. *Veterinary Pathology*, 20:647-649, 1983.
- Kaye S., Wang W., Miller C., McLuckie A., Beatty J.A., Grant C.K., VandeWoude L. & Bielefeldt-Ohmann H. Role of Feline Immunodeficiency Virus in Lymphomagenesis--Going Alone or Colluding? *ILAR Journal*, 57:24-33, 2016.
- Kelley L.C. & Mahaffey E.A. Equine malignant lymphomas: Morphologic and immunohistochemical classification. *Veterinary Pathology*, 35:241-252, 1998.
- Martins T.B. & Barros C.S.L. Fifty years in the blink of an eye: a retrospective study of ocular and periocular lesions in domestic animals. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34:1215-1222, 2014.
- Koch T.G., Wen X. & Bienzle D. Lymphoma, erythrocytosis, and tumor erythropoietin gene expression in a horse. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20:1251-1255, 2006.
- Mair T.S., Yeo S.P. & Lucke V.M. Hypercalcemia and soft tissue mineralization associated with lymphosarcoma in two horses. *Veterinary Record*, 126:99-101, 1990.
- Meyer J., DeLay J. & Bienzle D. Clinical, laboratory, and histopathologic features of equine lymphoma. *Veterinary Pathology*, 43:914-924, 2006.
- Munoz A., Riber C., Trigo P. & Castejon F. Hematopoietic neoplasias in horses: myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. *Journal of Equine Science*, 20:59-72, 2009.
- Murphy C.J., Lavoie J.P., Groff J., Hacker D., Pryor P. & Bellhorn R.W. Bilateral eyelid swelling attributable to lymphosarcoma in a horse. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 194:939-942, 1989.
- Murphy J. & Young S. Intraocular melanoma in a horse. *Veterinary Pathology*, 16:539-42, 1979.
- Panziera W., Bianchi R.M., Galiza G.J.N., Pereira P.R., Mazaro R.D., Barros C.S.L., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Figuera R.A. Aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos do linfoma em bovinos: 128 casos (1965-2013). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34:856-864, 2014.
- Rebhun W.C. & Del Piero F. Ocular lesions in horses with lymphosarcoma: 21 cases. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 212:852-854, 1998.
- Rendle D.I., Hughes K.J., Farish C. & Kessel A. Multicentric T-cell lymphoma presenting as inferior palpebral swelling in a Standardbred mare. *Australian Veterinary Journal*, 90:485-489, 2012.
- Savage C.J. Lymphoproliferative and myeloproliferative disorders. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 14:563-578, 1998.
- Schneider D. Lymphoproliferative and myeloproliferative disorders, p.359-362. In: Robinson N. (Ed.) *Current Therapy in Equine Medicine*. 5th ed. Saunders, St. Louis. 2003.
- Stoppini R., Gilger B.C., Malarkey D.E., Ratto A. & Brigati G. Bilateral nodular lymphocytic conjunctivitis in a horse. *Veterinary Ophthalmology*, 8:129-134, 2005.
- Taintor J. & Schleis S. Equine lymphoma. *Equine Veterinary Education*, 23:205-208, 2011.
- Trope G.D., McCowan C.I., Tyrrell D., Lording P.M. & Maggs D.J. Solitary (primary) uveal T-cell lymphoma in a horse. *Veterinary Ophthalmology*, 17:139-145, 2014.
- Wilcock B.P. & Njaa B.L. Special Senses, p.407-508. In: Maxie M.G. (Ed.) *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6th ed. Vol. 1. Elsevier, Missouri. 2016.