

1 **OBSTRUÇÃO DA VEIA SAFENA EM EQUINO POR TROMBO VENOSO**
2 **ASSOCIADO A LINFOMA MULTICÊNTRICO - RELATO DE CASO**
3 **SAPHENOUS VEIN OBSTRUCTION IN HORSES DUE TO VENOUS THROMBUS**
4 **ASSOCIATED WITH MULTICENTRIC LYMPHOMA – CASE REPORT**

5
6
7 **RESUMO**

8 Os tumores hemolinfáticos são incomuns em cavalos, porém, o linfoma é o mais frequente
9 deles. Os sinais clínicos variam dependendo da localização do tumor, sendo os mais comuns
10 depressão, perda progressiva de peso e linfadenopatia e anemia. O objetivo do presente estudo
11 é relatar o caso de uma obstrução da veia safena por linfoma multicêntrico em uma égua de 13
12 anos, sem raça definida, apresentando ferida com tecido de granulação exuberante na região da
13 articulação metatársica falangeana do membro posterior esquerdo, anemia e perda de peso.
14 Devido ao estado debilitado e ao decúbito persistente, a égua foi eutanasiada. O exame pós-
15 morte revelou um trombo mediu 15 cm de comprimento por 11 cm de diâmetro com aparência
16 nodular e esbranquiçada. Em humanos, existe uma correlação entre doença linfoproliferativa e
17 doença autoimune, pois o estímulo antigênico e a resposta inflamatória gerada pela doença
18 autoimune pode ser capaz de transformar uma população de linfócitos policlonais em uma
19 população monoclonal, compatível com uma linfoproliferação. No caso da égua, não houve
20 doença autoimune, mas a inflamação crônica causada pela lesão da pitiose pode ter sido a causa
21 do desenvolvimento do linfoma, já que este era único e no mesmo membro do tecido de
22 granulação exuberante.

23 Palavras-chave: trombo venoso, linfoma, cavalo, anemia, emagrecimento

24 **ABSTRACT**

25 Hemolympathic tumors are uncommon in horses, however, lymphoma is the most frequent of
26 them. Clinical signs vary depending on the location of the tumor, with the most common being
27 depression, progressive weight loss and lymphadenopathy, and anemia. The aim of this study
28 is to report the case of an obstruction of saphenous vein by multicentric lymphoma in a mare
29 13 years old, presenting wound with exuberant granulation tissue in the metatarsal phalangeal
30 joint region of the left hind limb, anemia and loss of weight. Due to weakened state and
31 persistent decubitus, the mare was euthanized. Postmortem examination revealed a thrombus
32 measuring 15 cm in length by 11 cm in diameter with nodular and whitish appearance. In
33 humans, there is a correlation between lymphoproliferative disease and autoimmune disease,
34 since the antigenic stimulus and the inflammatory response generated by the autoimmune

35 disease may be able to transform a population of polyclonal lymphocytes into a monoclonal
36 population, compatible with a lymphoproliferation. In the case of mare, there was no
37 autoimmune disease, but the chronic inflammation caused by pythiosis injury may have been
38 the cause of lymphoma development, since lymphoma was unique and in the same limb of
39 exuberant granulation tissue.

40 Key words: venous thrombus, lymphoma, horse, anemia, weight loss

41

42 **INTRODUÇÃO**

43 O linfoma é uma neoplasia sistêmica de multiplicação rápida, que se origina a partir da
44 multiplicação clonal descontrolada de células linforreticulares, que normalmente se inicia em
45 tecidos linfoides como linfonodos, baço, fígado e medula óssea, podendo se desenvolver em
46 praticamente qualquer órgão, pela contínua migração dos linfócitos pelos diferentes tecidos do
47 organismo (Meyer et al., 2006). Das neoplasias que acometem os equinos, o linfoma é a de
48 maior incidência, variando entre 1,3 a 4% entre todas. É encontrado em animais de todas as
49 idades e não tem predisposição por sexo ou raça (Munhoz et al., 2009).

50 Devido à variedade de sinais clínicos não específicos, o diagnóstico de linfoma pode ser difícil
51 e a confirmação *ante mortem* ocorre em menos de 60% dos casos (Rhind e Dixon, 1999;
52 Montgomery et al., 2009; Silva et al., 2012).

53 O objetivo desse estudo é relatar o caso de obstrução da veia safena causada por linfoma
54 multicêntrico em uma égua que apresentou uma ferida com exuberante tecido de granulação
55 concomitante e infecção sistêmica, o que dificultou o diagnóstico.

56

57 **RELATO DE CASO**

58 Foi atendida no Complexo Veterinário da Universidade Cruzeiro do Sul (São Paulo-S.P.),
59 uma égua, sem raça definida, 13 anos, 320 kg (escore corporal 3/9), que apresentava uma ferida
60 com extenso tecido de granulação (Figura 1) e presença de miíase na região da articulação
61 metatársica-falangeana do membro pélvico esquerdo. O proprietário referiu o início da
62 formação da ferida há seis meses e negou vacinação e vermifugação. Queixou-se também de
63 emagrecimento progressivo, apesar de ser alimentada duas vezes ao dia com uma mistura de
64 farelo de trigo e quirera de milho.

65 No exame físico foram observados aumento de volume do membro desde a região proximal
66 à ferida até acima da articulação tíbio-társica, membranas mucosas pálidas, frequências
67 cardíaca e respiratória normais, temperatura retal de 37,7 ° C. A égua foi internada para a
68 realização da biópsia e tratamento da ferida. No primeiro hemograma, realizado no mesmo dia

69 da internação, apresentou anemia ($3,98 \times 10^9/\text{mm}^3$ e hemoglobina 5,8 g/dL), hematócrito 18%
70 e leucócitos dentro dos limites de normalidade para a espécie. Devido ao estado geral, excluiu-
71 se a possibilidade de excisão cirúrgica do tecido de granulação e foi instituído um tratamento
72 tópico com sulfato de cobre.

73 Após quinze dias, a égua apresentou sinais de dor (frequência cardíaca de 110 bpm),
74 permanecendo em decúbito lateral por uma noite. Foi necessária a utilização da talha para
75 colocá-la em estação e, neste momento, foi possível observar um pronunciado aumento de
76 volume em todo o membro pélvico esquerdo, chegando até a região inguinal (Figura 2), com
77 ingurgitação da veia safena (Figura 3). O animal foi medicado com fenilbutazona (4,1 mg/kg,
78 IV) e recebeu aplicação de ducha fria por 20 minutos. Foi realizado exame ultrassonográfico
79 com Doppler da região. Após a medicação caminhou voluntariamente e deitou novamente após
80 5 horas, permanecendo em decúbito lateral por três dias.

81 Na ultrassonografia com Doppler foi constatada a presença de trombo na veia safena com
82 obstrução quase total do fluxo sanguíneo, conforme ilustrado na Figura 4.

83 Devido ao quadro sistêmico de anemia, caquexia e dor, em decisão conjunta com o
84 proprietário optou-se pela eutanásia.

85 O exame *postmortem* revelou edema subcutâneo desde a região inguinal do membro
86 posterior esquerdo até o gradil costal, múltiplos abscessos, alguns calcificados, em órgãos como
87 fígado, pulmões e intestinos. Foram colhidas amostras desses órgãos para análise
88 histopatológica e bacteriológica, pois, num primeiro momento houve suspeita de tuberculose,
89 infecção por *Rhodococcus equi* ou *Streptococcus equi*. Observou-se também linfadenopatia
90 dos linfonodos parotídeos, mesentéricos e mediastinais.

91 A veia safena foi dissecada e o trombo estava localizado na região inguinal. Suas medidas
92 foram 15 cm de comprimento por 11 cm de diâmetro (Figura 5), com aspecto nodular e
93 esbranquiçado.

94 Os achados histopatológicos revelaram pneumonia, hepatite, enterite granulomatosa fúngica
95 associada à amiloidose, necrose caseosa, fibrose e calcificação distrófica severa nesses órgãos.
96 Inflamação multifocal piogranulomatosa e granulomatosa com fibrose pronunciada. Os
97 piogranulomas consistiam de focos necróticos, infiltrados e circundados por neutrófilos,
98 macrófagos epitelioides, plasmócitos, células gigantes multinucleadas e eosinófilos. Vasculite
99 necrosante e trombos de fibrina acompanharam todo processo.

100 Com finalidade diagnóstica, foi realizada marcação histoquímica das lesões teciduais com
101 as colorações de Grocott (para micoses), Gram (para bacterioses) e Ziehl-Neelsen (para

102 micobacterioses), sendo detectadas bactérias Gram-negativas e ausência de marcação nas
103 colorações de Grocott e Ziehl-Neelsen.

104 Foi notada obstrução vascular por trombo (flebotrombose, Figura 6), com estratificação em
105 linha de leucócitos e hemácias, plaquetas e fibrina e ausência de patógenos associados,
106 caracterizando um trombo misto asséptico. Adicionalmente, observou-se linfonodo reativo
107 associado, apresentando hiperplasia de polpa branca, linfócitos e plasmócitos pleomórficos,
108 com condensação nucleolar, baixo índice mitótico, linfocitólise e amiloidose associada. Por
109 meio de exame histopatológico, foi confirmado o diagnóstico de linfoma multicêntrico.

110 A análise imunofenotípica da lesão linfoproliferativa foi realizada por imuno-histoquímica,
111 utilizando-se anticorpos *mice anti-Ki-67* (MIB-1, Immunotech, Rio de Janeiro, Brasil), *rabitt*
112 *anti-CD3* (para linfócitos T, A0452, Dako, Glostrup, Dinamarca) *erabbit anti-Pax5* (para
113 linfócitos B, M0755, Dako, Glostrup, Dinamarca), todos na diluição 1:600. As lâminas foram
114 desparafinadas, reidratadas e submetidas à recuperação antigênica em forno de micro-ondas,
115 fervendo-se as lâminas em tampão citrato. A seguir, as mesmas foram submetidas a bloqueio
116 com peroxidase endógena, incubação com o anticorpo primário, com posterior incubação com
117 o anticorpo secundário biotilado anti-imunoglobulinas, incubação com o complexo
118 estreptavidina-biotina-peroxidase e revelação com solução contendo diaminobenzidina (DAB)
119 e peróxido de hidrogênio. As lâminas foram posteriormente contracoradas com hematoxilina.

120 Pela análise imuno-histoquímica evidenciou-se marcação intracitoplasmática positiva para
121 Pax5 (3+/5+) e CD3 (4+/5+), bem como intranuclear para Ki-67 (4+/5+). O linfoma
122 multicêntrico foi então caracterizado como um linfoma de grandes células B rico em células T
123 (*T-cell-rich large B-cell lymphoma* - TCRLBCL) de baixo grau, com contagem de índice
124 mitótico de 3, com concomitante doença bacteriana Gram-negativa granulomatosa sistêmica.

125

126 **DISCUSSÃO**

127

128 Linfoma equino é uma doença heterogênea, com muita variação nos sinais apresentados, no
129 curso clínico, nos achados laboratoriais e patológicos. Tumores hemolinfáticos em cavalos são,
130 aparentemente, raros, sendo os linfomas os mais frequentes (Munhoz *et al.*, 2009).

131 Embora a forma multicêntrica seja a mais comum em equinos, tumores solitários são os mais
132 raros e foram descritos em língua (Rhind e Dixon, 1999), vesícula urinária (Sweeney *et al.*,
133 1991), útero (Freeman *et al.*, 1997) e uretra (Montgomery *et al.*, 2009).

134 Durham *et al* (2012) estudaram 203 casos de equinos com linfoma classificados de acordo
135 com os critérios estabelecidos pela World Health Organization (WHO) e concluíram que o tipo

136 mais prevalente é o TCRLBCL multicêntrico, o mesmo tipo relatado no presente estudo, que
137 também apresentava baixo índice mitótico. Tumores indolentes são associados a um longo
138 curso clínico em cães e gatos, porém, em cavalos ainda não existem estudos.

139 Os sinais clínicos dependem da função do órgão envolvido, do grau de envolvimento e curso
140 da doença, podendo aparecer insidiosamente ou agudamente. Porém, todos os tipos de linfoma
141 podem apresentar sinais como perda de peso, depressão, letargia, edema das porções ventrais
142 do corpo ou distais dos membros, febre recorrente e linfadenopatia de linfonodos periféricos
143 (Meyer *et al.*, 2006; Montgomery *et al.*, 2009; Taintor e Schleis, 2011). A égua do presente
144 relato apresentava ferida com tecido de granulação exuberante na região da articulação
145 metatársica-falangeana e edema distal do membro contralateral, porém, como apoiava seu peso
146 no membro sem a ferida, dificultou a compreensão da origem desse edema. Apresentou também
147 linfadenopatia periférica, mas, ao exame clínico, somente pode ser observada nos linfonodos
148 parotídeos. Os outros linfonodos acometidos eram os mesentéricos e mediastínicos, que só
149 puderam ser observados na necropsia.

150 A égua apresentou anemia, porém, devido à ferida extensa e de longo curso, não se sabe se
151 foi causada pelo linfoma. Durante os quinze dias de internação, recebeu ração comercial para
152 manutenção duas vezes ao dia e feno de alfafa à vontade, mas não houve mudança na série
153 vermelha de seu hemograma. Taintor e Schleis (2011) concluíram que quando a anemia é
154 proveniente do linfoma, é resultante da combinação entre a prematura destruição dos anticorpos
155 de superfície das hemáceas, inadequada produção e inflamação crônica.

156 A necropsia da égua em questão revelou a presença de piogranulomas em múltiplos órgãos,
157 como fígado, pulmões, intestinos e linfonodos. Imunossupressão e imunodeficiência já foram
158 correlacionadas com linfomas em equinos e descritas anteriormente por Furr *et al.* (1992). O
159 diagnóstico de linfoma na égua foi realizado *postmortem*, o que torna praticamente impossível
160 saber se existiu imunossupressão e imunodeficiência e se a disseminação bacteriana ocorreu
161 por essa razão.

162 Montgomery *et al.* (2009) relataram um caso de linfoma pélvico que causou compressão da
163 uretra em uma égua de 6 anos, que também apresentava emagrecimento (escore 3/9 na escala
164 de Henneke), sendo também, somente na necropsia, observada broncopneumonia supurativa
165 por *Streptococcus equi spp. zooepidemicus* e infestação verminótica, representando outro caso
166 de difícil diagnóstico, mas sugestivo de ter ocorrido imunossupressão pelo linfoma. Silva *et al.*
167 (2012) também relataram um caso de linfoma em um equino macho de 6 anos, porém,
168 multicêntrico. O animal apresentou sinais clínicos de pneumonia, anorexia, edema ventral,
169 linfadenopatia de linfonodos submandibulares, pré-escapulares e inguinais e emagrecimento

170 progressivo. Como havia histórico de adenite equina dois meses antes de ser encaminhado para
171 o hospital, a suspeita inicial foi garrotinho bastardo e púrpura hemorrágica. O diagnóstico, mais
172 uma vez, foi fechado na necropsia e no exame histopatológico, no qual se observou linfoma em
173 linfonodos, baço, fígado, coração, diafragma, estômago e pulmões.

174 Em humanos, existe uma correlação entre doença linfoproliferativa e doença autoimune.
175 Entre as hipóteses que visam explicar esta inter-relação, postula-se que o estímulo antigênico e
176 a resposta inflamatória gerada pela doença autoimune seja capaz de transformar uma população
177 de linfócitos policlonais em uma população monoclonal, compatível com uma
178 linfoproliferação. Os linfócitos B apresentam funções regulatórias complexas dentro do sistema
179 imune, além de serem precursores das células secretoras de anticorpos. Células-tronco linfoides
180 são produzidas pela medula óssea. Elas amadurecem em células B e T indiferenciadas e se
181 direcionam para os linfonodos onde são submetidas à exposição antigênica no centro
182 germinativo dos folículos. As células B se proliferam e sofrem transformações neste centro, o
183 qual é envolto por uma zona de manto e uma zona marginal. As células B antígeno específico
184 geradas nestes folículos seguem para regiões mais periféricas do linfonodo, onde
185 consequentemente ficam as células plasmocíticas produtoras de imunoglobulinas. A
186 proliferação das células T ocorre na região para cortical do linfonodo. Mediante a proeminente
187 atividade celular, molecular e genética que ocorre no centro germinativo, reações neste local
188 são um grande fator de risco para a ocorrência ou iniciação de transformação maligna da célula
189 B, tanto que a maioria dos linfomas associados às doenças autoimunes parece se desenvolver
190 durante a ativação antigênica ou no estágio subsequente a esta exposição. Durante as reações
191 no centro germinativo, translocações cromossômicas ou mutações de genes regulatórios não-
192 imunoglobulinas podem ocorrer ou se tornar evidentes, levando a disfunção do ciclo celular
193 e/ou inibindo a apoptose, necessária para a manutenção da homeostasia das células B (Lendgren
194 *et al.*, 2006).

195 No caso da égua do presente relato, não houve doença autoimune, mas a inflamação crônica
196 causada pela lesão do membro pode ter sido a causa do desenvolvimento do linfoma, já que
197 este era único e no mesmo membro do tecido de granulação exuberante.

198

199 **CONCLUSÃO**

200

201 Neoplasias internas são difíceis de diagnosticar em equinos, muitas vezes apresentam sinais
202 clínicos sutis ou inespecíficos, caracterizados como síndromes paraneoplásicas, ou seja,
203 alterações metabólicas decorrentes do metabolismo neoplásico. Sinais como emagrecimento

204 progressivo, edema, linfadenopatia, hipoproteinemia, hipocalcemia e anemia devem ser
205 considerados indícios para que o linfoma seja incluído no diagnóstico diferencial.

206

207 **REFERÊNCIAS**

208

209 DURHAM, A.C.; PILLITTERI, C.A.; SAN MUINT, M.; VALLI, V.E. Two hundred three
210 cases of equine lymphoma classified according to the World Health Organization (WHO)
211 classification criteria. *Veterinary Pathology*, v.50, n.1, p.86-93, 2012.

212 FREEMAN, S.L.; ENGLAND, G.C.; BJORNSON, S.; SMITH, R.K. Uterine T cell lymphoma
213 in a mare, with multicentric involvement. *Veterinary Record*, v.141, p.391-393, 1997.

214 FURR, M.O.; CRISMAN, M.V.; ROBERTSON, J.; BARTA, O.; SWECKER, W.S.
215 Immunodeficiency associated with lymphosarcoma in a horse. *Journal of American Veterinary*
216 *Medicine Association*, v.201, p.307-309, 1992.

217 LANDGREN, O.; ENGELS, G.A.; PFEIFFER, R.M.; MELLEMKJAER, L.; OLSEN, J.H.;
218 KERSTANN, K.F.; WHEELER, W.; HEMMINKI, K.; LINET, M.S.; GOLDIN, L.R.
219 Autoimmunity and susceptibility to Hodgkin lymphoma: a populationbased case-control study
220 in Scandinavia. *Journal of National Cancer Institute*, v.98, p.1321-1330, 2006.

221

222 MEYER, J.; DELAY, J.; BIENZLE, D. Clinical, laboratory, and histopathologic features of
223 equine lymphoma. *Veterinary Pathology*, v.43, p.914-924, 2006.

224 MONTGOMERY, J.B.; DUCKETT, W.M.; BOURQUE A. Pelvic lymphoma as a cause of
225 urethral compression in a mare. *Canadian Veterinary Journal*, v.50, p.751-754, 2009.

226 MUNHOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJON, F. 2009. Hematopoietic neoplasia in
227 horses: Myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. *Journal of Equine Sciences*, v.20,
228 p.59-72.

229 RHIND, S.M.; DIXON, P.M. T cell-rich B cell lymphosarcoma in the tongue of a horse.
230 *Veterinary Record*, v.145, p.554-555, 1999.

231 SILVA, T.G.; DECONTO, I.; DORNBUSCH, P.; BARROS FILHO, I.R.; SOUZA, R.S.
232 Linfoma multicêntrico em cavalo: relato de caso. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*,
233 v.19, n.2, p.66-70, 2012.

234 SWEENEY, R.W.; HAMIR, A.N.; FISHER, R.R. Lymphosarcoma with urinary bladder
235 infiltration in a horse. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v.199, p.1177-
236 1178, 1991.

237 TAINTOR, J.; SCHLEIS, S. Equine lymphoma. *Equine Veterinary Education*, v.23, n.4, p. 205-
238 213, 2011.

239

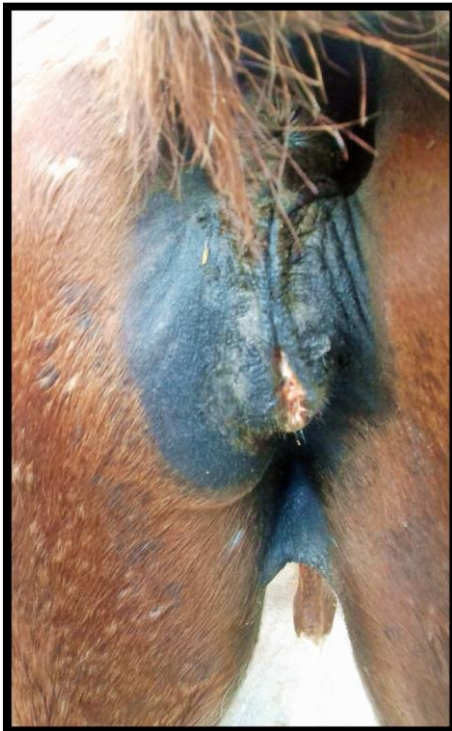
240 **Figuras**

241



242
243
244
245

Figura 1. Tecido de granulação exuberante na região da articulação metatársica-falangeana do membro pélvico esquerdo.



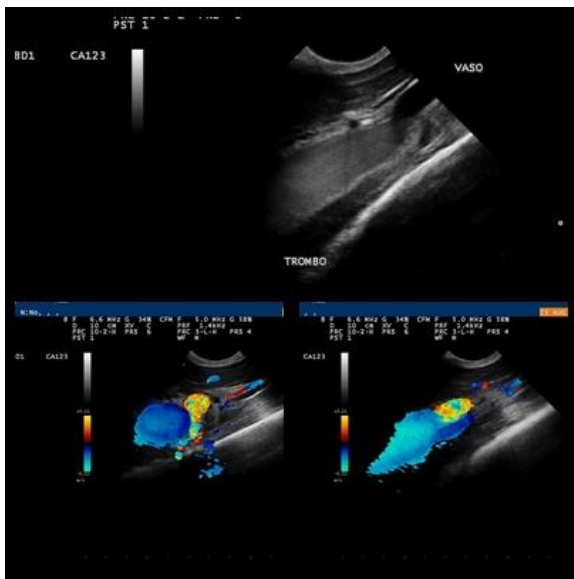
246
247
248

Figura 2. Edema da região inguinal do membro posterior esquerdo.



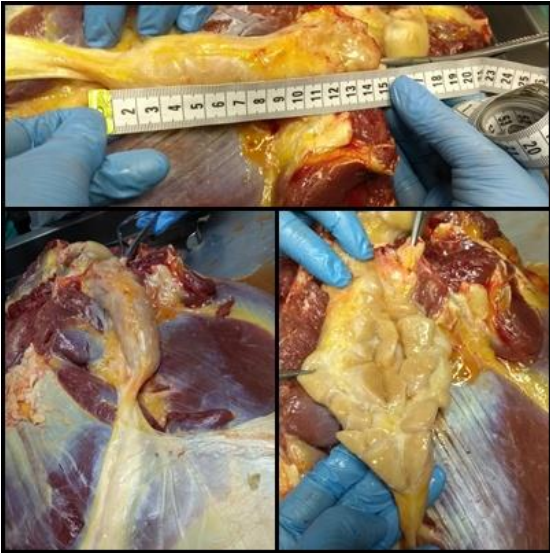
249
250
251

Figura 3. Ingurgitação da veia safena no membro pélvico esquerdo.

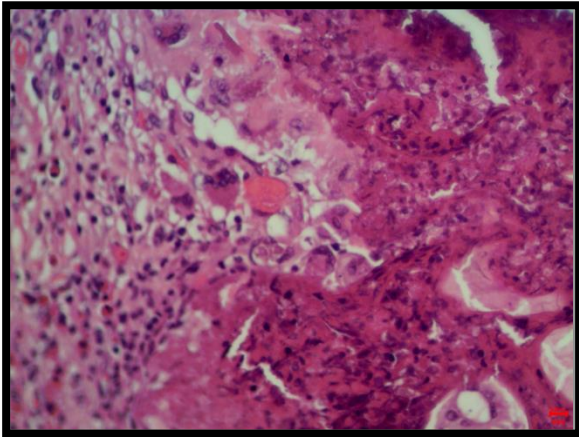


268
269

Figura 4. Ultrassonografia e ultrassonografia com Doppler da veia safena do membro pélvico esquerdo.



270
271 **Figura 5.** Dissecção da veia safena na região inguinal demonstrando a presença do trombo (A e B)
272 e linfonodo associado à veia (C).
273



274
275 **Figura 6.** Avaliação histológica do trombo. Marcada proliferação de linfócitos com basofilia nuclear,
276 pleomorfismo de linfócitos e plasmócitos (HE 40X).
277