

LINFOMA MULTICÊNTRICO EM CÃO, UMA ABORDAGEM CLÍNICA E LABORATORIAL

(Multicenter lymphoma in dogs, a clinical and laboratory approach: a case report)

Samuel Monteiro JORGE^{1*}; Jéssica Sousa CASTELO BRANCO¹; Talles Monte de ALMEIDA²; José Alexandre da Silva JÚNIOR³; Isaac Neto Goes da SILVA¹

¹Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (UECE), Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza-Ce, CEP: 60.740-000. ; ²Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE);

³Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV/UECE).

RESUMO

O linfoma é uma forma de apresentação do distúrbio linfoproliferativo, em que o tumor se origina em um órgão hematopoiético sólido, como o linfonodo. É considerada uma neoplasia de maior incidência em cães e gatos. O trabalho tem como objetivo apresentar um relato de caso sobre um linfoma multicêntrico, com abordagem clínica e laboratorial. Um cão sem raça definida, foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do CEARÁ (UHV-UECE), apresentando hematúria e uma discreta linfadenomegalia no exame físico. Foram solicitados hemograma completo (HC), análise de bioquímica sérica, sumário de urina e exame ultrassonográfico (US). As alterações no hemograma foram anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia. A análise dos exames de bioquímica sérica revelou um aumento na enzima aspartato amino-transferase (AST). No sumário de urina (SU), observaram-se alterações das características físicas e da sedimentoscopia. O exame ultrassonográfico mostrou alterações de ecogenicidade na bexiga, próstata, testículo e baço. Houve piora do quadro clínico do animal, com perda de peso e aumento evidente dos linfonodos. Um exame citológico foi realizado com aspirado de linfonodos, que apresentou configuração celular compatível com linfoma; sendo também encontradas células neoplásicas no esfregaço de sangue periférico, no hemograma. Diante dos achados e do agravamento do quadro clínico, o animal veio a óbito.

Palavras chaves: Neoplasia linfoide, cão, diagnóstico citológico.

ABSTRACT

Lymphoma is a form of presentation of the lymphoproliferative disorder which the tumor originates from a solid hematopoietic organ such as the lymph node. It is considered one of the neoplasia of higher incidence in dogs and cats. This paper aims to present a case report on a multicenter lymphoma with a clinical and laboratory approach. A dog without defined breed, at the Hospital Veterinário da Universidade Estadual do CEARÁ (UHV-UECE) presenting hematuria and a discrete lymphadenomegaly on physical examination. Complete blood counts (HC), serum biochemical analyzes, urine summary and ultrasound examination were requested. Changes in the hemogram were normocyclic normocitic

*Endereço para correspondência:
samuel.jorge@gmail.com

anemia and thrombocytopenia. Biochemical analysis revealed an increase in aspartate amino transferase (AST). The urine summary (SU) showed changes in physical characteristics and sedimentation. Ultrasound examination (US) showed changes in the bladder, prostate, testis echogenicity and the spleen's size. There was worsening of the animal's size over time with progression of weight loss and evident enlargement of the lymph nodes. A cytology was performed through a lymph node aspirate which had a lymphoma compatible cell configuration and neoplastic cells were also found in the hemogram peripheral blood smear. The animal died with deterioration of the clinical picture.

Key words: Lymphoid neoplasm, dog, cytology diagnostic.

INTRODUÇÃO

O linfoma é uma neoplasia de comportamento biológico maligno, de origem linfoide, sendo proveniente de tecido linfático sólido (HARVEY, 2001). Essa neoplasia é comum em cães e gatos e, para essas espécies, normalmente foram classificados de acordo com a sua posição anatômica, podendo ser mediastínica, alimentar, multicêntrica, extranodal, leucêmica e renal (SANTOS e ALESSI, 2016).

Ainda não existe uma causa estabelecida para a formação dessa neoplasia, mas algumas raças de cães, como São Bernardo, Labrador e Rottweiler possuem uma maior predisposição e, conjuntamente uma ação de vírus e a exposição à poluição e radiação puderam, também, levar ao desenvolvimento dessa enfermidade (RASKIN e MEYER, 2010; ZANDVLIET, 2016).

O linfoma multicêntrico foi a forma mais comum que acomete cães, representando cerca de 75% dos casos de acometimentos nessa espécie. Uma característica marcante desse tipo de neoplasia é a linfadenomegalia generalizada; além disso, pode haver envolvimento do baço, fígado e medula óssea. O animal pode apresentar sinais inespecíficos, como anorexia, perda de peso e letargia. Os linfonodos aumentam de tamanho consideravelmente, ficam móveis e o animal não apresenta dor à palpação. Caso os nódulos estejam comprimindo um vaso linfático, o animal pode apresentar edema, ou tosse, caso esteja comprimindo a traqueia e brônquios. Os animais afetados apresentaram uma hipercalcemia, que é uma síndrome paraneoplásica, ocorrendo devido à produção de uma proteína relacionada ao paratormônio; este produzida por células neoplásicas, podendo; também, os animais apresentarem poliúria e polidipsia (PONCE *et al.*, 2010; NELSON e COUTO, 2015).

Em cerca de 90% dos casos, o diagnóstico pode ser feito através da citologia; nos outros 10%, que não podem ser confirmados através desse recurso, podem ser

realizados testes histopatológico, imunocitoquímico, ou técnicas moleculares, como a PCR (RASKIN e MEYER, 2010; NELSON e COUTO, 2015). O exame radiográfico torácico e abdominal pode revelar a presença de massas mediastínicas e de infiltrados pulmonares e, na ultrassonografia abdominal, pode ser observada alteração na arquitetura e tamanho dos linfonodos. Contudo, não puderam ser observadas alterações no exame ultrassonográfico, em 25% dos casos (MATOON e NYLAND, 2015; ZANDLIVIET, 2016).

As alterações hematológicas mais comuns foram anemia, trombocitopenia, leucocitose com ou sem desvio a esquerda e, às vezes, leucopenia (CAPUA *et al.*, 2011). A hipercalcemia e a hiperproteïnemia foram alterações que puderam ser observadas em análises de bioquímica sérica (TAPPIN *et al.*, 2011). O diagnóstico diferencial para essa neoplasia pode ser infecções bacterianas, virais, parasitárias, micoses, doenças autoimunes (que puderam causar hiperreatividade nos linfonodos, aumentando o seu tamanho) e leucemias crônicas ou agudas que puderam afetar os linfonodos, mas não de forma generalizada (RASKIN e MEYER, 2012; COMAZZI *et al.*, 2015; DALECK e DE NARDI, 2016).

O tratamento consistiu no uso da poliquimioterapia, com o uso de predinisona, vincristina e ciclosfosfamida em semanas alternadas. Houve uma remissão de 80% dos casos, variando entre 3 e 4 meses. O sucesso do tratamento depende de alguns fatores, como a localização anatômica, classificação histológica, imunofenotipagem, estágio clínico e a presença de síndromes paraneoplásicas, como a hipercalcemia (DALECK e DE NARDI, 2016).

Diante do exposto, esse trabalho tem como objetivo apresentar um relato de caso de um cão com linfoma multicêntrico, abordando uma análise clínica e laboratorial dos achados observados.

MATERIAL E MÉTODOS

Um cão sem raça definida, de 12 anos de idade, macho, não castrado, pesando 29 kg foi atendido no Hospital Veterinário Dr. Sylvio Barbosa Cardoso da Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará (HV- UECE) em setembro de 2016. A queixa principal da proprietária era a presença de sangue na urina do animal. Durante o exame físico, a única alteração identificada foi um discreto aumento no tamanho dos linfonodos poplíteos. Então, foram solicitados hemograma completo, creatinina, uréia,

alanina amino-transferase (ALT) e aspartato amino-transferase séricas, ultrassonografia abdominal total e urinálise.

Enquanto os exames eram realizados, o animal foi tratado com xarope de *Phyllanthus niruri* sendo administrado 5 mL/Kg de peso vivo, três vezes ao dia e 10 gotas na água, três a quatro vezes ao dia de *Achillea millefolium*; ambos os fármacos administrados durante vinte dias consecutivos.

O hemograma completo revelou uma anemia (contagem de hemácias de $5,46 \times 10^3 \mu\text{L}$ vs. referência de normalidade 5.5×10^3 a $8.5 \times 10^3 \mu\text{L}$); hematócrito 35% vs. normal 37% a 55%) normocítica (VCM $64.1 \mu\text{m}^3$ vs. normal 60 a $77 \mu\text{m}^3$) normocrômica (CHCM 36% vs. normal 30 a 36%) e trombocitopenia ($100.000/\mu\text{L}$ vs. normal 200.000 a $500.000/\mu\text{L}$), com agregados plaquetários e plaquetas gigantes. A análise bioquímica sérica apresentou um discreto aumento de AST ($72,0 \text{ UI/L}$ vs. referência de normalidade 23,0 a $66,0 \text{ UI/L}$).

No exame ultrassonográfico, foi observada esplenomegalia, ambos os testículos apresentaram ecotextura heterogênea, com áreas ecogênicas dispersas e sugestivas de áreas de fibrose. Na próstata, foram observadas pequenas áreas hipocogênicas circulares, sugestivas de pequenos cistos e, na bexiga, foi observada hipocogenicidade o que sugere uma celularidade, além disso, observou-se uma estrutura hiperecogênica disforme, não compactada e não vascularizada, aderida à parede, na região próxima ao colo da bexiga, sugestiva de coágulo.

A coleta da urina foi realizada por sondagem, em um volume de 10 mL. A urina apresentava um aspecto turvo, com coloração preto-acastanhado e densidade de 1.052. O exame químico da urina revelou um pH 6,0, presença de três cruces de proteína, sangue oculto e bilirrubina. Na sedimentoscopia, pode-se observar a presença de frequentes células transicionais, por vezes em aglomerados, células tubulares renais aglomeradas, células da pelve renal e ureter proximal frequentes. Foram observadas incontáveis hemácias por campo, discreto número de leucócitos e cilindros mistos e uma quantidade moderada de cilindros granulares delicados e cristais de bilirrubina, (Fig. 01- B) além da presença discreta de espermatozoides.

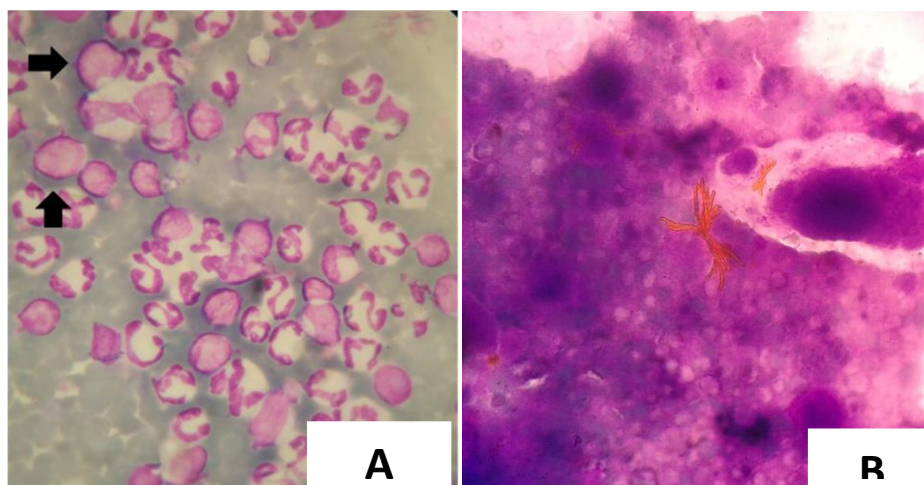


Figura 01: A: Presença de células linfoides neoplásicas em esfregaço sanguíneo (Aumento de 1.000 vezes - setas pretas). As células apresentam tamanho médio a grande, alta relação núcleo:citoplasma e cromatina frouxa. B: Cristais de bilirrubina no sedimento urinário, aumento de 400x, corados com Panótico Rápido (fonte: arquivo pessoal).

Em outubro do mesmo ano, o animal retornou ao HV-UECE com o resultado dos exames, apresentando perda de peso, porém com normorexia e ingestão normal de água (*NORMODIPSIA*). Decidiu-se manter o tratamento inicial e administrar 5 mg/kg de doxiciclina VO, BID, durante 28 dias, pois a trombocitopenia pode ser relacionada à ocorrência de uma Erliquiose Canina. O animal apresentou melhoras significativas, em relação à hematúria.

Em janeiro de 2017, a proprietária retornou com o animal, apresentando acentuada linfadenomegalia generalizada, com linfonodos móveis e sem dor à palpação ou alteração de temperatura. No exame físico, a única alteração observada foi uma esplenomegalia, através da palpação. Um novo hemograma completo e análise de creatinina sérica, uréia, ALT, e punção dos linfonodos foi solicitado, então.

O hemograma completo atestou uma trombocitopenia (59.000/ μ L vs. normal 200.000 a 500.000/ μ L) sem alterações morfológicas e a presença de células médias a grandes, com citoplasma basofílico; por vezes, apresentando pequenos vacúolos, núcleo grande e irregular, alta relação núcleo:citoplasma, com cromatina frouxa e alguns nucléolos evidentes, representando 9% do total de células contadas no esfregaço sanguíneo (Fig. 01 - A). Nenhuma alteração foi observada na análise dos exames de bioquímica sérica.

A punção dos linfonodos foi feita por punção por agulha fina (PAF) nos linfonodos mandibular direito, axilar direito, pré-escapular e poplíteos direito e esquerdo. Obteve-se no total, 19 lâminas que foram submetidas à coloração de Romanowsky, o Panótico Rápido, e visualizadas utilizando um microscópio óptico. Em todas as lâminas

foram observadas amostras hiperclulares exibindo acentuada monotonia celular constituída por linfoblastos médios a grandes dispostos individualmente, majoritariamente com ausência de escalonamento de maturação linfóide. As referidas células apresentaram alta relação núcleo:citoplasma, elevada fragilidade celular com restos de cromatina nuclear dispostos ao fundo da lâmina, moderada a intensa basofilia citoplasmática, núcleo com cromatina de padrão frouxo, nucléolos múltiplos, evidentes e anisonucleólise, além de figuras de mitose atípicas (0-1 por campo). Relata-se, ainda, uma frequente presença de corpúsculos linfoglandulares no fundo de lâmina. Não foram observados microorganismos nas amostras. Baseado nas características macroscópicas e microscópicas da neoplasia constatou-se que se tratava de um linfoma (Fig. 02).

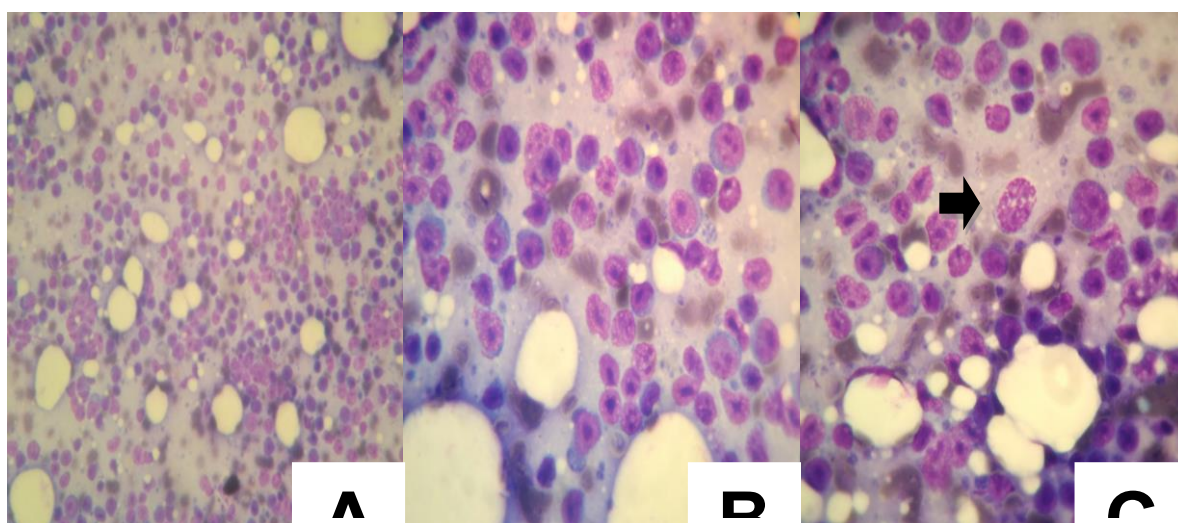


Figura 02: A – Observa-se monotonia celular em lâmina (aumento de 100 vezes). B – Presença de células de tamanho médio a grande, com alta relação núcleo:citoplasma, cromatina frouxa, nucléolos evidentes, por vezes múltiplos, anisonucleólise e corpos linfoglandulares no fundo de lâmina (aumento de 1.000 vezes). C – Observa-se figura de mitose atípica, indicada pela seta preta, em um aumento de 1.000 vezes. Corados com Panótico Rápido (fonte: arquivo pessoal).

A proprietária retornou no mesmo mês; o animal apresentava apatia e perda de peso, apesar de não parar de ingerir água e se alimentar. Devido à falta de condições financeiras para arcar com o tratamento, foi prescrito um tratamento paliativo para o animal. Foi utilizada prednisona 2 mg/kg VO, SID, por 28 dias consecutivos. Porém, o animal faleceu em abril de 2017 e não foi possível realizar a necropsia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O linfoma foi considerado uma das neoplasias hematopoiéticas mais comuns em cães (NIKOUSEFAT *et al.*, 2016). Ele pode estimular a produção de imunocomplexos, que puderam se depositar nos glomérulos, levando a lesões renais (SCHNEIDER *et al.*, 2013). As alterações encontradas, tanto no sumário de urina, quanto na ultrassonografia justificaram a lesão renal e a hematuria que o animal apresentava. Os valores de uréia e creatinina estavam dentro da referência para a espécie; contudo, esses analitos só aumentariam além da referência, quando houvesse uma lesão com perda de funcionalidade de 75% de néfrons. Outra evidencia de uma lesão renal é o valor acima da referência da densidade urinária que indicou 66% de dano nos rins (CHEW *et al.*, 2012).

O animal apresentou um aumento do hematócrito e quantidade de hemácias, quando comparados os dois hemogramas; contudo, a trombocitopenia persistiu nos dois exames. A trombocitopenia, nesse caso, pode ser multifatorial, devido ao aumento do baço, por estímulo imunogênico, que leva a uma diminuição do tempo de sobrevivência das plaquetas. A perda de sangue, evidenciada pela hematuria, pode ter estimulado a ativação plaquetária com a concomitante diminuição delas no sangue periférico. A anemia pode ter sido causada pela perda de sangue, através da urina. (STOCKHAM e SCOTT, 2008).

Uma alteração encontrada no exame bioquímico foi o aumento do AST, em relação aos valores de referência, que não foi acompanhado por um aumento acima da referência de ALT. O AST apresentou um tempo de meia vida mais curto que o ALT, podendo aumentar e diminuir antes que o ALT atinja o seu pico. Esse aumento pode ser devido à deposição de imunocomplexos, estimulados pelo tumor no fígado (STOCKHAM e SCOTT, 2008; THRALL *et al.*, 2012).

As alterações encontradas na próstata e nos testículos seriam comuns em animais com idade avançada (MATOON e NYLAND, 2015). A esplenomegalia pode ser causada pela infiltração da neoplasia no baço (NELSON e COUTO, 2015).

Segundo a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), os linfomas podem seguir a classificação em 5 estádios, sendo o primeiro deles coerente quando a neoplasia acometer apenas um órgão linfóide e o estádio cinco quando existir a presença de células neoplásicas na corrente sanguínea ou na medula óssea (OWEN, 1980; RIONDATO *et al.*, 2017). O linfoma do presente caso, pode ser classificado como estádio 5, pois foram encontradas células neoplásicas na corrente sanguínea, bem como a presença da neoplasia em vários linfonodos do animal; podendo classificá-lo, também,

como multicêntrico (SANTOS e ALESSI, 2016). A presença de células linfóides neoplásicas no sangue periférico, oriundas de um linfoma, já foi relatada em outros trabalhos (RIONDATO *et al.*, 2017).

A doxiciclina é um fármaco que pode ser usado no tratamento de Erliquiose Monocítica Canina. Devido à trombocitopenia, essa foi a suspeita inicial do médico veterinário (GREENE, 2012). Alguns trabalhos apontaram resultados positivos quanto ao uso de fitoterápicos à base de *Phyllanthus niruri* e *Achillea millefolium*, no tratamento de enfermidades urinárias e renais, respectivamente. (BOIM *et al.*, 2010; VAHID *et al.*, 2012). A prednisona é um anti-inflamatório esteroide, que tem ação linfocítica e que pode ser usado no tratamento de linfomas. Como monoterapia, esse fármaco pode ser usado como tratamento paliativo. (DALECK e DE NARDI, 2016).

Um dos diagnósticos diferenciais foi a Leishmaniose Visceral, pois o animal apresentava perda de peso, linfadenomegalia e a doença foi considerada enzoótica na região (GREENE, 2012; CAVALCANTE e VALE, 2014). Contudo, o linfonodo infectado com o parasita tendeu a se tornar hiper-reativo, apresentando um escalonamento do tamanho dos linfócitos aspecto esse oposto ao observado na citologia descrita no presente trabalho. Além disso, não foi observada a presença do parasita em lâmina (RASKIN e MEYER, 2010).

Outro diagnóstico diferencial para essa enfermidade seria a Leucemia Linfocítica Aguda. Uma linfadenomegalia maciça, como foi observada no animal, foi mais comum em Linfomas do que nas supra-mencionadas afecções (NELSON e COUTO, 2015).

CONCLUSÃO

O Linfoma é uma das neoplasias malignas que mais acometem os cães, portanto uma abordagem clínica e laboratorial completa é necessária para um diagnóstico rápido e preciso, de forma que o tratamento seja feito de maneira correta, melhorando assim, o prognóstico e a sobrevivência do animal.

REFERÊNCIAS

BOIM, M.A.; HEILBERG, I.P.; SCHOR, N. *Phyllanthus niruri* as a promising alternative treatment for nephrolithiasis. *International Brazilian Journal of Urology*, v.36, p.657-664, 2010.

CÁPUA, M.L.B.; COLETA, F.E.D.; CANESIN, A.P.M.N.; GODOY, A.V.; CALAZANS, S.G.; MIOTTO, M.R.; DALECK, C.R.; SANTANA, A.E. Linfoma canino: clínica, hematologia e tratamento com o protocolo de Madison-Wisconsin. *Ciência Rural*, v.41, p.1245-1251, 2011.

CAVALCANTE, I.J.M.; VALE, M.R. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral no Ceará no período de 2007 a 2011. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v.17, p.911-924, 2014.

CHEW, J.D.; DIBARTOLA, P.S.; SCHENCK, P.A. Urologia e nefrologia do cão e do gato. 2ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012, 536p.

DALECK, C.R.; DE NARDI, A.B. Oncologia em cães e gatos. 2ª ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. 1075p.

GREENE, C.G. Infectious disease of the dog and cat. 4ª ed. Missouri: Saunders, 2012, 1383p.

HARVEY, J.W. Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. 1ª ed. Philadelphia: Saunders, 2001, 225p.

MATOON, J.S.; NYLAND, T.G. Small animal diagnostic ultrasound. 3ª ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2015, 608p.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Small animal internal medicine. 5ª ed. Missouri: Elsevier Mosby, 2015, 1160p.

NIKOUSEFAT, Z.; HASHEMNIA, M.; JAVDANI, M. Large B-cell lymphoma in a dog: A cyto-histopathological evaluation and immunophenotyping according to WHO classification for canine lymphomas. *Veterinary Research Forum*, v.7, p.79-83, 2016.

OWEN, L.N. Classification of tumours in domestic animals. 1ª Ed. Geneva: World Health Organization, 1980. 52p.

PONCE, F.; MARCHAL, T.; MAGNOL, J.P.; TURINELLI, V.; LEDIEU, D.; BONNEFONT, C.; PASTOR, M.; DELIGNETTE, M.L.; FOURNEL-FLEURY, C. 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*, v.47, p.414-433, 2010.

RASKIN, R.E.; MEYER, J.D. Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide. 2ª ed. Missouri: Saunders, 2010. 456p.

RIONDATO, F.; MARTINI, V.; POGGI, A.; MASSAGLIA, I.; COMAZZI, S.; BORRELI, A.; MINISCALCO, B. Identification of peripheral blood involvement in dogs

with large B-cell lymphoma: Comparison of different methods. *Research in Veterinary Science*, v.115, p.288-293, 2017.

SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. *Patologia Veterinária*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016, 1364p.

SCHNEIDER, S.M.; CIANCIOLO, R.E.; NABITY, M.D.; CLUBB, F.J.; BRONW, C.A.; LEES, G.E. Prevalence of immune-complex glomerulonephritides in dogs biopsied for suspected glomerular disease: 501 cases (2007–2012). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.27, p.67-75, 2013.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. 2ª ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2008, 728p.

VAHID, S.; DASHTI-KHAVIDAKI, S.; AMINI, F.A.M.; SURMAGHI, M.H.S. Effect of herbal medicine *Achillea Millefolium* on plasma nitrite and nitrate levels in patients with chronic kidney disease: a preliminary study. *Iranian Journal of Kidney Disease*, v.6, p.350-354, 2012.

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