

## LINFOMAS CANINOS: IMUNOFENOTIPAGEM EM 40 CASOS DIAGNOSTICADOS NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL

ELISA ROCHA DA SILVA<sup>1</sup>; LUCAS DOS SANTOS MARQUES<sup>2</sup>; HAIDE  
VALESKA SCHEID<sup>3</sup>; LUIZA SOARES RIBEIRO<sup>3</sup>; FABIANO VENÂNCIO<sup>3</sup>; ANA  
LUCIA PEREIRA SCHILD<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [elisasilva.vet@gmail.com](mailto:elisasilva.vet@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [lukas53\\_@hotmail.com](mailto:lukas53_@hotmail.com)

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas –  
[alschild@terra.com.br](mailto:alschild@terra.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

O linfoma, também denominado linfossarcoma, é uma neoplasia hematopoiética comum em cães e representa 7% a 24% de todos os tumores caninos e até 83% das neoplasias hematopoiéticas nesta espécie animal (VAIL; YOUNG, 2007; VAIL, 2010). O linfoma canino é classificado anatomicamente, segundo a indicação da Organização Mundial de Saúde (OMS), de acordo com a origem, como multicêntrico, mediastinal, alimentar, cutâneo e extranodal, sendo a apresentação multicêntrica a mais comum (OWEN, 1980). A etiologia do linfoma é relatada como multifatorial, não estando completamente elucidada e inclui infecções virais, predisposição genética e fatores ambientais (CUNHA et al., 2011). Em trabalho anterior foi demonstrado que na região Sul do Rio Grande do Sul a forma multicêntrica do linfoma canino é a mais frequente, que não existe um padrão de idade para a ocorrência de linfomas em cães e que o sexo aparentemente não interfere na sua ocorrência, embora haja relatos de uma predisposição a maior frequência em machos do que em fêmeas (FIGHERA et al. 2006; MORENO & BRACARENSE 2007, GAVAZZA et al. 2009).

Os objetivos deste trabalho foram descrever os aspectos histopatológicos e imuno-histoquímicos, de acordo com a classificação de Kiel adaptada, de 40 casos de linfomas caninos diagnosticados, determinando o imunofenótipo predominante em cães na região de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD/UFPEL) entre os anos 2000 e 2020.

### 2. METODOLOGIA

Registros de biópsias e necropsias realizadas no período de 2000 a 2020 pelo LRD/UFPEL foram revisados nos protocolos de necropsia dos arquivos do Laboratório Regional de Diagnóstico. Foram identificados 77 casos de linfomas caninos dos quais 40 foram reavaliados histologicamente e classificados de acordo com o sistema de Kiel modificado (SUZANDO et al., 2010) e caracterizados imunofenotipicamente, utilizando-se a técnica de imuno-histoquímica. Para a detecção do imunofenótipo B foi utilizado o anticorpo anti-CD79-a (BIOCARE MEDICAL) na diluição de 1:100 e para o imunofenótipo T utilizou-se o anticorpo anti-CD3 (BIOCARE MEDICAL) na diluição de 1:100, diluídos em solução de PBS 7,2%. Cortes histológicos de 3µm, em lâminas positivadas, foram desparafinados e reidratados em bateria de xilol e álcool. Para o bloqueio da peroxidase endógena foi utilizada solução de peróxido de hidrogênio 10%, diluído em metanol, por 20 minutos, à temperatura ambiente. A

recuperação antigênica para o anticorpo CD79-a foi efetuada utilizando solução TRIS, no micro-ondas por 15 minutos e para recuperação antigênica do anticorpo anti-CD3 utilizou-se proteinase K, por 15 minutos, à temperatura ambiente (COELHO et al. 2019). As lâminas foram contraincubadas com hematoxilina de Harris, desidratadas em graduações crescentes de álcool, clarificadas em xilol e montadas com Entellan. Para o controle negativo foi utilizado PBS 7,2% não imune, no lugar do anticorpo primário e como controle positivo utilizou-se tonsila de suíno sem alterações. As lâminas foram avaliadas em microscópio óptico e classificadas como positivas ou negativas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 40 casos de linfomas caninos selecionados para a imunofenotipagem, 21 eram provenientes de necropsias e 19 de biopsias. Em 13 necropsias nos protocolos constava a evolução da doença desde os primeiros sinais clínicos até a morte/eutanásia. Desses 13 casos, 10 foram positivos para células B, oito eram multicêntricos, um alimentar e um extranodal e a evolução variou de três dias, no caso extranodal, a três anos. Nos três casos positivos para células T, todos eram multicêntricos e o período de evolução variou de duas semanas a seis meses. Em duas biopsias remetidas ao LRD/UFPEL, ambas positivas para células B e multicêntricas, a sobrevivência dos cães afetados em um caso foi de dois anos e oito meses e no outro foi de quatro semanas. Quanto a classificação histológica, os 40 linfomas eram difusos. O grau de malignidade de acordo com a classificação de Kiel modificada foi baixo em 35% dos linfomas (14/40) e alto em 65% dos casos (26/40).

A determinação do imunofenótipo dos linfomas é de incontestável importância, pois permite diagnóstico detalhado, prognóstico e direciona para a escolha de um tratamento mais adequado (HORTA et al., 2012). Em um estudo realizado por KIUPEL et al., (1999), utilizando os mesmos anticorpos do presente estudo ficou demonstrado que a determinação do imunofenótipo em cães com linfoma foi importante para o prognóstico de sobrevivência, sendo os linfomas de células B, menos agressivos, cujos cães tem maior tempo de sobrevivência (TESKE et al. 1994). No presente trabalho o percentual de tumores com imunofenótipo T e alto grau de malignidade pela morfologia, foi superior (73%) ao número de casos de baixa malignidade (27%). Aparentemente, por estes resultados, é possível corroborar as observações realizadas por TESKE et al. (1994) que sugerem que os linfomas de células T sejam considerados sempre com alto grau de malignidade independente da morfologia celular, além disso pode considerar-se que os linfomas cutâneos são via de regra de células T e tratamentos direcionados para este tipo celular devem ser realizados, quando não é possível realizar a fenotipagem.

### 4. CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho demonstraram que os linfomas caninos apresentam na sua maioria imunofenótipo B e são multicêntricos, considerando a região de influência do LRD/UFPEL. O diagnóstico por biopsia e a identificação do imunofenótipo pode melhorar a qualidade de vida e dar maior sobrevivência aos cães afetados.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COELHO, A.C.B.; ECHENIQUE, J.V.Z.; LEMOS, B.S.; ESTIMA-SILVA, P.; SALLIS, E.S.V.; RAFFI, M.B.; SCHILD, A.L. Canine lymphomas diagnosed in southern Brazil from 2000 to 2017: epidemiology and immunophenotype. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.39, n. 7, p. 492-498, 2019.

CUNHA, F.M.; SILVEIRA, L.M.G.; XAVIER, J.G.; ALLEGRETTI, L.; BOVINO, E.E. 2011. Linfoma multicêntrico em *Canis familiaris* (cão doméstico): estudo retrospectivo de 60 casos, entre agosto de 2009 e dezembro de 2010, no município de São Paulo-SP. **Journal of the Health Sciences Institute**, São Paulo, v.29, n.4, p.299-301, 2011.

FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; RODRIGUES, A.; BARROS, C.S.L. Aspectos clinicopatológicos de 43 casos de linfoma em cães. **MEDVEP - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, Curitiba, v.4, n.12, p.139-146, 2006.

GAVAZZA, A.; SACCHINI, F.; LUBAS, G.; GUGLIUCCI, B.; VALORI E. Clinical, laboratory, diagnostic and prognostic aspects of canine lymphoma: a retrospective study. **Comparative Clinical Pathology**, Londres, v.18, n.3, p.291-299, 2009.

HORTA, R.S.; COSTA, M.P.; LAVALLE; G.E.; ARAÚJO, R.B.; CASSALI, G.D. Fatores prognósticos e preditivos dos tumores caninos definidos com auxílio da imuno histoquímica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.6, p.1033-1039, 2012.

KIUPEL, M.; TESKE, E.; BOSTOCK, D.. Prognostic factors for treated canine malignant lymphoma. **Veterinary Pathology**, Guelph, v.36, n.4, p.292-300, 1999

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 Animal Science**, São Paulo, v.44, n.supl., p.103-110, 2007.

OWEN, L. 1980. **TNM Classification of tumors in domestic animals**. World Health Organization, Geneva, 1980.

SUZANO, S.M.C.; SEQUEIRA, J.L.; ROCHA, N.S.; PESSOA; A.W.P. Classificação citológica dos linfomas caninos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.47, n.1, p.47-54, 2010.

TESKE, E.; WISMAN, P.; MOORE, P.F.; VAN HEERDE, P. Histological classification and immunophenotyping of canine Non-Hodgkin's lymphoma. Unexpected high frequency of T-cell lymphomas with B-cell morphology. **Experimental Hematology**, Vancouver, v. 22, n.12, p.1179-1187, 1994.

VAIL, D.M.; YOUNG, K.M. Canine lymphoma and lymphoid leukemia. In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M. (4.ed.). **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. Cap.31, p.699-769.



VAIL, D.M.; MICHELS, G.M.; KHANNA, C.; SELTING, K.A.; LONDON, C.A.; response evaluation criteria for peripheral nodal lymphoma in dogs. **Veterinary and Comparative Oncology**, Hoboken, v.8, n.1, p. 28-37, 2010.