



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Trabalho de Conclusão de Residência

DERMATOPATIAS NODULARES EM EQUINOS: CARACTERIZAÇÃO
HISTOPATOLÓGICA DE 20 CASOS NOS ANOS DE 2016-2020 DO
HOSPITAL VETERINÁRIO DA FMVZ-USP

Luiz Augusto Santana Silva

São Paulo

2021

DERMATOPATIAS NODULARES EM EQUINOS: CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE 20 CASOS NOS ANOS DE 2016-2020

Luiz Augusto Santana Silva¹; Jamile M. Garcia¹; Julio D. Spagnolo²; Carla B. Belli²; Lilian R. M. de Sá^{1*}.

¹Serviço de Patologia Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

²Serviço de Cirurgia de Grandes Animais, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Resumo

As dermatopatias nodulares em equinos são causas frequentes do atendimento clínico e cirúrgico e, embora as neoplasias possuam casuística importante, as dermatopatias não neoplásicas representam o principal diagnóstico diferencial. Em virtude da escassez de descrição desses processos patológicos, do perfil dos animais acometidos e da dificuldade da abordagem de algumas lesões, o objetivo foi caracterizar o perfil dos animais acometidos e os padrões histopatológicos das dermatopatias nodulares não neoplásicas e linfoma de grandes células B rico em células T (LGCB-RTH), durante os anos de 2016 a 2020, utilizando microscopia óptica no diagnóstico com colorações histoquímica, polarização e realização de imuno-histoquímica. Para tanto, foi realizado estudo retrospectivo dos casos de dermatopatias nodulares não neoplásicas incluindo casos suspeitos para LGCB-RTH. Totalizaram 20 casos de 19 animais, sendo 13 deles em machos e 7, em fêmeas, com um dos machos apresentando duas lesões em tempo e localização distinta. A idade variou dos dois aos 17 anos. A raça mais acometida foi o Mangalarga Marchador contando seis casos, seguida de cinco casos em animais sem raça definida, dois casos em Brasileira de Hipismo e um caso para cada uma das seguintes raças Crioulla, Quarto de Milha, Pampa, Campolina, Árabe e WestFallen. Das localizações, a mais acometida foi a região prepucial somando sete casos, em seguida três casos para os membros torácicos, membros pélvicos e região ventral (abdominal, inguinal e peitoral); foram dois casos acometendo região periocular e um caso na região do dorso. Das lesões, 10 foram caracterizadas por dermatite nodular eosinofílica, dos quais seis tiveram diagnóstico de habronemose cutânea. Foram seis diagnósticos de tecido de granulação exuberante, dois, dermatite granulomatosa e dois, linfoma cutâneo. Em conclusão, o perfil dos cavalos acometidos, a distribuição e diagnósticos das lesões foram similares aos descritos em literatura, mas verificou-se a necessidade da padronização da representação microscópica de casos suspeitos para habronemose cutânea, foram destacadas a imprecisão da biópsia incisional para o diagnóstico de lesões nodulares e a importância de diferenciar o linfoma de grandes células B rico em células T de lesões inflamatórias mononucleares.

61 **Palavras-chave:** tumores cutâneos, animais de grande porte, dermatopatologia, linfoma
62 cutâneo

Abstract

The nodular dermatopathies in equines are frequent causes of clinical and surgery care, although the neoplasms are important, non-neoplastic dermatopathies are the main differential diagnosis. Due to the lack of description about these pathological processes, profile of affected animals and difficulty in approaching some injuries, the goal was to characterize the profile of the affected animals and the patterns of non-neoplastic nodular dermatopathies and T-cell-Rich Large B cell lymphoma (TCRLBCL), during 2016 to 2020, using optical microscopy to perform the diagnoses in slides with histochemical stain, polarization and immunohistochemistry. For this purpose, a retrospective study in non-neoplastic nodular dermatopathies cases and suspected cases for TCRLBCL was performed. In total we had 20 cases of 19 animals, 13 was males and 7 females, one male was showing two lesions in a different time and location. Age ranged from two to 17 years. The most affected breed was Mangalarga Marchador totalizing six cases, after five cases in mixed-breed animals, five cases in Brasileira de Hipismo and one case in each of following horses: Crioulla, Quarto de Milha, Pampa, Campolina, Árabe and WestFallen. About lesions location, the most affected locations were preputial region totalizing seven cases, and then three cases in thoracic limbs, posterior limbs and ventral region (abdominal, inguinal and pectoral); there were two cases in periocular region and one case in dorsal region. These lesions, 10 were characterized by nodular eosinophilic dermatitis where six lesions were cutaneous habronemiasis. There were six diagnoses of exuberant granulation tissue, two granulomatous dermatitis, and two cutaneous lymphoma. In conclusion, the profile of affected animals, injuries distribution e diagnoses were similar to literature reports, but we conclude the necessity of patronization about trimming in habronemiasis suspected cases, highlight to incisional biopsy imprecision in nodular lesions diagnostic and the importance of differentiation for TCRLBCL to inflammatory mononuclear lesions.

97 **Keywords:** cutaneous tumors, big animals, dermatopathology, cutaneous lymphoma

INTRODUÇÃO

As formações nodulares cutâneas em equinos possuem elevada importância na rotina da clínica médica e cirúrgica desta espécie, da qual revela como principais lesões os processos neoplásicos como sarcoide, carcinoma espinocelular e papiloma (1). Embora esses processos nodulares neoplásicos tenham alta ocorrência, as dermatopatias nodulares não neoplásicas, divididas em inflamatórias e proliferativas, são de igual relevância e interesse, além de serem os principais diagnósticos diferenciais. No Brasil, por exemplo, sabe-se que as lesões inflamatórias nodulares com padrão eosinofílico e o tecido de granulação exuberante, estão entre as cinco lesões mais frequentes (1,2).

As lesões nodulares não neoplásicas em equinos apresentam uma distribuição de ocorrência difusa no território brasileiro, porém, estudos epidemiológicos prévios mostraram que as condições patológicas serão diferentes de acordo com os países abordados e, também dentro deles, pois estas estão associadas com a temperatura da região, época do ano, características do terreno, presença de vetores e patógenos circulantes (2,3). Assim, destaca-se a importância da correlação entre clínica, perfil do animal, realização de exame histopatológico e exames complementares para diagnósticos de doenças cutâneas nodulares infecciosas, ou não, e para a conclusão final da condição patológica do animal, bem como para proteger os médicos veterinários e outros que tenham contato com os animais de patógenos zoonóticos (3–5).

No que se diz respeito à essas dermatopatias tumorais não neoplásicas em equinos, os principais processos reconhecidos são habronemose, granuloma eosinofílico, pitiose, lesões por picada de artrópodes e tecido de granulação exuberante (2,6). A habronemose cutânea com ocorrência comum nos períodos de calor é causada por três parasitos larvares que colonizam o estômago do equino, a *Habronema muscae*, *Habronema majus* e *Draschia megastoma*; no entanto, para que o quadro dermatológico aconteça é necessário que o

mosquito deposite as larvas em alguma ferida cutânea pré-existente ou que a larva penetre a pele intacta caracterizando um ciclo cutâneo, assim como pode ocorrer em mucosa genital, cérebro (ciclo errático), pulmões e fígado (7). Posteriormente, nas apresentações cutâneas, as larvas invadem a derme profunda e provocam resposta eosinofílica acentuada e crônicas granulomatosas (8,9). Há importantes diagnósticos diferenciais a serem considerados na ausência da visualização da estrutura larvar, o primeiro deles é a pitiose causada pelo *Pythium spp*, que se trata de um oomiceto filamentosamente atualmente classificado no reino Stramenopila, separando-se dos verdadeiros fungos (10). A pitiose é a doença causada por esse oomiceto adquirida quando o animal busca ingerir água ou habita pastagem em áreas alagadas, uma vez que o zoósporo exibe seu ciclo em ambientes aquáticos, e a partir de uma lesão cutânea prévia infecta o animal (11). O outro diagnóstico diferencial entre as dermatopatias nodulares é o granuloma eosinofílico, para o qual a etiologia é incompletamente compreendida, porém, consideram as hipóteses de reação à picada de inseto ou dermatite atópica (12). Considerando os padrões lesionais e etiologias diferentes, o diagnóstico e caracterização histopatológica apresenta grande relevância para a adequada abordagem terapêutica e melhor prognóstico (3,13).

O tecido de granulação é uma lesão proliferativa frequente na rotina da clínica médica de equinos acima dos seis meses de idade, essa, apresenta alguma similaridade com os quadros de quelóide em humanos, porém, apresenta particularidades microambientais relacionadas com a ausência de colágeno queloidal e a presença de miofibroblastos nos equinos (14). Está associada com uma lesão prévia que tem como intenção a cicatrização tecidual por segunda intenção, no entanto, devido às desordens que ocorrem na proliferação fibroblástica e síntese de colágeno pelos fibroblastos, ao atraso da contração da ferida pelos miofibroblastos, oclusão da vasculatura profunda e consequente incitação contínua de neovascularização, ocorre a formação de um tecido de granulação volumoso, repleto de

angiogênese, fibroblastos e colágeno acompanhado por vezes de ulceração e processo inflamatório crônico (15). Esse processo ocorre na maioria das vezes nos membros torácicos e pélvicos, onde a resposta inflamatória é mais pronunciada quando comparadas a região de tronco, além da característica inflamatória, a isquemia tecidual provocada por uma oclusão de vasos cutâneos e a apoptose celular participam da contínua estimulação inflamatória e de reparação tecidual (14,16).

Dentre os processos cutâneos nodulares, há destaque o linfoma de grandes células B rico em células T, que ocorre principalmente nos equinos e gatos e, por sua vez, pode exibir uma apresentação clínica multinodular cutânea que pode ser confundida com os demais processo nodulares e que segundo relatos recentes representa o principal subtipo de linfoma diagnosticado em equinos (17). Esse processo se assemelha muito a dermatopatia inflamatória granulomatosa, já que sua composição heterogênea de células com grandes linfócitos neoplásicos B, pequenos linfócitos T e infiltração macrofágica e de células gigantes pode levar a confusão com resposta difusa granulomatosa (18,19). Contudo, apesar da semelhança morfológica, a abordagem terapêutica é diferente, assim como o prognóstico e o custo de tratamento (17,18). Quanto ao seu comportamento biológico, os casos onde a excisão cirúrgica é possível, mostram baixa recorrência local e sobrevida longa ainda pouco determinada, mas com relatos de sobrevida acima dos 10 anos, sem ainda um protocolo específico proposto para o tratamento dessa entidade neoplásica (18,20)

Nesse sentido, doenças como infecção por *Habronema* e *Onchocerca*, pitiose, esporotricose, histoplasmose, feohifomicose, herpesvírus tipo 2, granulomas idiopáticos, micobacteriose e granuloma por corpo estranho necessitam ser considerados como diagnósticos diferenciais dos processos nodulares e em especial do linfoma de grandes células B rico em linfócitos T (21,22). Reconhecidos os principais diagnósticos diferenciais das

lesões granulomatosas *versus* linfoma cutâneo, justifica-se a inclusão dessa neoplasia cutânea nesse estudo.

Embora atualmente tenham estudos que levantem e descrevam lesões nodulares cutâneas principalmente concentradas na América do Norte e Europa, já no Brasil os trabalhos são escassos e não há descrição clara do perfil dos animais acometidos. Recentemente, a grande parte dos artigos são oriundos da região Sul do Brasil (23). Levando em conta a necessidade e importância de descrever essas dermatopatias nodulares não neoplásicas, com exceção dos casos suspeitos para linfoma de grandes células B rico em células T cutâneo que foram inclusos, em equinos na capital de São Paulo, nosso estudo aborda a caracterização do perfil dos animais e, da microscopia dessas lesões que ocorreram durante os anos de 2016-2020.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi retrospectivo e baseado no arquivo do Hospital Veterinário da FMVZ-USP com amostras de tecido biológico oriundo dos atendimentos do serviço de Clínica Médica e Cirúrgica de Equinos submetidos a análise para o Serviço de Patologia Animal. Os critérios de inclusão foram s diagnósticos clínico e histopatológico de dermatopatias nodulares não neoplásicas e linfoma cutâneo em equinos, de qualquer raça ou sem raça definida, gênero ou idade, que foram atendidos no Hospital Veterinário (HOVET) da FMVZ-USP durante os anos de 2016 a 2020.

Das fichas dos animais foram retiradas as informações quanto à raça, sexo, idade e localização da lesão. O levantamento dos casos submetidos à análise histopatológica pelo Serviço de Patologia Animal do Departamento de Patologia Animal (VPT) da FMVZ-USP. Os dados macroscópicos foram obtidos das fichas analisadas junto ao Serviço de Patologia Animal. As localizações das lesões foram divididas em membros torácicos, membros

pélvicos, região ventral (abdominal, inguinal e peitoral), prepúcio, região de dorso e periocular.

O diagnóstico foi realizado mediante o uso de achados clínicos, macroscopia da lesão e aspectos microscópicos. As lâminas de histopatologia analisadas foram novamente recoradas por hematoxilina e eosina e, quando necessário, foram utilizadas as colorações especiais de Ácido Periódico de Schiff (PAS), coloração de Grocott, Ziehl Neelsen e Giemsa. Os casos de tecido de granulação exuberante e dermatites eosinofílicas por habronemose foram corados, também, com Picrosirius e foram submetidos à polarização no microscópio Eclipse Ni-U, Nikon, Japão. As lâminas foram analisadas por dois patologistas que desconheciam a identificação do caso e o diagnóstico prévio. Os tecidos biológicos em lâmina de vidro foram examinados em microscópio óptico seguindo os critérios de diagnóstico estabelecidos em literatura. As fotomicrografias foram realizadas no microscópio Opticam O400 (Estados Unidos da América), com sistema de captura de 5.2MP e sistema de captura utilizando câmera digital DS3 acoplada ao microscópio NiU (Nikon, Japão).

Os dados epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos foram organizados em quadros e gráficos como idade, gênero, raça, localização mais acometida por lesões e diagnóstico dos processos. Para a análise microscópica foram comparados os achados mais prevalentes que foram agrupados segundo o padrão morfológico predominante, assim, possibilitando o entendimento dos padrões de repetição morfológica que os casos com o mesmo diagnóstico apresentam. Posteriormente, os casos examinados foram agrupados segundo os seus diagnósticos gerais, tais como: tecido de granulação exuberante, dermatite eosinofílica, dermatite granulomatosa mononuclear e linfoma cutâneo.

Os dois casos com diagnóstico histopatológico para linfoma cutâneo não epiteliotrópico, sugerindo linfoma de grandes células B rico em células T e histiócitos foram submetidos à reação de imunohistoquímica para caracterização fenotípica das células. O

processamento dos blocos de parafina incluiu cortes histológicos de cinco micrômetros de espessura e adesão dos fragmentos obtidos em lâminas de vidro com adesivo organossilano (código K580, adesivo, StarFrost, Knittel glass, Alemanha) e mantidos em estufa a 60°C por 24 horas. Os cortes foram, a seguir, desparafinados em dois banhos de xilol a temperatura ambiente durante 20 e 10 minutos, respectivamente. Posteriormente, foram hidratados em sequência decrescente de etanol por 5 minutos, ou seja, etanol absoluto por duas vezes, a 95% e 70%, e lavados em água destilada por 5 minutos e em solução tampão de fosfato, pH 7,4 por 5 minutos.

O bloqueio de peroxidase endógena foi realizado em câmara escura por três incubações em água oxigenada 3% por 10 minutos, seguido de água corrente por 5 minutos, água destilada por 5 minutos e deixadas em PBS pH 7,4, por no mínimo 5 minutos. Para recuperação antigênica foi realizado em banho maria com tampão citrato pH 6,0, a 95°C por 20 minutos. Para o bloqueio de proteínas endógenas inespecíficas, as lâminas foram incubadas bloqueio de proteínas fornecido no kit de revelação (Spring, cod DPB 125, Biogen) por 10 minutos. A etapa seguinte foi a incubação dos espécimes com anticorpo primário CD3 (código A0425, Dako) e CD20 pab (Dako). Esses foram diluídos em solução de albumina bovina, fração V, a 1% (cod. A9647, Sigma). A diluição usada para o anticorpo policlonal anti-CD20 de coelho foi de 1:100 e para o anticorpo policlonal anti-CD3 de coelho foi de 1:100, cada anticorpo seguiu para a incubação *overnight* em câmara úmida a 4°C.

Após a incubação, as lâminas foram lavadas em PBS duas vezes por 5 minutos. O sistema de visualização envolveu a incubação com o anticorpo secundário (polímero Reveal complement (Spring, cod. DCMT-125) em câmara úmida por 10 minutos a 20-25 °C. O passo seguinte foi a incubação com terciário (Reveal HRP conjugate, Spring – cod. DHRR-125) por 15 minutos a 20-25 °C. A revelação da reação foi com solução cromógena de diaminobenzidina (DAB, 3.3' – diaminobenzidine, cod. D5637, Sigma) a 0,03% acrescida e

ativada com 1,2 ml de água oxigenada 3%. O tempo mínimo de revelação foi de 1 minuto com bloqueio em água.

Por fim, os cortes foram lavados em água corrente por 10 minutos, contracorados com hematoxilina de Harris (Merck), lavados abundantemente em água corrente, desidratados em etanol, cujas soluções estarão em concentração crescente. A montagem das lâminas foi feita com resina Permount (Fischer scientific, cod. SP 15-1000).

A reação foi realizada com controle positivo de tecido linfoide e tecido sem a adição do anticorpo primário para atestar a veracidade da mesma. O resultado foi considerado positivo quando as células exibiram marcação em marrom no citoplasma e membrana e foi considerado na interpretação do resultado a distribuição, a quantidade de células marcadas em porcentagem e o tipo de célula marcado.

RESULTADOS

Foram estudadas 20 lesões nodulares cutâneas provenientes de biópsia incisional e excisional, de 19 animais, sendo que um deles apresentou lesões cutâneas em duas localizações diferentes (metacarpo e escápula) e em épocas distintas. No que se diz respeito ao sexo, 13 (68%) animais eram machos e 7 (32%) foram fêmeas. A idade dos animais variou de 19 dias aos 17 anos de idade, com média de idade de 8,61 e desvio padrão de 4,89 anos. O predomínio das lesões ficou entre os 4 e 8 anos de idade (9/19), totalizando 47,36% das dermatopatias estudadas concentradas nessa faixa etária. O Quadro 1 apresenta os dados epidemiológicos e clínicos dos casos estudados.

Com relação as raças acometidas, foram 6 (31,57%) casos em Mangalarga Marchador, 5 (26,31%) em sem raça definida, 2 (10,52%) em Brasileira de Hipismo, e completando 1 (5,26%) caso para cada uma das raças: Crioula, Quarto de Milha, Campolina, American Trotter e Árabe (gráfico 1).

As localizações das lesões foram de 7 (35%) casos no prepúcio, 4 (20%) nos membros pélvicos, 3 (15%) nos membros torácicos, 3 (15%) na região ventral, 2 (10%) na região periocular e 1 (5%) no dorso (Gráfico 2). Apenas um caso (número 16) não constava a localização precisa da lesão, informando somente o membro acometido. A localização exata das lesões pode ser acessada no quadro 1.

Das 20 lesões, 10 (50%) delas foram diagnosticadas por dermatites eosinofílicas, 6 (30%) por tecido de granulação exuberante, 2 (10%), linfomas de grandes células B rico em células T e 2 (10%), por dermatite granulomatosa mononuclear (gráfico 3).

Quadro 1. Distribuição dos casos de equinos com diagnóstico de dermatite nodular cutânea segundo sexo, idade, raça, localização topográfica das lesões e diagnóstico morfológico

Nº	Sexo	Idade	Raça	Localização	Diagnóstico geral
01	M	8 anos	Mangalarga	Prepúcio	Dermatite eosinofílica por Habronemose
02	M	9 anos	Mangalarga	Boleto de MTE ¹	Dermatite eosinofílica
03	M	13 anos	SRD	Prepúcio	Dermatite eosinofílica por Habronemose
04	M	6 anos	Mangalarga	Boleto de MPD ²	Dermatite eosinofílica por Habronemose
05	F	4 anos	Árabe	periocular	Dermatite eosinofílica por Habronemose
06	F	8 anos	SRD	Inguinal direita	Dermatite eosinofílica
07	M	4 anos	Mangalarga	Metacarpo esquerdo	Dermatite eosinofílica por Habronemose
08	M	17 anos	Br. De Hipismo ³	Prepúcio	Dermatite eosinofílica e linfocitocítica
09	M	4 anos	Mangalarga	Escápula	Dermatite eosinofílica
10	M	16 anos	Campolina	prepúcio	Dermatite eosinofílica por Habronemose
11	M	19 dias	Crioula	Peito	Tecido de granulação exuberante
12	F	10 anos	SRD	Boleto de MPD ²	Tecido de granulação exuberante
13	M	15 anos	Westfallen	Periocular	Tecido de granulação exuberante
14	M	7 anos	SRD	Prepúcio	Tecido de granulação exuberante
15	F	12 anos	SRD	Abdômen	Tecido de granulação exuberante
16	M	6 anos	Quarto de Milha	MPE ⁴	Tecido de granulação exuberante
17	F	7 anos	Br. De Hipismo	Dorso	Dermatite granulomatosa mononuclear ⁵
18	M	15 anos	Pampa	Prepúcio	Dermatite granulomatosa mononuclear ⁶
19	F	2 anos	Mangalarga	Face medial proximal de MPD ²	LGCB-RTH ⁷
20	M	4 anos	Mangalarga	Prepúcio	LGCB-RTH ⁷

¹MTE = Membro torácico esquerdo

²MPD = Membro pélvico direito

³Br. De Hipismo = Brasileira de Hipismo

⁴MPE = Membro pélvico esquerdo; Localização precisa não informada

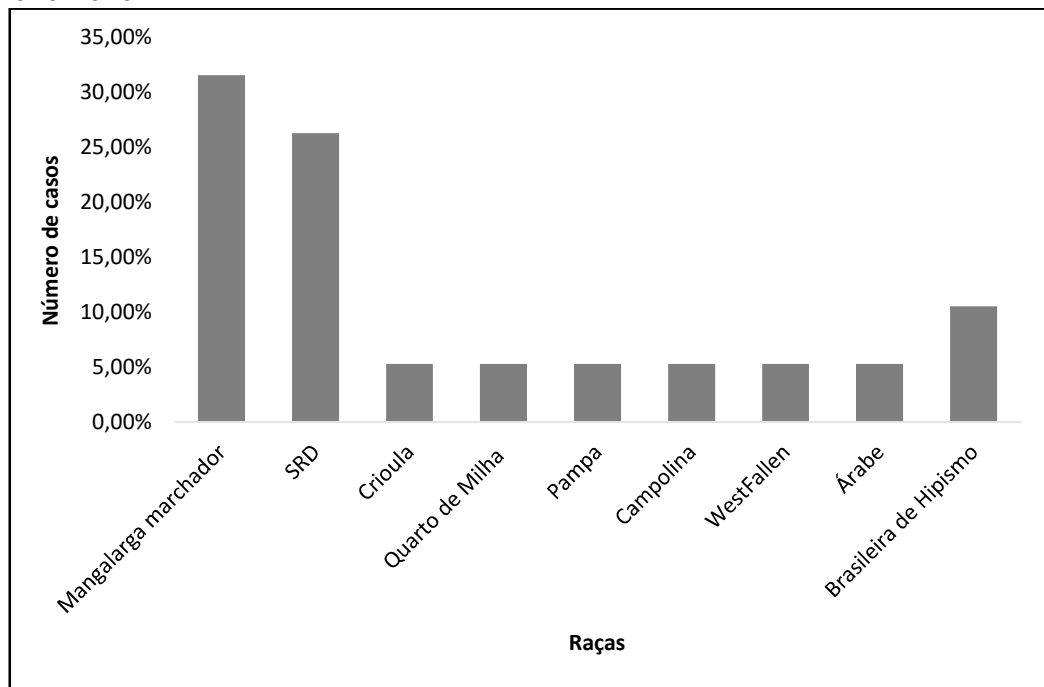
⁵Dermatite por corpo estranho

⁶Dermatite por *H. gingivalis*

⁷LGCB-RTH = Linfoma de grandes células B rico em células T e histiócitos

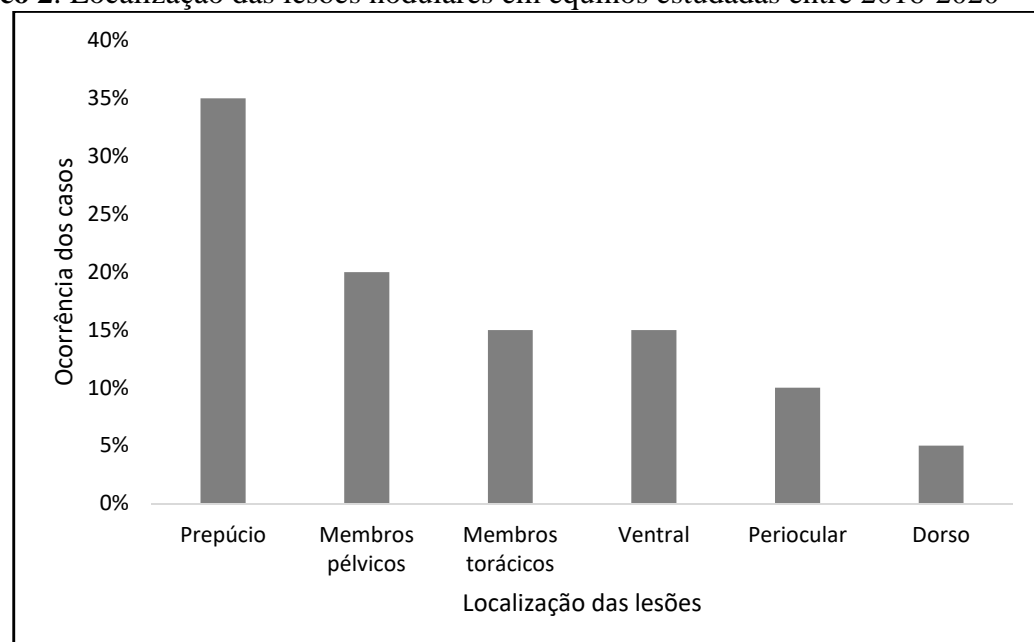
Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

Gráfico 1. Raças de equinos acometidos por dermatopatias nodulares cutâneas diagnosticadas entre 2016-2020



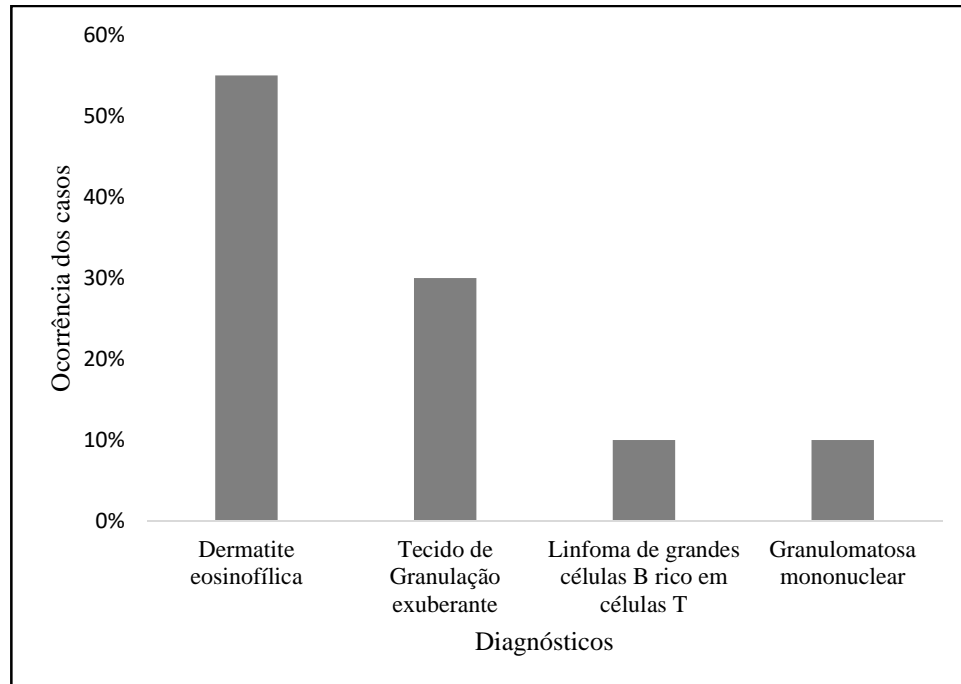
Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

Gráfico 2. Localização das lesões nodulares em equinos estudadas entre 2016-2020



Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

Gráfico 3. Diagnósticos morfológicos das lesões nodulares cutâneas em equinos estudados de 2016 a 2020



Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

A análise microscópica permitiu agrupar em quatro padrões morfológicos as lesões nodulares em equinos: 1. dermatite eosinofílica difusa com ou sem presença de agente etiológico; 2. tecido de granulação exuberante; 3. Dermatite nodular granulomatosa com ou sem agente etiológico; 4. linfoma de grandes células B rico em linfócitos T.

Os equinos acometidos por dermatite eosinofílica com ou sem agente etiológico intralesional foram na maioria machos (8/10), com machos 4x mais acometidos em relação as fêmeas, com idade variando de 4 a 17 anos e com lesões localizadas em prepúcio>membros>periocular, inguinal e escapular. Em 6/10 casos foi possível observar a presença de estruturas larvares que segundo a morfologia e resposta indicavam a condição de

habronemose. O tamanho das larvas nos materiais examinados variou de 30 µm a 43 µm para os cortes transversais e ficaram próximo dos 150 µm para os cortes longitudinais. Em 4/10 casos não foi possível identificar um agente etiológico; entretanto, era possível notar regiões multifocais de granulomas eosinofílicos com necrose multifocal, ulceração epidérmica e a inflamação eosinofílica difusa acentuada, assim como encontrado nos materiais onde as estruturas larvares eram perceptíveis. Nos seis casos de habronemose os fragmentos encaminhados foram excisionais (dado não informado), o que possibilitou fazer recortes e aprofundar os blocos várias vezes. Os diagnósticos morfológicos e o tamanho das biópsias recebidas no Serviço de Patologia Animal podem ser consultados no Quadro 2.

Quadro 2. Diagnóstico morfológico e tamanho das biópsias recebidas nos casos de dermatites eosinofílicas dos equinos estudados de 2016 a 2020

Nº	Tamanho da Biopsia	Diagnóstico morfológico	Achados secundários
01	9,7 x 6,0 x 8,6 cm e 9,5 x 3,8 x 5,6 cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	ortoqueratose, hiperplasia epidérmica, hidradenite e inflamação perianexial linfoplasmocítica no tecido adjacente
03	1,5 x 0,8 x 1,0 cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	crosta serocelular, paraqueratose e hiperplasia epidérmica
04	2,8 x 1,4 x 1,9 cm e 2,0 x 1,5 x 1,2 cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	paraqueratose, hiperplasia epidérmica e furunculose
05	5,5 x 2,5 x 0,8 cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	crosta serocelular, hiperplasia epidérmica e vasculite
07	2,5x2,0x4,0cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	crosta serocelular, ortoqueratose, hiperplasia epidérmica e formação de tecido de granulação
10	5,0 x 3,8 x 4,0 cm e 4,5 x 4,5x 2,2 cm	Dermatite eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	crosta serocelular, ortoqueratose, hiperplasia epidérmica, necrose de glândula sebácea e trombos em capilares
02	1,0 x 0,5 x 0,5 cm e 1,0 x 0,5 x 0,3 cm	Dermatite eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal	paraqueratose, hiperplasia epidérmica e colagenólise
06	4,5 x 4,3 x 3,5 cm	Dermatite e paniculite septal eosinofílica ulcerada, difusa, moderada	crosta serocelular, paraqueratose, hiperplasia epidérmica, edema intersticial, hemorragia profunda
09	6,2 x 2,0 x 2,3 cm	Dermatite, paniculite e miosite eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, associadas à piogranulomas com o centro necrótico na derme profunda, tecido de granulação exuberante, fibroplasia e cistos de protozoário intramiócitos compatíveis com <i>Sarcocystis</i> spp	crosta serocelular, hiperplasia epidérmica, foliculite mural e luminal neutrofílica e colagenólise
08	0,6 x 0,4 x 0,4 cm	Dermatite hiperplásica ulcerada, eosinofílica e linfohistiocítica, difusa, marcante.	crosta serocelular e hiperplasia epidérmica

Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

Dois casos, dos quatro casos que não foram possíveis determinar a etiologia, tratavam-se de biópsias incisionais (dado não informado). Nestes, a lesão se caracterizou por processo inflamatório misto eosinofílico e linfohistiocítico difuso (figura 1), um desses casos, mostrava áreas de collagenólise e focos de necrose, contudo, sem um agente etiológico evidente.

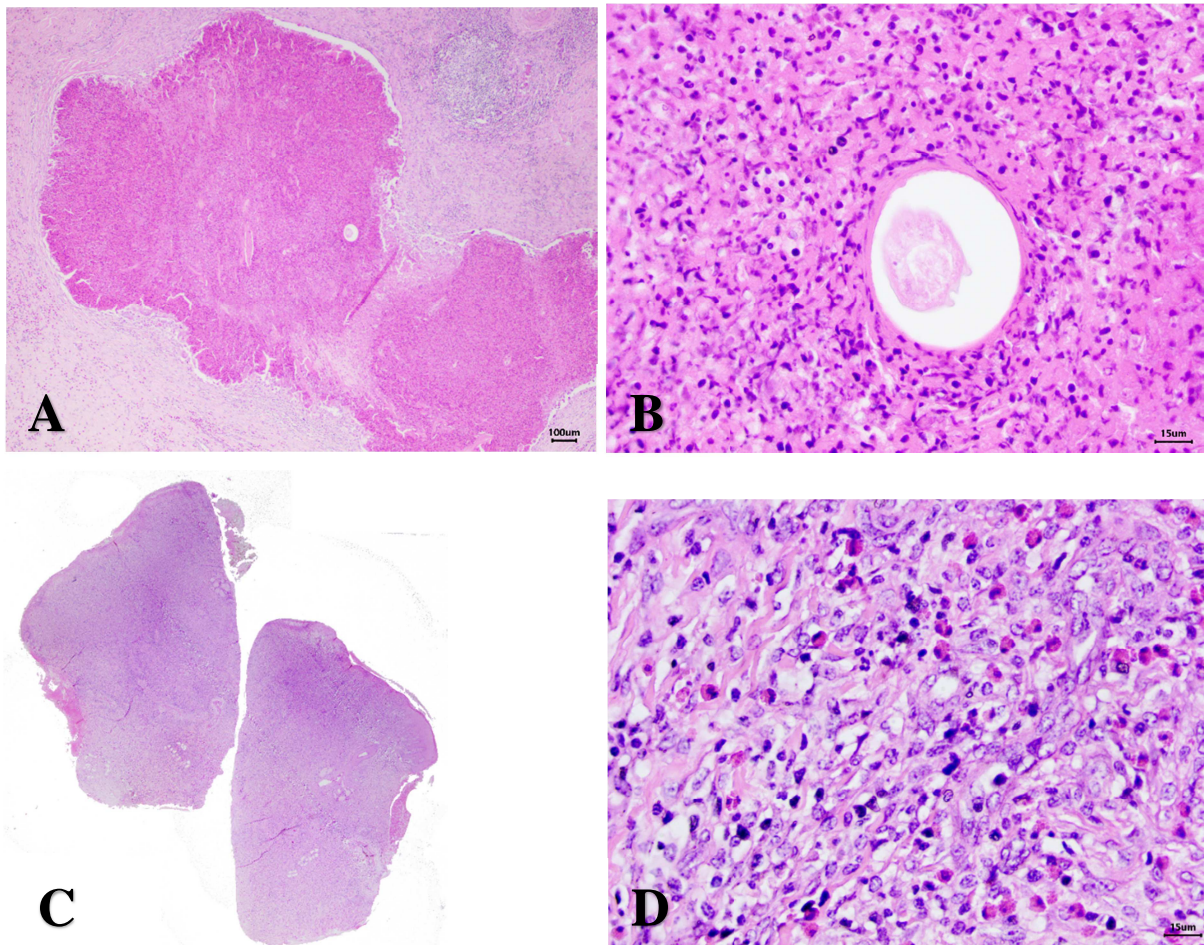


Figura 1. A. Equino, dermatite nodular eosinofílica, Habronemose cutânea, caso 03, coloração em Hematoxilina e Eosina. Notar extensa área de dermatite eosinofílica, com necrose central associada à presença de uma estrutura larvar (maior aumento na figura 1B), aumento de 40x, barra de 100 µm. B. Maior aumento da figura 1A. Há um corte transversal degenerado de uma estrutura larval, aumento de 400x, barra de 15 µm. C. Equino, Dermatite eosinofílica e linfohistiocítica, difusa, acentuada, caso 08, coloração em Hematoxilina e Eosina. Recortes teciduais cutâneos em uma foto panorâmica representando sua extensão que compromete os fragmentos inteiros, provenientes de biópsia incisional por punch. D. Equino, Dermatite eosinofílica e linfohistiocítica, difusa, acentuada, coloração em Hematoxilina e Eosina. Maior aumento da figura 1C, revelando processo inflamatório eosinofílico e linfohistiocítico, aumento de 400x, régua de 15 µm. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

Os cavalos diagnosticados como tecido de granulação exuberante foram na maioria machos 4/6 (com machos acometidos duas vezes mais do que as fêmeas), idade variável de 6 a 15 anos e cujas lesões estavam localizadas em diferentes regiões de periorbital, membros, prepúcio, peito e abdômen. Microscopicamente, a maioria (5/6) compartilhavam a característica de ter uma ulceração epidérmica, e fibroplasia acentuada somada a neovascularização, cujos vasos exibiam endotélio com aumento do volume nuclear e muitas vezes organizando-se por vezes, perpendicular à epiderme e mais organizados de acordo com a maturação do processo, no entanto, em todos havia o predomínio de tecido frouxo e com pouca deposição de colágeno próximo a ulceração e nos trechos mais profundo aumento da organização dos vasos e maior deposição de fibras de colágeno (figura 2).

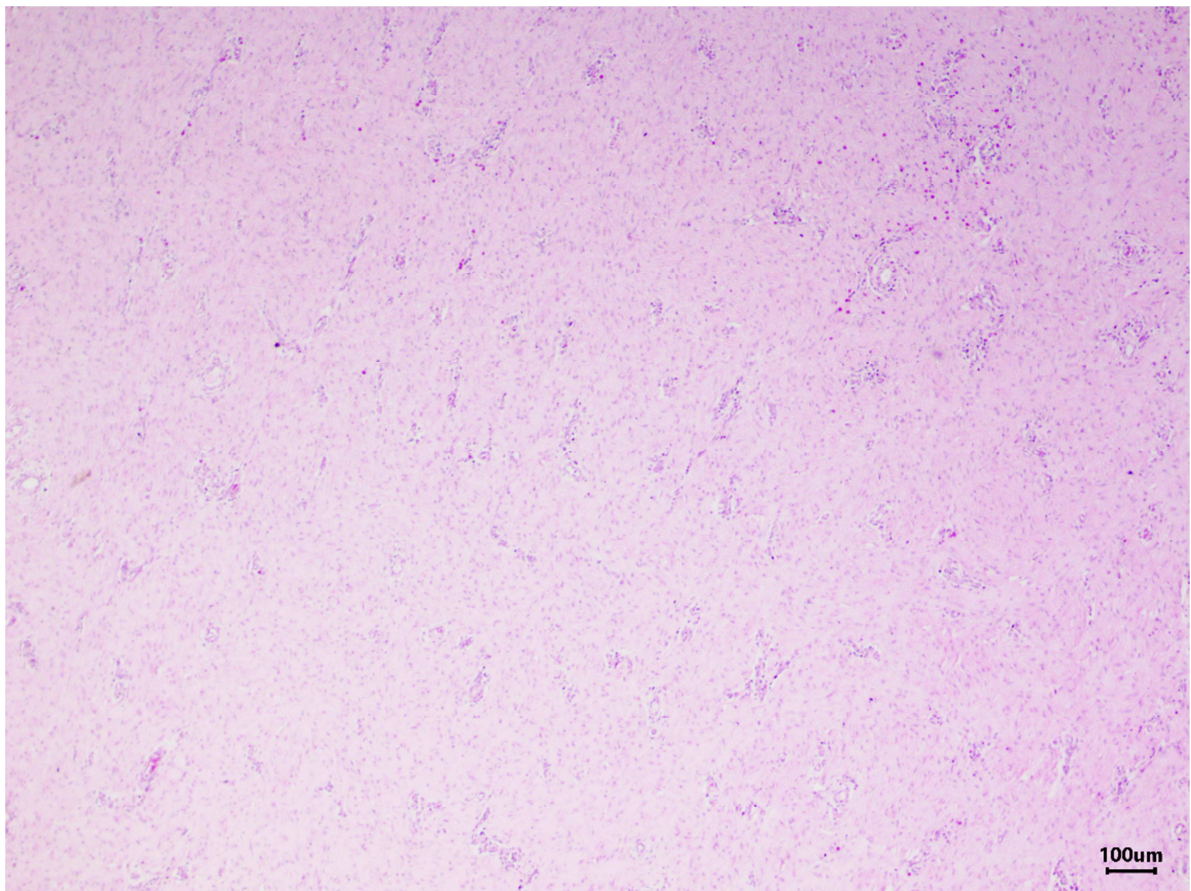
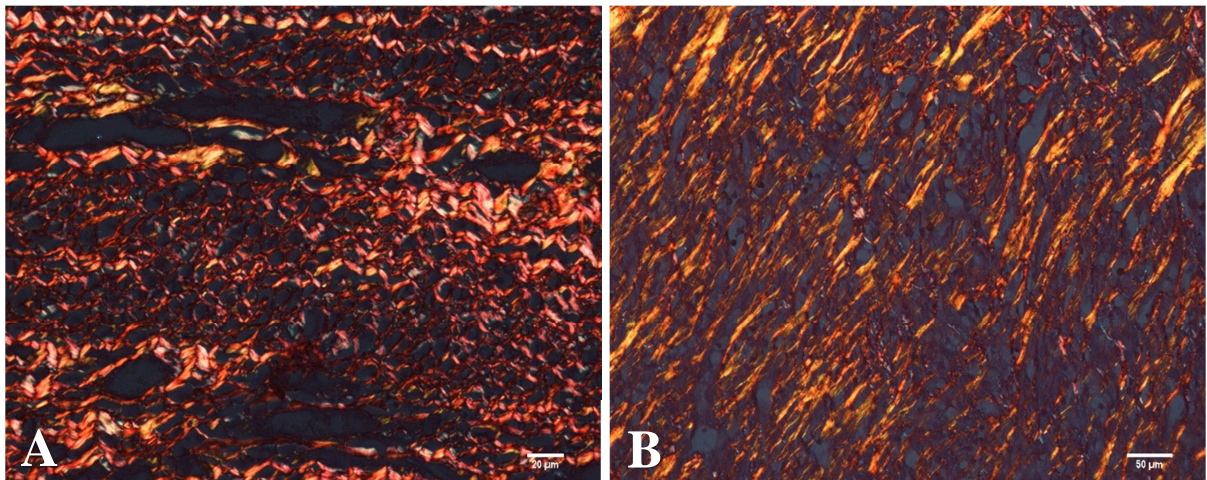


Figura 2. Equino, lesão nodular cutânea caracterizada por tecido de granulação exuberante, caso 15. O tecido é densamente povoado por fibroblastos, colágeno pouco organizado e neovascularização, cujos vasos se organizam e tendem a se disporem perpendiculares aos feixes de colágeno. Recorte corado em Hematoxilina e Eosina, aumento de 40x, régua de 100 µm. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

À coloração com Picrosirius e posterior polarização, revelou que os tecidos de granulação exuberantes são compostos predominantemente por colágeno do tipo 1. Apenas nas regiões próximos aos vasos que, se organizam em trajeto perpendicular nesses tecidos neoformados, mostraram a presença de discreta quantidade de colágeno tipo III. As dermatites por habronemose também se apresentavam em sua totalidade por colágeno do tipo I, no entanto, chamou a atenção a organização e espessura das fibras colágenas que se diferiam nos dois processos. O tecido de granulação exuberante exibiu fibras colágenas delgadas, em projeções paralelas discretamente tortuosas (figuras 3.A e 3.B). Apenas nas circunjacências dos leitos vasculares formados foi vista a presença de colágeno tipo III. Enquanto que os casos de habronemose as fibras colágenas eram mais espessas e eventualmente notavam-se agregados densos de colágeno (figuras 3.C). Como comparativo, uma derme normal apresenta-se densamente colagenosa, por fibras colágenas do tipo 1 (figura 3.D).



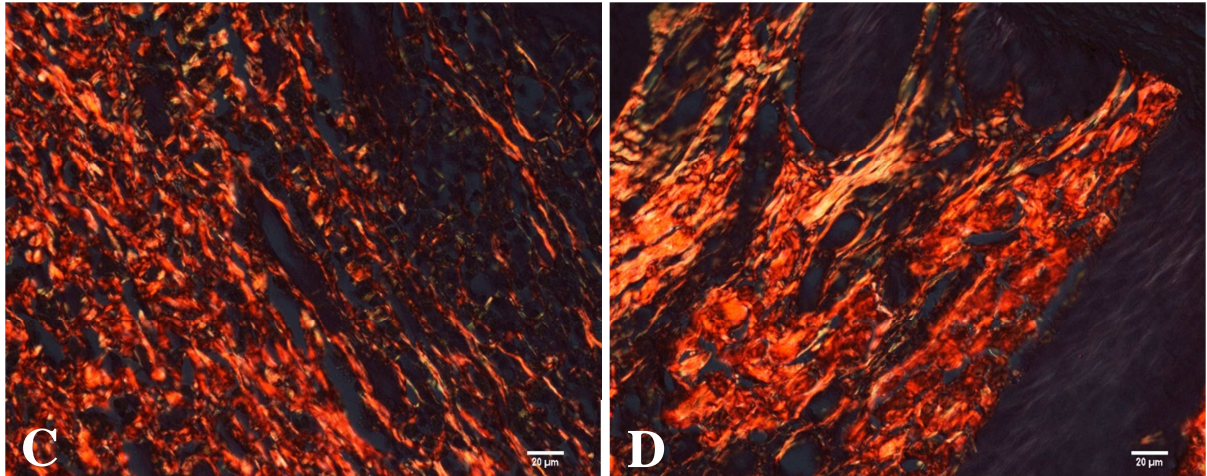


Figura 3. Lâminas coradas em Picrosirius e submetidas a polarização. **A.** Equino, tecido de granulação exuberante, caso 14. Notar que as fibras amareladas de colágeno I são paralelas e discretamente tortuosas, com espessura delgada, aumento de 400x, régua de 20 µm. **B.** Equino, tecido de granulação exuberante, caso 11. As fibras de colágeno I são paralelas e mostram-se mais retilíneas nessa imagem, aumento de 200x, régua de 50 µm. **C.** Equino, dermatite eosinofílica por habronemose, caso 05. Notar que as fibras são mais desorganizadas, possuem maior espessura e formam pequenos agregados mais densos, aumento de 400x, régua de 20 µm. **D.** Equino, derme superficial normal, caso 05. As fibras são de colágeno tipo I com alta densidade, aumento de 400x, régua de 20 µm. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

Cavalos com o diagnóstico de dermatite granulomatosa mononuclear foram de ambos os gêneros, idade 7 ou 15 anos e as lesões estavam localizadas em dorso e prepúcio. Em ambos casos (número 17 e 18) foram encontrados agente etiológico intralesional. O caso 17 mostrou processo inflamatório difuso, macrófago e linfoplasmocítico, com formação de folículos linfoides na derme profunda, onde centralmente observou-se extensa área de necrose, células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho e presença de estrutura circunscrita, refringente à microscopia, pigmentada e medindo 35 x 23 µm e com uma parede de 8,68 µm de espessura, compatível com corpo estranho (figura 4). Já o caso 18, revelava um processo inflamatório dérmico composto por histiócitos, macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas, além de linfócitos e plasmócitos, com destaque para a visualização de numerosos parasitos compatíveis com *Halicephalobus* sp. em diferentes estágios de desenvolvimento, compreendendo ovos, larvas e fêmeas adultas. O nematoide adulto apresentava de 250 a 460 µm de diâmetro, já o ovo media 55 µm. Nesse mesmo caso de infecção por *Halicephalobus* sp., o cavalo também apresentava carcinoma espinocelular adjacente à lesão prepucial (figura 5).

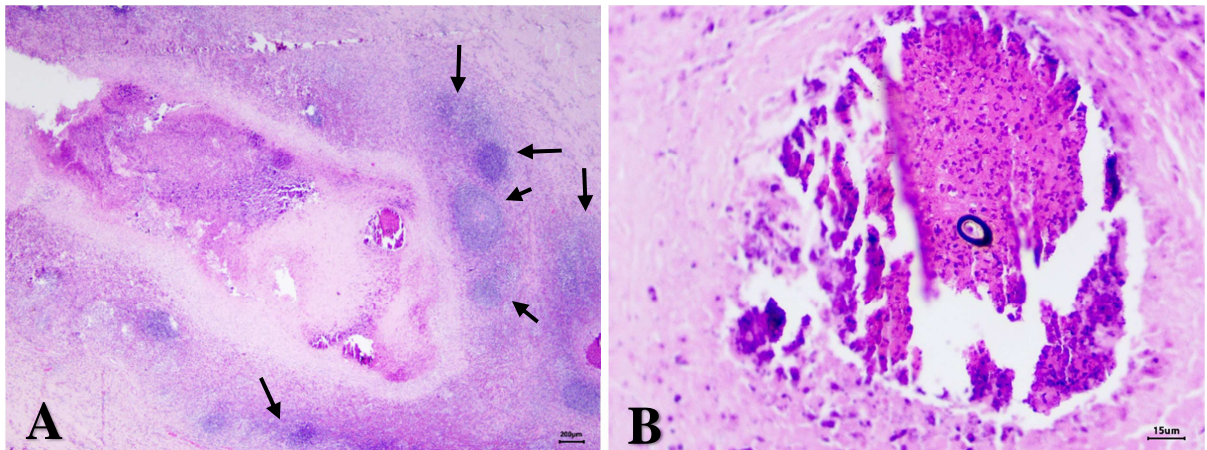


Figura 4. A. Equino, dermatite granulomatosa com presença de corpo estranho, caso 17. O processo inflamatório revela uma distribuição nodular a difusa, com importante área central de necrose. Merece destaque a formação de folículos linfoides na periferia da necrose (setas), contendo vários linfócitos jovens, aumento de 200x, régua de 200 µm. B. Equino, dermatite granulomatosa com presença de corpo estranho. Notar que no centro da necrose há um corpo estranho com parede espessa, pigmentada (enegrecida) e refringente, aumento de 400x, régua de 15 µm. Recortes corados em Hematoxilina e Eosina. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

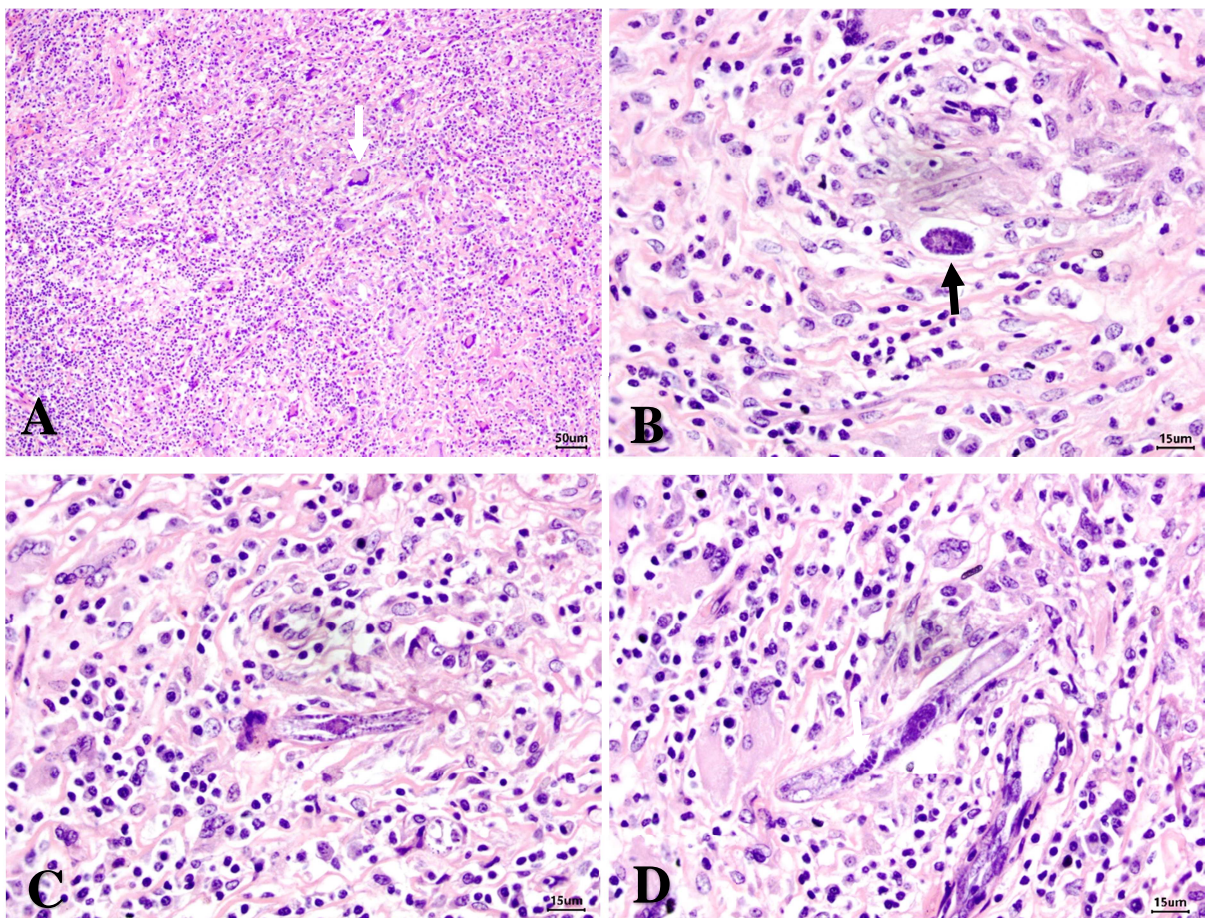


Figura 5. Equino, com dermatite granulomatosa por *H. gengivalis*, caso 18. A. Notar a alta celularidade composta principalmente por histiócitos, linfócitos e células gigantes multinucleadas (seta), aumento de 10x, régua de 50 µm. B. Em meio ao processo inflamatório mononuclear visualiza-se um zigoto em desenvolvimento, aumento de 400x, régua de 15 µm. C. Observar um corte longitudinal do parasito que permite a visualização do esôfago, aumento de 400x, régua de 15 µm. D. Neste corte longitudinal é possível observar o ovário (seta)

flexionado dorsalmente e um ovo grande uninucleado (cabeça de seta), aumento de 400x, régua de 15 µm. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

Os cavalos com diagnóstico de linfoma cutâneo não epiteliotrópico, morfológicamente compatíveis com linfoma de grandes células B rico em células T e macrófagos. Um dos animais (caso 20) era um macho de 4 anos de idade, com lesão prepucial (figura 6) e o outro uma fêmea de 2 anos de idade com lesão em região de coxa do membro pélvico direito (caso 19). Ambas lesões mostravam o processo dérmico nodular profundo, bem delimitado, mas não encapsulado, composto por células que se organizavam em um tapete celular denso, entremeadas por discreto estroma fibrovascular. As células apresentavam-se heterogêneas, onde 10% da população aproximadamente, exibia linfócitos grandes com o núcleo medindo mais de duas hemácias de diâmetro, cromatina frouxa e frequente nucléolo central único. Havia outra população linfocitária essa composta por pequenas células, de núcleo medindo de 1 a 1,5 hemácia de diâmetro e cromatina densa, sem percepção de nucléolo (figura 7). Acompanhavam nas duas lesões, alguns plasmócitos, eventualmente mostrando aparência de células de Mott e, por fim, uma quantidade moderada de macrófagos, ocasionalmente, multinucleados (células gigantes multinucleadas). Foram realizadas as colorações histoquímicas Ziehl Neelsen, Grocott e PAS, todas negativas para agentes infecciosos.

A reação de imuno-histoquímica revelou marcação heterogênea e que evidenciou número menor de células com núcleos grandes atípicos positivas para CD20 (figuras 8A e 9A) e maior número de células menores positivas para CD3 (figuras 8B e 9B). Os resultados foram interpretados e compatíveis com linfoma de grandes células B rico em linfócitos T e histiócitos.



Figura 6. Equino, aspecto clínico de lesão multinodular de Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 20. Notar que a lesão revela nódulos distribuídos no subcutâneo na região do prepúcio e inguinal (cabeça de seta). Alguns estavam ulcerados (seta). Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

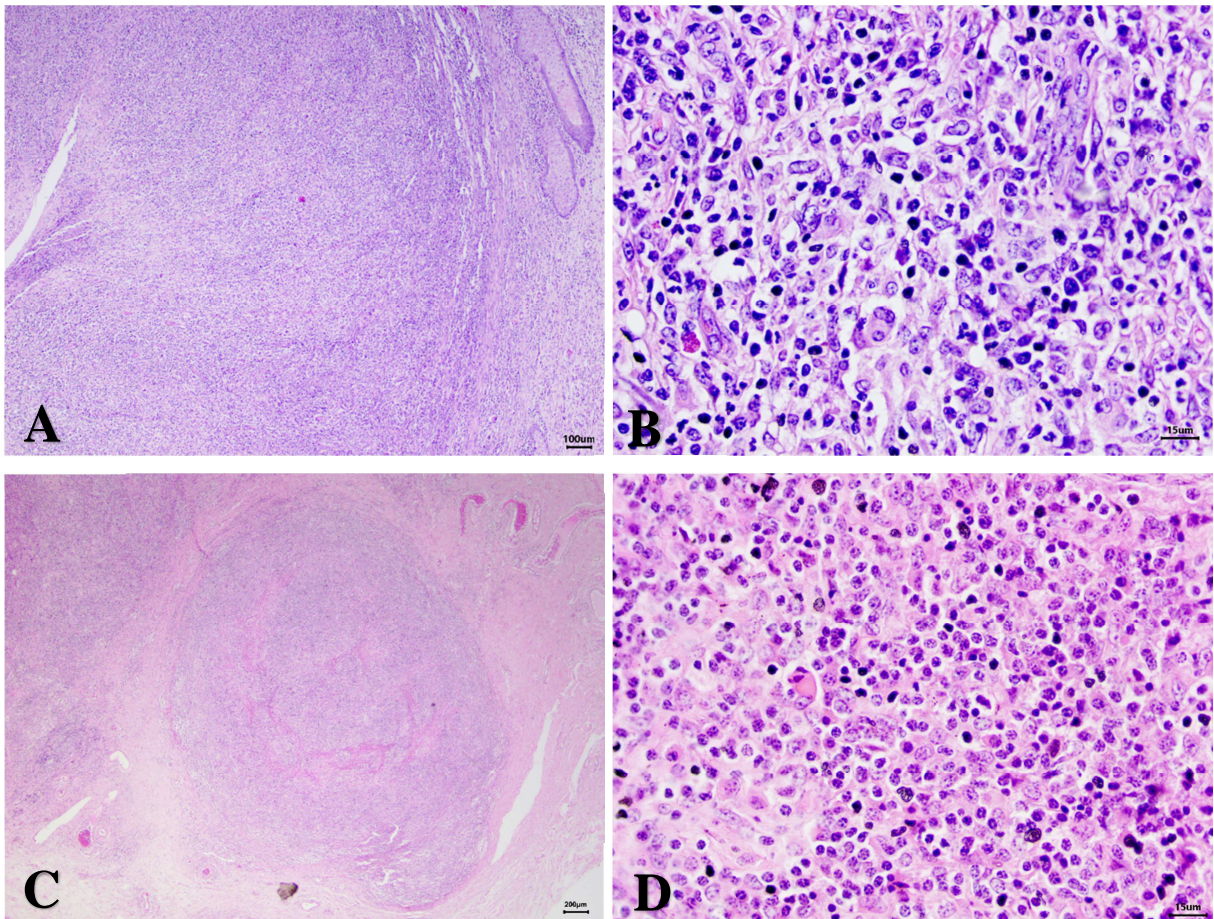


Figura 7. Recortes corados em Hematoxilina e Eosina. **A.** Equino, Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 20. Há uma formação nodular, bem delimitada, não encapsulada, rica em células. À direita nota-se tecido cutâneo adjacente preservado com discreta compressão da glândula sebácea nesse campo, aumento de 40x, régua de 100 μ m. **B.** Maior aumento da figura 7A. Presença de alta celularidade heterogênea, principalmente composta por pequenos linfócitos de cromatina densa e, em menor quantidade, há linfócitos neoplásicos de cromatina frouxa e histiócitos completando, aumento de 400x, régua de 15 μ m. **C.** Equino, Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 19. Notar a formação de

dois nódulos basofílicos na derme, não encapsulados, aumento de 20x, régua de 200 µm. **D.** Maior aumento da figura 7C área do nódulo. A celularidade é heterogênea, variando de pequenos linfócitos de cromatina densa até grandes células com cromatina frouxa, aumento de 400x, régua de 15 µm. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

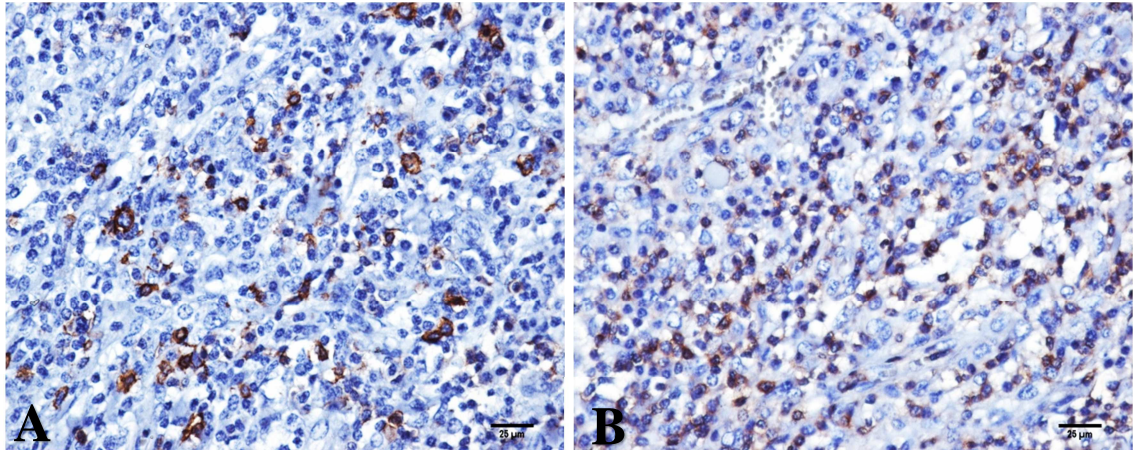


Figura 8. Equino, Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 19. **A.** A fotomicrografia mostra marcação positiva para CD20 em células grandes, aumento de 400x, régua de 25 µm. **B.** Imunomarcação positiva para CD3 em células pequenas, aumento de 400x, régua de 25 µm. Recortes contracolorados em Hematoxilina Harris. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

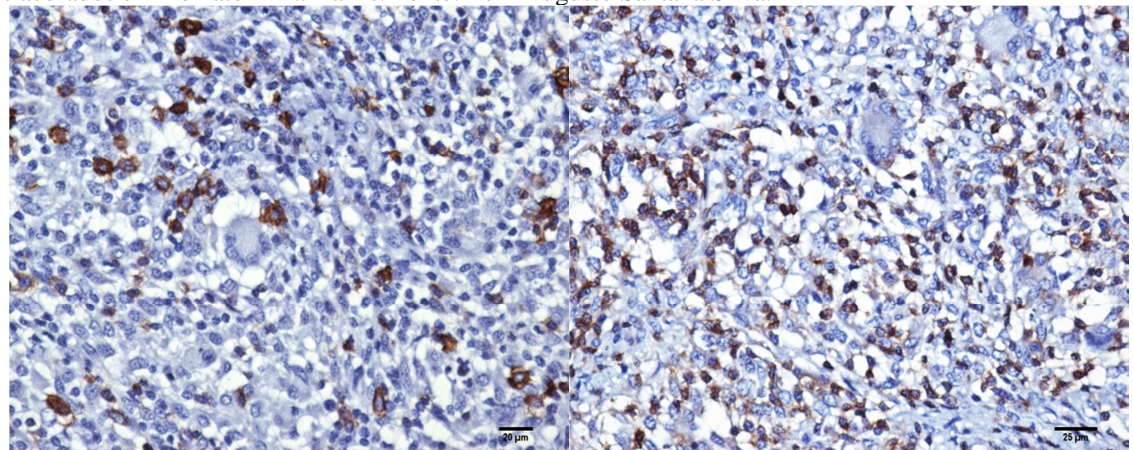


Figura 9. Equino, Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 20. **A.** A fotomicrografia mostra marcação positiva para CD20 em células grandes, aumento de 400x, régua de 20 µm. **B.** Imunomarcação positiva para CD3 em células pequenas, aumento de 400x, régua de 25 µm. Recortes contracolorados em Hematoxilina Harris. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

DISCUSSÃO

O estudo caracterizou o perfil dos cavalos acometidos por lesões nodulares cutâneas inflamatórias, incluindo casos de linfoma não epiteliotrópico, diagnosticadas de 2016 a 2020. Os cavalos acometidos foram na maioria machos, com idade variável de 2 a 17 anos e cujas lesões estavam localizadas em prepúcio> membros> inguinal, abdominal, dorso, escapular, periocular e peito. Este perfil dos cavalos acometidos é próximo aos descritos por outros autores, assim como as regiões afetadas, no entanto, a maioria dos estudos incorporam nas

lesões estudadas os processos neoplásicos (2). O gênero e idade dos animais não são considerados fatores que auxiliam no diagnóstico de lesões nodulares em equinos, uma vez que os artigos são escassos e com número restrito de casos (6). Entretanto, autores apontam que granuloma eosinofílico e granulomas por fungos, bem como tecido de granulação exuberante, ocorrem em animais com 10 anos ou mais jovens (6). As raças de cavalos não foram consideradas como um fator predisponente para o acometimento por essas lesões, assim como em outros estudos (2,24).

As lesões eosinofílicas se destacaram, principalmente os quadros de habronemose cutânea, que diferentemente de outros autores, essa lesão foi a principal causa de dermatite nodular nos equinos desse estudo (2,3). De acordo com os estudos prévios das lesões eosinofílicas, a maior casuística se concentra em casos de pitiose cutânea (1,2). A habronemose embora não tenham uma predisposição racial, sexual e etária, parecem concentrar-se principalmente na região prepucial, convergindo com nossos resultados, já que metade dos casos diagnosticados de habronemose com a presença de larva no trabalho foram no prepúcio (25). Microscopicamente, os casos de habronemose cutânea mostram um processo inflamatório eosinofílico difuso, normalmente acentuado, somado a áreas multifocais de necrose que eventualmente podem revelar a presença do parasito (8). Curiosamente, devido todo o processo inflamatório incitado e a resposta tecidual, segundo nossos achados, as larvas parecem fazer localização profunda, dado que nos cortes teciduais de biópsia por punch, em nenhum caso foi possível a realização do diagnóstico etiológico. E, em cortes de tecidos acima de três centímetros, foram necessárias mais de três clivagens em profundidades diferentes do material para a observação do parasito. A excisão cirúrgica da lesão além da contribuição para o diagnóstico no que tange a representatividade do tecido, também contribui positivamente com o tratamento do animal uma vez que retira o tecido com

517 acentuada resposta inflamatória e os parasitos que incitam a inflamação, ademais a cirurgia é
518 somada a outros fármacos de ação local e sistêmica no tratamento dessa enfermidade (26).

519 Das biópsias incisionais por punch não foi possível a conclusão da etiologia do
520 processo, que pode estar intimamente associado com a baixa profundidade do corte e,
521 ademais, deve-se, portanto, levar em consideração o diagnóstico diferencial das demais
522 dermatopatias nodulares eosinofílicas nos equinos e não permite afastar por completo
523 habronemose cutânea (8,11,12). Os quadros de granulomas eosinofílicos, assim como a
524 habronemose, também não possui predisposição racial, sexual ou etária, porém, costuma
525 acometer a região de cernelha e dorsal em sua totalidade; microscopicamente, apresentam
526 necrose central massiva, contendo eosinófilos degranulados e colagenólise variável, podendo
527 ser inexistente na lesão, com possibilidade de focos de mineralização em lesões crônicas
528 (8,12). Conforme visto, um dos nossos casos de biópsia revelou a inflamação eosinofílica
529 difusa, focos de necrose discreta pelo pequeno tamanho do fragmento e colagenólise, porém,
530 sem a visualização de nematoide intralesional. No entanto, localizava-se na região do boleto
531 em membro pélvico esquerdo, podendo favorecer um quadro de habronemose por ser uma
532 frequente região de traumas, mas, a ausência de uma extensão maior do fragmento pela
533 técnica de coleta incisional pode ter inviabilizado a confirmação.

534 Embora a pitiose cutânea também ocorra em épocas quentes com maior precipitação,
535 não tenha predileção por raça, sexo ou idade, os casos costumam acontecer com maior
536 frequência na região sul do país, além disso, mostra achados microscópicos que podem se
537 distinguir da habronemose cutânea (27,28). Microscopicamente, observa-se um padrão
538 inflamatório muito semelhante à resposta de casos de habronemose, no entanto, pode-se
539 perceber a presença de pseudohifas fúngicas e, eventualmente, a reação de Splendore-Hoepli,
540 que se caracteriza por uma deposição amorfa acidofílica nas circunjacências do fungo devido
541 a secreção de globulinas pelos plasmócitos (28). No nosso estudo não foram encontrados

casos de pitiose cutânea, embora seja de nosso conhecimento a ocorrência de casos de pitiose na casuística do HOVET (dados não informados).

O tecido de granulação exuberante costuma ocorrer nos membros pélvicos e em porções distais deles (12), todavia, em nosso estudo houve uma distribuição variada da localização dessas lesões, desde região rostral até o boleto de membro pélvico direito. Do ponto de vista microscópico essas lesões trazem um importante diagnóstico diferencial para o sarcoide em sua apresentação fibrosa principalmente, uma vez que a abordagem terapêutica entre eles serão diferentes, muitas vezes, necessitando de uma conduta cirúrgica cruenta para proporcionar a restituição da epitelização superficial da ferida nos casos de tecido de granulação exuberante (29); além disso, também são conhecidos outros métodos de tratamento como a injeção de formaldeído a 4% e a utilização de pele de tilápia (30,31). Na microscopia, o tecido de granulação se caracteriza por um tecido imaturo, com desorganização do colágeno e fibroblastos, processo inflamatório crônico e neovascularização que, por sua vez, impede a contração da ferida e possui atividade de retardar a proliferação epidérmica, impedindo o fechamento da ferida (32). Já o sarcoide revela espessamento epidérmico com projeções epiteliais em sentido da derme, que estará densamente povoada por células alongadas neoplásicas organizadas em feixes ou espirais e, além disso, possuem graus de pleomorfismo que vai variar de moderado até marcado com um estroma colagenoso discreto (33).

O tecido de granulação é formado a partir de macrófagos mediando o processo com secreção de citocinas, com importante função dos fibroblastos que substituem a fibrina por glicoproteínas, proteoglicanos e colágeno sendo que, este último, primeiramente é colágeno do tipo III e faz a maturação para colágeno tipo I que será importante para contração da ferida (34,35). O tecido de granulação exuberante é reconhecido pelo incremento de fibroblastos, miofibroblastos, vasos sanguíneos imaturos e por um colágeno ainda não organizado (14),

esses achados são compatíveis com os nossos resultados após a polarização das lâminas coradas com Picrosirius, que permitiu a visualização de colágeno tipo I ainda delgado e o colágeno tipo III estava restrito próximo aos vasos sanguíneos perpendiculares.

Das dermatites granulomatosas recebidas, o material cujo o diagnóstico foi compatível com a presença de corpo estranho, trouxe achados microscópicos importantes e curiosos. O primeiro diz respeito à estrutura refringente enegrecida e circunscrita, que pode levantar suspeita para o corpo estranho não identificável, como espinhos de estrutura vegetal ou aparato bucal de ectoparasito (36). Esses corpos estranhos aprisionados no tecido cutâneo podem estimular uma resposta inflamatória crônica que progride ao quadro conhecido por pseudolinfoma, visto principalmente em equinos e humanos que são propensos à essa condição, onde observa-se uma importante infiltração e hiperplasia de linfócitos na pele com formação de folículos linfóides secundários que são acompanhados por infiltração de outros leucócitos, comumente eosinófilos e histiócitos (37,38). Esses quadros normalmente são encontrados na região de tronco e dorso, sendo relacionados com picada de insetos, artrópodes, reação solar ou idiopática (36). Embora o termo pseudolinfoma induza a um pensamento de uma desordem proliferativa agressiva, essa condição mostra o oposto, exibindo uma apresentação benigna com resolução cirúrgica local de bom prognóstico (37). Assim como indicado na literatura, no caso do nosso estudo tratava-se de uma lesão focal nodular na região do tronco, que na microscopia mostrava a estrutura circunscrita contendo células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho em seu entorno, podendo ser relacionada com o aparato bucal de algum ectoparasito.

Em humanos a lesão conhecida como pseudolinfoma cutâneo mostra achados histopatológicos semelhantes aos descritos aqui, como um processo de distribuição nodular a difusa, com formação de folículos linfóides revelando centros germinativos, entremeados por eosinófilos e histiócitos, ainda, a imunohistoquímica pode ser aplicada destacando células B

CD20, CD79a e PAX-5 positivas, com centro germinativo BCL-6 positivo e BCL-2 negativo, completando com alta capacidade proliferativa principalmente nos centros germinativos evidenciada por Ki67 (39).

Um caso de dermatose nodular na região do prepúcio foi diagnosticado como infecção por *Halicephalobus*, que se trata de um nematódeo saprófita com capacidade de causar a infecção em equinos e humanos e caminhar para quadros fatais, devido a habilidade que esse parasito tem pode ter uma apresentação de quadros disseminados com acometimento principal de rins e encéfalo, progredindo para um processo grave de meningoencefalite devido sua característica neurotrópica (40–42). Provavelmente o agente infeccioso desse caso é o *Halicephalobus gingivalis*, isso porque não há descrição da infecção por outra espécie nos equinos, porém, a conclusão deve ser realizada mediante exame de morfologia parasitária e métodos moleculares (40).

A infecção por *Halicephalobus* possivelmente é dada a partir de uma lesão pré-existente, possibilitando o contato e penetração do agente infeccioso que habita o ambiente e, em seguida, com progressão a quadros disseminados (42,43). Nesse sentido, a presença do carcinoma espinocelular ulcerado adjacente à lesão granulomatosa pelo *Halicephalobus*, pode sugerir que essa neoplasia com perda da integridade cutânea permitiu a penetração do nematódeo. Além disso, ressalta-se a preocupação da interação homem-animal, considerando a possibilidade da transmissão zoonótica da doença que ainda é pouco caracterizada (44). O diagnóstico histopatológico encontrado em literatura descreve uma lesão nodular, com presença de granulomas contendo parasitos nematódeos que variam de larvas a adultos, circundados por macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas e na periferia observam-se linfócitos, plasmócitos e poucos eosinófilos, compatível com os achados descritos no material avaliado neste presente estudo (45).

No que tange os linfomas cutâneos equinos, a literatura mostra como uma neoplasia de ocorrência incomum, porém, quando esta acontece, a principal apresentação do linfoma segundo a caracterização pela OMS, é o linfoma de grande células B rico em células T (20,46). Embora os casos de linfoma com apresentação cutânea sejam mais conhecidos nesse subtipo, ainda, pode fazer uma apresentação gastrointestinal ou sistêmica, com envolvimento do encéfalo inclusive (47). Esse neoplasma foi reportado por poder ser encontrado em qualquer parte da extensão cutânea, com uma predileção por tronco e pescoço, porém um dado muito importante encontrado é com relação a sua apresentação multinodular subcutânea que, assim como no caso do nosso estudo, exibiu essa clínica de múltiplos nódulos com uma localização focalmente extensa na região ventral do abdomen e proximidade ao prepúcio (20,48). A média de idade dos linfomas cutâneos em equinos fica próximo dos 10 anos, entretanto, há casos relatados desde os dois meses de idade (49) e os casos relatados foram animais jovens com menos de 5 anos de idade em comparação aos demais quadros nodulares relatados aqui..

Microscopicamente, assim como descrito em literatura os dois pacientes diagnosticados com o linfoma de grandes células B rico em células T revelaram linfócitos com diâmetro nuclear medindo aproximadamente de uma a duas hemácias de diâmetro, podendo ocupar 5-10% somente de toda a população do nódulo, evidenciando cromatina frouxa e nucléolo proeminente, que são entremeados por uma população predominante de pequenos linfócitos T, que os autores acreditam ser atraídos pela população de linfócitos B e histiócitos produzindo interleucina-4 (49,50). Quando realizada a imunohistoquímica, foi observado o padrão heterogêneo das celularidades já relatados por autores anteriores mostrando células grandes neoplásicas CD20 positivas e pequenas células não neoplásicas CD3 positivas, que marcam linfócitos B e linfócitos T, respectivamente (18). Embora nossos achados macroscópicos e, microscópicos em colorações histoquímicas e imunohistoquímica

serem fortemente compatíveis com essa entidade neoplásica, o exame confirmatório é por PCR que mostra células B monoclonais com rearranjo dos genes IgH e IgL, enquanto que as células T intralesionais presentes são policlonais consideradas reativas (46).

Em vista dos achados, o trabalho mostra a importância da infecção cutânea por *Habronema* na cidade de São Paulo, desse modo, ressaltando a necessidade do preparo dos clínicos e patologistas que abordarão casos dessa lesão, principalmente no que se refere ao método de coleta e clivagem do material, já que este estudo mostrou que por meio das biópsias incisionais não foi possível a visualização e confirmação diagnóstica. Assim, sugere-se a padronização do método de coleta e clivagem do material quando dessa suspeita clínica.

Além da caracterização microscópica do tecido de granulação exuberante e das lesões granulomatosas com etiologia identificadas, foi possível a descrição do linfoma de grandes células B rico em células T e histiócitos, que embora seja a apresentação mais comum dos linfomas cutâneos em equinos, de forma geral ainda é um tumor muito incomum, dificultando sua abordagem clínica e muitas vezes a abordagem anatomopatológica devido sua heterogeneidade morfológica podendo confundir com lesões granulomatosas.

Por fim, nossos resultados indicam a necessidade de estudos para a padronização da representação microscópica de casos suspeitos para habronemose cutânea, a imprecisão da biópsia incisional para o diagnóstico de lesões nodulares e a importância do conhecimento do linfoma de grandes células B rico em células T no sentido de considerar dentre os diagnósticos diferenciais de lesões nodulares granulomatosas mononucleares.

Declaration of Conflicting Interests

The authors declare no conflicts of interest with respect to publication of this manuscript.

Funding

666 This study was partially funded by Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina
667 Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET/USP), MEC e Laboratório de
668 Patologia Diagnóstica e Ambiental da FMVZ-USP.

REFERÊNCIAS

1. Souza TM, Brum JS, Figuera RA, Brass KE, Barros CSL. Prevalência dos tumores cutâneos de equinos diagnosticados no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul. *Pesqui Vet Bras*. 2011;31(5):379–82.
2. Bianchi MV, Boos GS, Mello LS De, Vargas TP. A Retrospective Evaluation of Equine Cutaneous Lesions Diagnosed in Southern Brazil. *Acta Sci Vet*. 2016;55(1):1–7.
3. Schaffer PA, Wobeser B, Dennis MM, Duncan CG. Non-neoplastic lesions of equine skin in the central United States and Canada: A retrospective study. *Can Vet J*. 2013;54(3):262–6.
4. Ramos-Vara JA, Ortiz-Santiago B, Segalès J, Dunstan RW. Cutaneous leishmaniasis in two horses. *Vet Pathol*. 1996;33(6):731–4.
5. Crothers SL, White SD, Ihrke PJ, Affolter VK. Sporotrichosis: a retrospective evaluation of 23 cases seen in northern California (1987-2007). *Vet Dermatol*. 2009;20(4):249–59.
6. Valentine BA. Equine cutaneous non-neoplastic nodular and proliferative lesions in the Pacific Northwest. *Vet Dermatol*. 2005;16(6):425–8.
7. Barlaam A, Traversa D, Papini R, Giangaspero A. Habronematidosis in Equids: Current Status, Advances, Future Challenges. *Front Vet Sci*. 2020;7(July):1–8.
8. Mathison PT. Eosinophilic nodular dermatoses. Vol. 11, *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*. 1995. p. 75–89.
9. Georgi JR. Cutaneous habronemiasis. In: *Parasitology for veterinarians*. Philadelphia: WB saunders; 1974. p. 328.
10. Adhikari BN, Hamilton JP, Zerillo MM, Tisserat N, Lévesque CA, Buell CR. Comparative Genomics Reveals Insight into Virulence Strategies of Plant Pathogenic Oomycetes. *PLoS One*. 2013;8(10):e75072.
11. Scott DW, Miller JR HR. Fungal Skin Diseases. In: *Equine Dermatology*. 2^o ed Missouri: Elsevier; 2011. p. 171–211.
12. Scott DW, Miller JR HR. Miscellaneous diseases. In: *Equine Dermatology*. 2^o ed Missouri: Elsevier; 2011. p. 436–67.
13. Scott DW, Miller JR HR. Dermatologic Therapy. In: Scott DW, Miller Jr HR, organizadores. *Equine Dermatology*. 2^o ed Missouri: Elsevier; 2011. p. 101–29.
14. Theoret CL, Olutoye OO, Parnell LKS, Hicks J. Equine exuberant granulation tissue and human keloids: A comparative histopathologic study. *Vet Surg*. 2013;42(7):783–9.
15. Theoret C, Wilmsink JM. Exuberant Granulation Tissue. In: *Equine Wound Management: Third Edition*. 3^o ed Wiley Blackwell; 2016. p. 369–84.

- 702 16. Lepault É, Céleste C, Doré M, Martineau D, Theoret CL. Comparative study on microvascular occlusion
703 and apoptosis in body and limb wounds in the horse. *Wound Repair Regen.* 2005;13(5):520–9.
- 704 17. Durham AC, Pillitteri CA, Myint MS, Valli VE. Two Hundred Three Cases of Equine Lymphoma
705 Classified According to the World Health Organization (WHO) Classification Criteria. 2012;50(1):86–
706 93.
- 707 18. Valli VE, Bienzle D, Meuten DJ. Tumors of the Hemolymphatic System. In: Meuten DJ, organizador.
708 Tumors in Domestic Animals. 5^o ed Iowa: Wiley Blackwell; 2017. p. 203–321.
- 709 19. Valli VE, Myint MS, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F, et al. Classification of Canine
710 Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. 2011;198–211.
- 711 20. Miller CA, Durham AC, Schaffer PA, Ehrhart EJ, Powers BE, Duncan CG. Classification and clinical
712 features in 88 cases of equine cutaneous lymphoma. *J Vet Diagnostic Investig.* 2015;27(1):86–91.
- 713 21. Axon JE, Robinson P, Lucas J. Generalised granulomatous disease in a horse. *Aust Vet J.* 2004;82(1–
714 2):48–51.
- 715 22. Sledge DG, Miller DL, Styer EL, Hydrick HA, Baldwin CA. Equine herpesvirus 2-associated
716 granulomatous dermatitis in a horse. *Vet Pathol.* 2006;43(4):548–52.
- 717 23. Assis-Brasil ND de, Marcolongo-Pereira C, Stigger AL, Fiss L, Santos BL, Coelho ACB, et al. Equine
718 dermatopathies in southern Brazil: a study of 710 cases. *Ciência Rural.* 2015;45(3):519–24.
- 719 24. Summers M. Clinical survey of tumours and tumour-like lesions in horses in south east Queensland.
720 *Equine Vet J.* 1981;13(4):235–9.
- 721 25. Pusterla N, Watson JL, Wilson WD, Affolter VK, Spier SJ. Cutaneous and ocular habronemiasis in
722 horses : 63 cases (1988 – 2002). *J Am Vet Med Assoc.* 2002;222(7):978–82.
- 723 26. Scott DW, Muller A. Parasitic diseases. In: *Equine Dermatology.* 2^o ed Missouri: Elsevier; 2011. p. 212–
724 50.
- 725 27. Simone E, Sallis V, Isabel D, Pereira B, Raffi MB. Pitiose cutânea em eqüinos: 14 casos. 2003;899–903.
- 726 28. Meireles MCA, Zambrano AFH, Zambrano MS. Cutaneous pythiosis in horses from Brazil Kutane
727 Pythiose bei Pferden in Brasilien. 1992;142(May 1985):139–42.
- 728 29. Wilmink JM, Weeren PR Van, Ecvs D. Treatment of Exuberant Granulation Tissue. *Clin Tech Equine*
729 *Pract.* 2004;3(2):141–7.
- 730 30. Varasano V, Marruchella G, Petrizzi L. Exuberant granulation tissue in a horse: successful treatment by
731 the intralesional injection of 4 % formaldehyde solution. *Vet Ital.* 2018;54(2):155–9.
- 732 31. Costa BO, Lima EM, Fachine FV, Nunes Alves APN, de Melo MMO, Correia Ribeiro WL, et al.
733 Treatment of a traumatic equine wound using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin as a xenograft.
734 *Acta Sci Vet.* 2020;48(June):1–6.

- 735 32. Weeren PRVAN, Mil FNVAN, Barneveld A. Differences in second-intention wound healing between
736 horses and ponies: histological aspects. 1999;31:61–7.
- 737 33. Hendrick MJ. Mesenchymal Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: Meuten DJ, organizador. Tumors
738 in Domestic Animals. 5^o ed Iowa: Wiley Blackwell; 2017. p. 142–75.
- 739 34. Moulin V. Growth factors in skin wound healing. Eur J Cell Biol. 1995;68(1):1–7.
- 740 35. Wilmink JM, Van Weeren PR. Second-intention repair in the horse and pony and management of
741 exuberant granulation tissue. Vet Clin North Am - Equine Pract. 2005;21(1):15–32.
- 742 36. Scott DW, Miller JR HR. Neoplasms, Cysts, Hamartomas and Keratoses. In: Equine Dermatology. 2^o ed
743 Missouri: Elsevier; 2011. p. 468–516.
- 744 37. Rashmir-Raven A. Disorders of the skin. In: Reed S, Bayly W, Sellon D, organizadores. Equine Internal
745 Medicine. 4^o ed WB saunders; 2018. p. 1159–216.
- 746 38. Dv A, Miguel D, Peckruhn M, Elsner P. Treatment of Cutaneous Pseudolymphoma : A Systematic
747 Review A cta DV. Acta Derm Venereol. 2018;98(3):310–7.
- 748 39. Mitteldorf C, Kempf W. Cutaneous pseudolymphoma — A review on the spectrum and a proposal for a
749 new classification. J Cutan Pathol. 2019;47(1):76–97.
- 750 40. Akagami M, Shibahara T, Yoshiga T, Tanaka N, Yaguchi Y, Onuki T, et al. Granulomatous nephritis
751 and meningoencephalomyelitis caused by *Halicephalobus gingivalis* in a pony gelding. J Vet Med Sci.
752 2007;69(11):1187–90.
- 753 41. Anderson R, Linder K, Peregrine A. *Halicephalobus gingivalis* (Stefanski, 1954) from a fatal infection in
754 a horse in Ontario, Canada with comments on the validity of *H. deletrix* and a review of the genus.
755 Parasite. 1998;5(3):255–61.
- 756 42. Anwar MA, Gokozan HN, Ball MK, Otero J, McGwire BS. Fatal human eosinophilic meningo-
757 encephalitis caused by CNS co-infection with *Halicephalobus gingivalis* and West Nile virus. Parasitol
758 Int. 2015;64(5):417–20.
- 759 43. Lim CK, Crawford A, Moore C V., Gasser RB, Nelson R, Koehler A V., et al. First human case of fatal
760 *halicephalobus gingivalis* meningoencephalitis in Australia. J Clin Microbiol. 2015;53(5):1768–74.
- 761 44. Shaddock JA, Ubelaker J, Telford VQ. *Micronema deletrix* Meningoencephalitis in an adult man. Am J
762 Clin Pathol. 1979;72(4):640–3.
- 763 45. Muller S, Grzybowski M, Bornand V, Brehm W. A nodular granulomatous posthitis caused by
764 *Halicephalobus* sp . in a horse Case report. Vet Dermatol. 2007;19(1):44–8.
- 765 46. Valli VE. B cell neoplasms. In: Veterinary Comparative Hemopathology. 0 ed 1: Blackwell; 2007. p.
766 119–273.
- 767 47. Westerman TL, Poulsen KP, Jr JWS, Valentine BA. Case Report Rapport de cas. Can Vet J.

- 768 2014;55(4):379–82.
- 769 48. Valli VE, Bienzle D, Meuten DJ. Tumors of The Hemolymphatic System. In: Tumors in Domestic
770 Animals. 5^o ed Iowa: Wiley Blackwell; 2017. p. 203–21.
- 771 49. Durham AC, Pillitteri CA, Myint MS, Valli VE. Two Hundred Three Cases of Equine Lymphoma
772 Classified According to the World Health Organization (WHO) Classification Criteria. Vet Pathol.
773 2012;50(1):86–93.
- 774 50. Chan A, Chan K. Diffuse large B-cell lymphomas. In: Jaffe E, organizador. Hematopathology.
775 Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011.
- 776