



MARCUS VINÍCIUS LIMA NUNES

**NEOPLASIAS PRIMÁRIAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM ANIMAIS
DOMÉSTICOS (2000-2021)**

**LAVRAS - MG
2021**

MARCUS VINÍCIUS LIMA NUNES

**NEOPLASIAS PRIMÁRIAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM ANIMAIS
DOMÉSTICOS (2000-2021)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Patologia Veterinária para obtenção de título de Mestre.

Dra. Mary Suzan Varaschin
Orientadora

Dra. Angélica T. B. Wouters
Coorientadora

Dr. Djeison Lutier Raymundo
Coorientador

LAVRAS-MG
2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo (a) próprio (a) autor(a)

Nunes, Marcus Vinícius Lima.

Neoplasias Primárias do Sistema Nervoso Central em Animais Domésticos / Marcus Vinícius Lima Nunes. - 2021.

72 p. : il.

Orientador(a): Mary Suzan Varaschin.

Coorientador(a): Angélica Terezinha Barth Wouters, Djeison Lutier Raymundo.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Teratoma intracraniano benigno com meningocele em um cordeiro. 2. Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos de tumores primários do sistema nervoso central de caninos. 3. Caracterização histológica e imuno-histoquímica de um

MARCUS VINÍCIUS LIMA NUNES

**NEOPLASIAS PRIMÁRIAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM ANIMAIS
DOMÉSTICOS (2000-2021)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Patologia Veterinária para obtenção de título de Mestre.

APROVADA em 29 de março de 2021



Dra. Jankerle Neves Boeloni - UFES

Dr. Djeison Lutier Raymundo - UFLA

**Dra. Mary Suzan Varaschin
Orientadora**

**LAVRAS-MG
2021**

*Aos meus pais (Lázaro e Ana),
por seu apoio irrestrito, valores
passados e amor concedido.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelas dádivas por Ele concedidas, pela saúde (dádiva tão destacada nos dias de hoje), força e proteção que sempre estiveram presentes na minha vida.

Agradeço aos meus pais, Lázaro e Ana, que nunca mediram esforços para proporcionar a mim e ao meu irmão condições para realizar nossos sonhos, sem deixar de nos passar os valores necessários para viver a vida com dignidade. Agradeço também ao meu irmão, Pedro, pela amizade e cumplicidade.

À minha orientadora Mary Suzan Varaschin, pela orientação, pelos conselhos, repreensões e pela amizade construída ao longo desses anos de academia, sendo não só para mim, mas para todos os seus orientados uma “mãe na patologia”. Agradecimentos esses, que se estendem aos demais professores do Setor de Patologia Veterinária, aos professores Flademir Wouters e Djeison Lutier Raymundo, e à professora Angélica T. Barth Wouters que foram verdadeiros mestres nesse trajeto, me “adotando” na área acadêmica e dando exemplos que serão lembrados em todas as áreas da minha vida.

Agradeço aos meus colegas de pós-graduação, Hector, Laice, Debora, Tamires, Daniella, Letícia, Roger e Ivam, pela parceria e amizade construída.

Agradeço aos estagiários do Setor de Patologia Veterinária, pelo trabalho realizado e pela amizade. Ao Sr. Francisco, pelo zelo e dedicação que sempre teve com o setor, e aos muitos outros que trabalham em áreas diversas para que se possa realizar o trabalho acadêmico.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado, e à FAPEMIG, pela ajuda financeira (Processo CVZ PPM 00763-16).

“A gente vive repetindo, o repetido, e, escorregável, num mim minuto, já está empurrado noutra galho. Acertasse eu com o que depois sabendo fiquei, para de lá de tantos assombros... Um está sempre no escuro, só no último derradeiro é que clareiam a sala. Digo: o real não está na saída nem na chegada: ele se dispõe para a gente é no meio da travessia”

Grande Sertão: Veredas – João Guimarães Rosa

RESUMO

Neoplasias primárias do sistema nervoso são raras nos animais domésticos, sendo mais frequentemente relatadas em cães com idade superior a cinco anos. Elas são classificadas de acordo com a origem celular, a forma de crescimento e o grau de diferenciação celular. Entretanto, a origem celular e a histogênese de algumas neoplasias ainda são pobremente entendidas. O padrão ouro para diagnóstico e caracterização de malignidade, com poucas exceções, continua sendo o exame histopatológico, porém, nas neoplasias pobremente diferenciadas faz-se necessária a utilização da técnica de imuno-histoquímica como auxílio ao diagnóstico e prognóstico. Desta forma, o objetivo deste estudo é classificar pela histopatologia e pela imuno-histoquímica as neoplasias de sistema nervoso central diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFLA num período de 21 anos (2000-2021), correlacionando com os aspectos epidemiológicos. Como anticorpos primários foram utilizados os anticorpos anti- β III tubulina, -NeuN, -enolase neurônio específica, -Oligo2, -GFAP (proteína fibrilar glial ácida), -Neurofilamento, -S-100, -cromogranina, -sinaptofisina, -pancitoqueratina, -vimentina e -PCNA (antígeno nuclear de proliferação celular). Treze neoplasias de SNC foram encontradas. Baseado nas características microscópicas e imuno-histoquímicas, essas foram classificadas como meningioma transicional de grau I (2/13), meningioma transicional de grau II (1/13), meningioma psamomatoso de grau II (1/13), meningioma papilar, grau III (1/13), oligodendroglioma grau III (3/13), astrocitoma grau IV (1/13), sendo estes de ocorrência em caninos (9/13), teratoma bem diferenciado em ovino (1/13) e ependimoma em bovino (1/13). Em duas neoplasias (2/13) não foi possível chegar ao diagnóstico definitivo, sendo uma em medula espinhal de bovino e a outra no cérebro de um equino. Os resultados demonstraram uma maior ocorrência de neoplasias de SNC em caninos, sendo o meningioma o mais frequentemente encontrado. Desta forma este estudo contribuiu para uma melhor compreensão dos aspectos morfológicos e IHQ das neoplasias de SNC nos animais domésticos.

Palavras-chave: astrocitoma, oligodendroglioma, meningioma, tumores embrionários

ABSTRACT

Primary neoplasms of the nervous system are rare in domestic animals, being more frequently reported in dogs older than five years. They are classified according to the cellular origin, form of growth and the degree of cell differentiation. However, the cellular origin and the histogenesis of some neoplasms are still poorly understood. The gold standard for diagnosis and characterization of malignancy, with few exceptions, remains the histopathological examination, however, in poorly differentiated neoplasms, it is necessary to use the immunohistochemistry technique for diagnosis and prognosis. Thus, the objective of this study is to classify by histopathology and immunohistochemistry the neoplasms of the central nervous system referred for diagnosis at the Veterinary Pathology Sector of UFLA in a period of 21 years (2000-2021), correlating with epidemiological aspects. as primary antibodies, anti-BIII tubulin, -NeuN, -neuron specific enolase, -Olig2, -Glial fibrillary acid protein (GFAP), -neurofilament, -S-100, -chromogranin, -synaptophysin, -pancitokeratin, -vimentin and -proliferating cell nuclear antigen (PCNA) were used. Thirteen CNS neoplasms were found. Based on microscopic and immunohistochemical characteristics, these were classified as transitional meningioma, grade I (2/13), transitional meningioma, grade II (1/13), psammomatous meningioma, grade II (1/13), papillary meningioma, grade III (1/13), oligodendroglioma, grade III (3/13), astrocytoma, grade IV (1/13), occurring in canines (9/13), well differentiated teratoma in sheep (1/13) and ependymoma in bovine (1/13). In two neoplasms (2/13) it was not possible to reach the definitive diagnosis, one in the bovine spinal cord and the other in the brain of an equine. The results showed a greater occurrence of CNS neoplasms in canines, with meningioma being the most frequently found. Thus this study contributed to a better understanding of morphological and immunohistochemical aspects of CNS tumors in domestic animals.

Keywords: astrocytoma, oligodendroglioma, meningioma, embryonic tumors

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

Artigo 1 - Intracranial teratoma with meningocele in a lamb

Figura 1. Intracranial teratoma with meningocele in a lamb. (A) Cranium bifidum and meningocele. (B) Meningocele (arrow) and teratoma with a viscous fluid involving the leptomeninges. (C) Meningocele (arrow) and teratoma with black hairs (arrowhead) in the region of the cerebellum and brainstem..... 38

Figura 2. Intracranial teratoma in a lamb. (A) Pseudostratified columnar ciliated epithelium (arrow) associated with serous glands (asterisks) and nervous tissue (arrowhead), H&E staining, bar 200 µm. (B) Respiratory epithelium (arrow) and areas with osseous tissue and trabecular bones (asterisks), H&E staining, bar 100 µm. (C) Respiratory epithelium changing to keratinized stratified squamous epithelium (arrow), H&E staining, bar 50 µm. (D) Stratified keratinized squamous epithelium, associated with hair follicles and sweat and sebaceous glands (arrowhead), which was continued with stratified nonkeratinized squamous epithelium and mucous glands with acidic mucin (asterisks), alcian blue staining (pH 2.5), bar 200 µm.....39

Artigo 2 - Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos de tumores primários do sistema nervoso central de caninos

Figura 1 – Aspecto macroscópico das neoplasias de SNC em caninos. (A) – Canino 1- meningioma transicional Grau I comprimindo o tecido cerebral. (B) Canino 3 – meningioma psomomatoso, região ventral do encéfalo. (C) Canino 4 – meningioma transicional Grau II, com bordos pouco demarcados. (D) Canino 5 - meningioma papilar, grau III, massa compressiva com perda de parênquima cerebral. (E-F) Canino 6 e 8 com oligodendroglioma grau III respectivamente.....50

Figura 2 - Aspecto microscópico e imuno-histoquímico dos meningiomas de SNC em caninos. (A e B) – Canino 2, Meningioma transicional grau I, H.E., obj. 20x. (C) Canino 4, transicional Grau II com infiltração para o neurópilo. H.E., obj.10x. (D) Canino 1, imunomarcção com vimentina de células fusiformes, obj. 20x. (E) Canino 2, imunomarcção com vimentina em ninhos celulares, obj. 20x. (F) canino 2, imunomarcção multifocal (grumos) com pancitoqueratina, obj. 20x.51

Figura 3 – Aspecto microscópico e imuno-histoquímico dos meningiomas de SNC em caninos. (A) Canino 3, meningioma psomomatoso, grau II, com acentuada quantidade de corpos psomomatosos. H.E. Obj.10x. (B) Canino 5, meningioma papilar, grau III, formando camadas celulares ao longo de eixos conjuntivo-vasculares, H.E. obj. 40x. (C-D) Canino 3, meningioma psomomatoso, imunomarcção para vimentina e pancitoqueratina, obj. 20x, respectivamente. (E) canino 5, anti-vimentina obj. 20x. (F) canino 3, meningioma psomomatoso, imunomarcção anti-PCNA, obj. 20x.....52

Figura 4 – Aspecto microscópico e imuno-histoquímico dos oligodendrogliomas grau III do SNC de caninos. (A) Canino 6, padrão favo de mel. H.E. obj. 10x. (B), Canino 7, células

tumorais infiltrando o parenquima adjacente e com areas de necrose e hemorragia. H.E. obj. 10x. (C) Canino 8, lagos de mucina em meio as células tumorais. Alcian Blue, obj. 10x. (D) Canino 6, imunomarcção anti-Olig 2, obj. 20x. (E) canino 7, focos com imunomarcção anti-vimentina, Obj. 40x. (F-G) marçção antivimentina de células circundando as áreas de necrose (astrócitos), Obj 40x. e vasos sanguíneos, obj 20x. (H) Canino 6, marçção anti-GFAP de astrócitos em meio ao oligodendrogloma. Obj. 20x.....53

Figura 5 – Aspecto microscópico e imuno-histoquímico do astrocitoma Grau IV no SNC do canino 9. (A) células em paliçada circundando as áreas de necrose (B) e com focos de mineralização. H.E. Obj 10x. (C) marçção imuno-histoquímica anti- GFAP. Obj. 10x.....54

Artigo 3 – Caracterização histológica e imuno-histoquímica de umependimoma em bovino

Figura 1 - Ependimoma em bovino. (A). Massa neoplásica, bem demarcada, no ventrículo lateral direito, com hidrocefalia secundária. (B) Pseudo-rosetas com processos fibrilares em direção ao vaso central e rosetas verdadeiras com espaço vazio ao centro, H.E. Obj. 10x. (C) Pseudo-roseta, H.E. Obj. 20x. (D) Rosetas verdadeiras, H.E. Obj 40x. (E) Células neoplásicas formando canais endimários H.E. Obj 10x. (F) células endimárias tumorais sem associação com vasos, H.E. Obj. 20x.....63

Figura 2 – Ependimoma em bovino. (A) Marçção imuno-histoquímica anti-GFAP em pseudo-rosetas e em células tumorais aleatórias, Obj. 20x e (B) nos processos celulares fibrilares circundando vaso sanguíneo (pseudo-roseta), Obj 40x. (C) marçção citoplasmática difusa anti-S100, Obj. 40x. e (D) marçção difusa acentuada anti-vimentina nos processos celulares fibrilares. Obj 20x.....64

TERCEIRA PARTE - Neoplasias sem diagnóstico definitivo

Caso 1

Figura 1 - Massa tumoral envolvendo região de tronco cerebral, pedúnculo cerebelar e hipotálamo.....65

Figura 2 - Aspecto microscópico de neoplasia no SNC de um equino. (A) Crescimento das células neoplásicas na forma de cordões. H.E., Obj. 20x e (B) ao redor de vasos sanguíneos. H.E. Obj. 20x. (C) Invasão do parênquima cerebral. H.E. Obj. 10x. (D) Área com anisocitose e anisocariose moderada. H.E. Obj. 20x. (E) Focos de necrose e calcificação. H.E. Obj 20x.....67

Figura 3 - Neoplasia sistema nervoso central de um equino. (A) Marçção anti-vimentina no citoplasma de moderada quantidade de células neoplásicas. Obj. 40x. (B) Marçção anti-GFAP. Obj. 40x, (C) marçção citoplasmática anti-S100 em pouca quantidade de células. Obj. 40x. (D) Marçção anti-PCNA no núcleo de moderada quantidade de células. Obj. 20x.....68

Caso 2 –

Figura 1. Neoplasia em cordão medular de uma bezerra, com crescimento celular neoplásico semelhante a glomérulos. H.E. Obj. 40x.....70

Figura 2. Neoplasia em cordão medular de uma bezerra, com crescimento celular neoplásico formando estruturas tubuliformes. H.E. Obj. 20x.....70

Figura 3 - Neoplasia em cordão medular de uma bezerra. Anisocitose e anisocariose acentuadas. H.E., Obj. 40x.....71

.

LISTA DE QUADROS

PRIMEIRA PARTE

Quadro 1 – Origem e Imunofenotipagem das neoplasias primárias do SNC dos animais domésticos em tecidos fixados em formalina.....8

SEGUNDA PARTE

Artigo 2

Quadro 1 - Anticorpos utilizados em marcação imuno-histoquímica em neoplasias primárias do sistema nervoso central de cães.....43

Artigo 3

Quadro 1. Anticorpos utilizados em marcação imuno-histoquímica em um ependimoma cerebral de bovino.....59

LISTA DE TABELAS

Artigo 2

Tabela 1 – Neoplasias primárias do SNC em caninos, resenha do animal, diagnóstico e sinais clínicos.....	44
----------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO	6
2. REFERENCIAL TEÓRICO	7
2.1 Meningioma.....	10
2.2 Oligodendroglioma	15
2.3 Astrocitoma.	17
2.4 Neoplasias de Plexo Coroide.....	21
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
REFERÊNCIAS	25

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

1. ARTIGO 1 - Mature intracranial teratoma with meningocele in a lamb	32
2. ARTIGO 2 – Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos de tumores primários do sistema nervoso central de caninos	40
3. ARTIGO 3 – Caracterização histológica e imuno-histoquímica de um ependimoma cerebral em bovino	55

TERCEIRA PARTE - Neoplasias sem diagnóstico definitivo

1. Caso 1 – Neoplasia cerebral em equino.....	65
2. Caso 2 – Neoplasia em cordão medular de uma bezerra.....	69

ANEXO	72
-------------	----

1. INTRODUÇÃO

Neoplasias são doenças do genoma, desenvolvendo-se a partir de alterações no DNA que desregulam a estrutura e a função dos genes. Danos ao genoma celular ou à expressão alterada dos genes são achados aparentemente comuns para todas as neoplasias (Cullen & Breen, 2017).

As neoplasias do sistema nervoso central são relativamente raras na maioria das espécies domésticas e são classificadas de acordo com a origem celular, a forma de crescimento e o grau de diferenciação celular (Stoica et al., 2004, Sisó et al., 2003). As neoplasias primárias do sistema nervoso central incluem as que se originam no parênquima encefálico (células da glia e neurônios), nas células da camada interna (epêndima e plexo coroide) e externa do encéfalo (meninges) e em elementos vasculares (Chaves et al., 2018, Song et al., 2013). Entretanto, a origem celular e a histogênese de algumas neoplasias, como por exemplo o oligodendroglioma canino, ainda são pobremente entendidas, para o qual se sugere que pode ser derivado de células multipotentes imaturas, que podem se diferenciar nas linhagens oligodendroglial, astrocítica e neuronal (Kishimoto et al., 2018).

As manifestações clínicas estão relacionadas com a localização da neoplasia, podendo ocorrer crises epilépticas generalizadas, alteração comportamental, síndrome vestibular central, tetraparesia, ataxia cerebelar, dificuldade de deglutição, hiperestesia e amaurose (cegueira cortical) (Chaves et al., 2018).

Com poucas exceções, o padrão ouro para diagnóstico e caracterização de malignidade continua sendo a histopatologia, porém, dependendo do grau de diferenciação de uma neoplasia, faz-se necessário o uso de imuno-histoquímica (IHQ) como auxílio no diagnóstico e prognóstico (Cullen & Breen, 2017) uma vez que as células podem expressar diferentes marcadores, conforme o seu desenvolvimento na linhagem neural e glial (Kishimoto et al., 2018).

No Brasil existem poucos dados sobre a frequência das neoplasias no SNC de animais e alguns estudos não descrevem os aspectos microscópicos e de IHQ (Chaves et al., 2018, Santos et al., 2012) ou, quando apresentam, é somente sobre uma neoplasia, como por exemplo, o meningioma (Marcasso et al., 2015, Areco et al., 2018). Desta forma, este estudo contribuirá com dados epidemiológicos e patológicos sobre as neoplasias do sistema nervoso central em animais domésticos.

O objetivo deste estudo é classificar pela histopatologia e IHQ as neoplasias de sistema nervoso central encaminhadas para diagnóstico no Setor de Patologia Veterinária da UFLA num período de 21 anos, descrever os achados epidemiológicos, clínicos e patológicos das neoplasias diagnosticadas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Neoplasias originárias do sistema nervoso central (SNC) são raramente encontradas nas diferentes espécies de animais domésticos, sendo aproximadamente 50% das neoplasias diagnosticadas primárias do sistema nervoso e 50% de origem metastática (Song et al., 2013). Os cães são mais frequentemente acometidos, com aproximadamente 75% dos casos, seguidos pelos gatos, com 15%, e 10% nas demais espécies animais. São fatores importantes para o maior número de diagnósticos nessas espécies o fato de animais de companhia estarem mais próximos dos seus proprietários, permitindo que estes notem qualquer alteração de comportamento ou clínica no animal; e o aumento da expectativa de vida dos animais domésticos (Meuten, 2016). No Brasil, a faixa etária de cães com neoplasia do sistema nervoso é de 6 a 14 anos (Chaves et al., 2018), sendo que a média de idade para os animais afetados é de sete (Song *et al.*, 2013) a 10 anos (Chaves et al., 2018), portanto, uma afecção de animais adultos a idosos (Song et al., 2013).

A prevalência de neoplasias do SNC em cães é de 4,5%, sendo que as de origem primária equivalem a 2,3%, enquanto 2,2% são provenientes de metástases (Song et al., 2013). O sinal clínico mais comumente observado nesses tipos de tumores é a convulsão, seguida por alterações no comportamento, síndrome vestibular, andar em círculos, alterações de locomoção, apatia, paralisia e distúrbios visuais, como cegueira (Snyder et al., 2006; Kishimoto et al., 2018). Tumores primários do SNC dificilmente fazem metástases para outros órgãos e ocorrem, mais frequentemente, em telencéfalo e diencéfalo (Snyder et al., 2006). Em ordem decrescente, os mais frequentemente encontrados são meningioma, oligodendroglioma, astrocitoma e tumores de plexo coroide (Snyder et al., 2006; Song et al., 2013; Chaves et al., 2018). Porém, outras neoplasias podem ocorrer no sistema nervoso, como linfomas, sarcomas histiocíticos, hemangiossarcomas entre outras (Snyder et al., 2006). As

neoplasias primárias do SNC e sua principal imunorreatividade estão demonstradas no Quadro 1.

Quadro 1 – Origem e Imunofenotipagem das neoplasias primárias do SNC dos animais domésticos em tecidos fixados em formalina.

Neoplasia	Origem	Imunorreatividade
Astrocitoma (Grau I a IV)	Astrócito	VIM, GFAP, Olig2, EGFR, nestina
Oligodendroglioma	Oligodendrócito	Olig2, GFAP, PDGFRA
Glioma misto (oligoastrocitoma)	Oligodendrócito/Astrócito	Olig2, GFAP
Oligoependimoma	Oligodendrócito / células do epêndima	Olig2, GFAP
<i>Gliomatosis cerebri</i> (Astrocitoma de células gigantes subependimal, pilocítico, gemistocítico e xantoastrocitoma pleomórfico)	Astrócito	GFAP. Vimentina
Tumores de plexo coroide	Epitélio do plexo coroide	CK (AE1,3), GFAP (variável 55% das células marcadas), VIM (só o tecido conjuntivo), laminina (só membrana basal abaixo das células tumorais)
Ependimoma	Células do epêndima	GFAP (forte marcação) e CK (AE1,3), Vimentina e S100 (menor intensidade)
Ganglioglioma	Neurônios ganglionares e células da glia	SYN, NeuN, TNF, SMI 31, CGB, MAP-2 e GFAP (astrócitos)
Gangliocitoma	Células ganglionares maduras (neurônios)	SYN, NeuN, TNF, SMI 31, MAP-2
Neurocitoma central e extraventricular	Células uniformes derivadas de neurônios	SYN e NSE. Raramente para NeuN
Paraganglioma	Células paraganglionares (origem células da crista neural)	SYN, NSE, Cromogranina A, SMI 31. As células de sustentação para S-100 e algumas GFAP

PNET (Tumores neuroectodermal primitivos)	Células neuroepiteliais germinativas pobremente diferenciadas	SYN, NeuN, MAP-2 (fortemente), NSE, SMI 31, TNF (menos)
Meduloblastoma	Células tronco da camada granular do cerebelo	
Neuroblastoma Central	Células neuroepiteliais que se diferenciam na linhagem neuronal	SYN, NeuN, MAP-2, NSE, SMI 31, TNF, com marcadores glias (nestina, GFAP, Olig 2) em alguns tumores. Expressão focal ou difusa
Ganglioneuroblastoma	Células neuroepiteliais exibindo algumas células bem diferenciadas semelhantes a neurônios ganglionares	SYN, NeuN, MAP-2, NSE, SMI 31, TNF com marcadores glias (nestina, GFAP, Olig 2) em alguns tumores
Nefroblastoma ectópico	Blastema metanéfrico ectópico	WT-1, VIM, CK (Lu5, AE1,3)
Meningioma	Células meningoteliais (camada superficial da aracnoide) que recobrem a vilosidade aracnoide	VIM (fortemente), E-cadherin e DCX (boa marcação em alguns tumores), CK (pouca marcação e focal)
Meningioangiomatose	Células meningoteliais ou fibroblásticas	VIM
Tumor de células granulares	Indefinida	Ubiquitina (fortemente), variável para VIM e S100. Negativo para marcadores de leucócitos
Linfoma	Linhagem de Linfócitos B (80%), T (20%)	CD18, Iba1, CD45R, CD3, CD20, CD79a, granzyme B, PAX5
Linfoma intravascular	Linfócitos B ou T	CD3, CD79a, PAX5, CD45R
Sarcoma histiocítico	Células dendríticas perivascularares intersticiais	CD1a, CD11c, MHC class II, CD18, Iba1
Germinoma	Células germinativas extragonadais	AFP, c-KIT, OCT4
Teratoma	Células tronco totipotentes	VIM, CK, PLAP

Fonte: Adaptado de Higgins et al., 2017. Siglas e nomenclatura em inglês: AFP, alpha fetoprotein; CK, cytokeratin; CRB, chromogranin B; DCX, double corticotrophin; PR, progesterone receptor; EGFR, epidermal growth factor receptor; GFAP, glial fibrillary acidic protein; MAP-2, microtubule-associated protein; PDGFRA, platelet-derived growth factor receptor

alpha; PLAP, placental alkaline phosphatase; SMA, smooth muscle actin; SMI 31, phosphorylated neurofilaments; SYN, synaptophysin; TNF, triple neurofilament; VIM, vimentin; S-100, proteína S100;

Na sequência apresentaremos uma revisão dos tumores do SNC mais frequentemente diagnosticados em animais. Outros tumores diagnosticados neste estudo, serão descritos na forma de trabalhos.

2.1. Meningioma

O meningioma é uma neoplasia derivada de células meningoteliais que recobrem as vilosidades da membrana aracnoide (Higgins et al., 2017). Os cães são a espécie mais acometida pelo meningioma, com prevalência de aproximadamente 1,2% da população total, representando 45% a 51,5% de todos os tumores primários do SNC (Snyder et al., 2006; Song et al., 2013). Acomete animais adultos a idosos, com média de idade de 9 a 14 anos (Areco et al., 2018; Snyder et al., 2006; Song et al., 2013; Sturges et al., 2008), sendo dificilmente observado em animais menores de três anos (Song et al., 2013; Sturges et al., 2008). Há uma correlação positiva entre o aumento da idade e o aumento da prevalência de meningiomas, sendo a frequência maior em animais de 12 a 14 anos, com prevalência de 3.1% (Snyder et al., 2006; Song et al., 2013).

Cães de raças grandes, com mais de 20 quilos são significativamente mais acometidos, como Golden Retriever, Labrador Retriever (Song et al., 2013; Sturges et al., 2008), Boxer (Marcasso et al., 2015) e SRD, mas também pode acometer Schnauzer miniatura e Terrier rateiro (Song et al., 2013). Em gatos, a frequência do meningioma pode chegar a 59% de todos os tumores encontrados no SNC, com registro de 3,2 a 12,1 anos de idade (Troxel et al., 2003). Não foi encontrada predisposição sexual em cães e gatos (Troxel et al., 2003; Snyder et al., 2006). Apesar dos meningiomas ocorrerem mais em pequenos animais, também são descritos em bovinos (Reis Jr et al., 2007), equinos (Naylor et al., 2010) e serpentes (Finnegan et al., 2020).

Os sinais clínicos associados ao meningioma têm duração média de 24,5 a 30 dias (Troxel et al., 2003; Snyder et al., 2006) e são semelhantes aos observados em outros tumores do SNC. Podem ocorrer convulsões, mudanças comportamentais, ataxia, andar em círculos, perda de visão, síndrome vestibular (Higgins et al., 2017; Troxel et al., 2003; Snyder et al.,

2006; Marcasso et al., 2015; Areco et al., 2018) e hidrocefalia, caso ocorra compressão ventricular (Wentz et al., 2019).

Os locais do encéfalo mais afetados em cães são, em ordem decrescente; telencéfalo (60% dos casos), mielencéfalo, cerebelo, bulbo olfatório, mesencéfalo e diencéfalo (Snyder et al., 2006). No entanto, o meningioma pode ocorrer em qualquer local recoberto por meninge nas diferentes espécies, incluindo locais menos frequentes, como a medula espinhal (Eravci Yalin et al., 2015; Montoliu et al., 2006) e na região retrobulbar (Montoliu et al., 2006; Naylor et al., 2010; Reis Jr et al., 2007). Em gatos ocorrem mais frequentemente no terceiro ventrículo, nas adjacências de lobo temporal, lobo frontal, lobo occipital, cerebelo e diencéfalo, sendo que todas as regiões do encéfalo são afetadas em menos de 3% dos casos de forma extra-axial (Troxel et al., 2003).

Macroscopicamente, em cães os meningiomas são bem delimitados, lobulados, firmes, com superfície irregular (granular), de base ampla ou pedunculados, presos às meninges. Menos comumente, podem formar placas acima das meninges. São avermelhados e, quando fixados em formol, podem ficar bege-acinzentados, pode haver áreas duras ao corte, correspondentes a mineralização (Higgins et al., 2017; Areco et al., 2018). Com o crescimento, os meningiomas podem comprimir o tecido nervoso, induzindo sinais clínicos, e pode haver formas mais agressivas, que invadem o parênquima encefálico (Motta et al., 2012; Higgins et al., 2017). Em gatos, essas massas podem ser nodulares, com superfície lisa a granular (Troxel et al., 2003; Higgins et al., 2017), tamanho médio de 3,4 cm e pode ocorrer herniação cerebelar (Troxel et al., 2003). Metástases não são frequentes, muito provavelmente pela presença de intercomunicações desmossomais e interdigitações das células da meninge, que reduzem a esfoliação celular, contudo, podem acontecer principalmente para pulmões e rins (Marcasso et al., 2015).

A classificação histológica de neoplasias do SNC proposta pela World Health Organization em 2007 divide os meningiomas em graus I, II, e III, sendo que, quanto maior a graduação, maior a malignidade do tumor (Louis et al., 2007; Higgins et al., 2017). Os meningiomas de grau I são classificados em subtipos meningotelial, fibroso, transicional, psamomatoso, angiomaso, microcístico e secretório. Os subtipos histológicos mais comuns em cães são transicional e meningotelial, seguidos pelo microcístico e psamomatoso (Sturges

et al., 2008). O desafio de classificar os meningiomas ocorre pelo fato de mais de um subtipo poderem ocorrer no mesmo tumor (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007).

O meningioma tipo meningotelial possui formação de uma camada de células com citoplasma abundante e bordos indistintos, núcleos alongados a ovalados, nucléolo proeminente e heterocromatina delicada (Higgins et al., 2017; Montoliu et al., 2006; Sturges et al., 2008; Louis et al., 2007). Estas células se arranjam em lóbulos de diferentes tamanhos (padrão sincicial) (Areco et al., 2018). Em cães, áreas condroides, ósseas, mixoides e até xantomatosas podem ser encontradas nesses meningiomas (Montoliu et al., 2006).

O padrão fibroso é incomum em cães, sendo formado por células fusiformes com núcleos alongados em padrão de feixes, com tendência a formas em espiral e quantidade variável de fibras colágenas entremeadas (esse padrão ocorre frequentemente associado ao microcístico) (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007; Montoliu et al., 2006).

O subtipo transicional é uma mistura dos padrões meningotelial e fibroso, observando-se grupos de células sinciciais ou em espirais concêntricas, formando lóbulos bem demarcados, intercalados por regiões com células meningoteliais (Higgins et al., 2017; Marcasso et al., 2015; Montoliu et al., 2006; Sturges et al., 2008). Pode haver ocasionais corpos psamomatosos, necrose e mineralização (Areco et al., 2018; Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007; Montoliu et al., 2006). Em cães, áreas condroides, ósseas, mixoides e xantomatosas podem ser encontradas nos meningiomas transicionais, assim como infiltrado polimorfonuclear ao redor das áreas de necrose (Montoliu et al., 2006).

O subtipo psamomatoso apresenta numerosas estruturas espirais com centro hialino lamelar ou mineralizado, denominado corpo psamoma (Areco et al., 2018; Higgins et al., 2017; Sturges et al., 2008). A presença de raros corpos de psamoma no tumor não o classifica nesse subtipo (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007; Montoliu et al., 2006).

O subtipo angiomatoso possui grande quantidade de vasos sanguíneos proeminentes e dilatados, que constituem aproximadamente 50% do parênquima do tumor (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007; Montoliu et al., 2006; Sturges et al., 2008).

O subtipo microcístico é caracterizado por células fusiformes com núcleos alongados, frouxamente arranjadas (Louis et al., 2007), entremeadas por vacúolos ou cistos (geralmente pequenos) claros e vazios (Areco et al., 2018; Montoliu et al., 2006; Sturges et al., 2008), podendo conter ou não mucina (Marcasso et al., 2015), tendo ao fundo um padrão que varia de fibroso a transicional (Montoliu et al., 2006; Louis et al., 2007).

O subtipo secretório só foi observado em cães. Caracteriza-se por apresentar estruturas semelhantes a epitélio glandular contendo material eosinofílico, arredondado e PAS positivo ao centro (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007; Montoliu et al., 2006), intercaladas com áreas de padrão mais convencional ao meningioma (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007).

Todo meningioma morfológicamente graduado como grau I que apresente invasão nos tecidos adjacentes é imediatamente graduado como meningioma atípico de grau II (Ide et al., 2011; Higgins et al., 2017). Evidências de invasão tumoral podem ser observadas em aproximadamente 25% dos casos, sendo que 80% apresentam invasão do parênquima encefálico e 20% invadem a pia-máter (Ide et al., 2011). Também é considerada na classificação do meningioma atípico de grau II a presença de no mínimo quatro mitoses por 10 campos de maior aumento (400x) ou três dos cinco critérios descritos a seguir: 1) perda da arquitetura padrão; 2) células pequenas com alta relação núcleo/citoplasma; 3) atipia nuclear ou macronúcleo; 4) hiper celularidade e 5) áreas de necrose (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007). O meningioma atípico grau II apresenta os seguintes subtipos: atípico, cordóide e de células claras (Higgins et al., 2017).

O meningioma atípico deve conter os elementos descritos anteriormente (Higgins et al., 2017). O meningioma cordóide possui núcleos arredondados e abundante citoplasma eosinofílico, que pode conter vacúolos. Esse meningioma apresenta longos cordões ou trabéculas separadas por matriz mucoide intersticial levemente azulada. Apesar de seu padrão celular não sugerir, é um subtipo de meningioma de comportamento bastante agressivo (Higgins et al., 2017; Sturges et al., 2008). Já o meningioma de células claras é um tumor raro, caracterizado por camadas de células poligonais com citoplasma claro contendo glicogênio PAS positivo (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007).

Os meningiomas classificados como grau III apresentam acentuada anaplasia e elevada atividade mitótica, com média de 20 figuras de mitoses por 10 campos de maior aumento,

muitas delas bizarras, além de necrose e invasão tecidual. Devido à marcada anaplasia, a IHQ pode se fazer necessária para fechar o diagnóstico (Higgins et al., 2017; Montoliu et al., 2006). Esse grau de tumor engloba mais dois subtipos de padrões tumorais, que são o papilar e o rabdoide, ambos de comportamento muito agressivo (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007).

O meningioma grau III papilar forma camadas celulares ao longo de eixos conjuntivo-vasculares (Areco et al., 2018). As células meningoteliais irradiam de um vaso central formando papilas e pseudorrosetas, que devem ocupar mais de 50% da área do tumor para se encaixar nesse padrão (Higgins et al., 2017; Montoliu et al., 2006). O padrão rabdoide é muito raro em cães, com células de formato discoide alongado contendo núcleos grandes e vesiculares, podendo haver estruturas intracitoplasmáticas paranucleares eosinofílicas globulares semelhantes a corpúsculos de inclusão (Higgins et al., 2017; Louis et al., 2007).

A coloração especial tricômico de Masson, que evidencia colágeno, cora intensamente os meningiomas, tornando-se uma ferramenta complementar de diagnóstico (Marcasso et al., 2015). Em geral, os meningiomas são fortemente marcados na IHQ pela vimentina (Marcasso et al., 2005; Montoliu et al., 2006), sendo que as células que formam espirais e as áreas perivasculares costumam marcar mais fortemente, ao contrário de áreas com formações microcísticas (Montoliu et al., 2006). A marcação IHQ por S-100 é intensa (Montoliu et al., 2006) a moderada (Marcasso et al., 2015; Montoliu et al., 2006) na grande maioria dos meningiomas, porém é menos intensa do que a marcação por vimentina, visto que as células com formas fibroblásticas são mais marcadas que as células que formam espirais (Montoliu et al., 2006).

A expressão de GFAP é normalmente ausente, podendo ocorrer marcação discreta a intensa (Montoliu et al., 2006), porém, existem estudos em que essa marcação não foi observada em todos os tipos tumorais (Marcasso et al., 2015). A Enolase neurônio específica (NSE) apresenta grande variabilidade na marcação, sendo que 30 a 60% das células são marcadas e aproximadamente 10% dos tumores não apresentam marcação (Montoliu et al., 2006).

A expressão de citoqueratina é observada em poucos casos (aproximadamente 17%), sendo que as marcações se restringem a pequenas áreas (Montoliu et al., 2006). O tumor não é

marcado para Fator VIII, fato que pode ser útil para a sua diferenciação de tumores de origem vascular. O gene p53 não é expresso nas células do meningioma canino, ao contrário desse mesmo tipo de tumor em humanos, em que se observam alterações na expressão desse gene (Pavelin et al., 2014; Marcasso et al., 2015).

A expressão de B-caderina no núcleo ocorre em 62% dos meningiomas, principalmente nos anaplásicos, assim como a expressão de DCX (doublecortin), detectada em aproximadamente 47% dos casos, principalmente nos anaplásicos, em focos de invasão do parênquima encefálico. Já o número de células com núcleos marcados por Ki-67 varia de 0 a 18.1% (Ide et al., 2011). Desta forma, a B-caderina, a DCX e Ki-67 são moléculas adequadas para a predição do grau histológico dos meningiomas, com acurácia de 73.6, 71.7, e 77.4%, respectivamente. A expressão de N-caderina, DCX e a translocação nuclear de B-caderina estão intimamente associadas com a progressão de meningiomas em cães (Ide et al., 2011).

Em humanos, a inativação de genes de supressão tumoral como o Merlin, foram relacionados com o meningioma, por ocasionarem falhas no controle do crescimento e motilidade celular. Também foi demonstrado que a maior expressão de Ki-67 e p53 estavam associados à inativação do gene Merlin (Pavelin et al., 2014).

2.2. Oligodendroglioma

O oligodendroglioma é uma neoplasia originária de oligodendrócitos, células da neurógliia responsáveis pela mielinização dos axônios neuronais no SNC. Essas células têm a capacidade de mielinizar vários internodos de mielina ao mesmo tempo, ao contrário das células de Schwann, que são suas correspondentes no SNP e mielinizam apenas um internodo (Mescher, 2018). Essa neoplasia corresponde a aproximadamente 20% dos tumores primários do SNC em caninos (Snyder et al., 2006; Song et al., 2013). É uma neoplasia mais frequente em cães, sem predisposição por sexo, com idade média de 8 anos, porém animais jovens também são acometidos, e com peso médio de 26 quilos (Song et al., 2013; Kishimoto et al., 2018). Raças braquicefálicas como Boxer, Bulldog Francês e Boston Terrier são mais propensas aos oligodendrogliomas e uma das teorias para sua ocorrência são as maiores alterações de pressão intracraniana e a menor capacidade de compensar essa pressão por mecanismos fisiológicos nos braquicefálicos (Hussein et al., 2012; Song et al., 2013; Koehler et al., 2018). É uma neoplasia incomum em felinos, correspondendo a aproximadamente 2,4%

dos tumores encefálicos nessa espécie (Dickinson et al., 2000; Troxel et al., 2003), raríssima em ovinos (Derakhshanfar e Mozaffari, 2010) e não foram encontrados relatos de ocorrência em bovinos e equinos.

Oligodendroglioma pode ocorrer em qualquer local do encéfalo, sendo mais frequentemente descrito, em ordem decrescente de ocorrência, nos lobos frontais do telencéfalo, lobo piriforme, região periventricular e lobo temporal (Snyder et al., 2006; Bentley et al., 2013; Kishimoto et al., 2018; Koehler et al., 2018) e raramente na região ocular de cães (Naranjo et al., 2008). Clinicamente os animais podem apresentar convulsão, ataxia, tremores, alterações de visão, alterações de locomoção e mudanças de comportamento (Snyder et al., 2006; Kishimoto et al., 2018).

Macroscopicamente, os oligodendrogliomas são bem demarcados, macios, escuros, com matriz gelatinosa ou mucoide, podendo se expandir até os giros cerebrais. Também podem ocorrer focos de hemorragia, principalmente nas formas mais agressivas da neoplasia (Bentley et al., 2013; Higgins et al., 2017; Koehler et al., 2018).

Microscopicamente as células possuem núcleo hipercromático, citoplasma fracamente corado com bordas bem marcadas, halos perinucleares característicos, descritos como padrão de “favos de mel” ou “ovos fritos”, que correspondem a um artefato comum nesta neoplasia devido a uma falha de fixação da amostra. Estes halos podem estar ausentes em seções congeladas e amostras rapidamente fixadas (Koehler et al., 2018; Wesseling et al., 2015). Os oligodendrogliomas são muito celulares, porém nos bordos menos celulares é possível identificar um padrão infiltrativo difuso, além de formações secundárias de grupos celulares ao redor de neurônios (satelitose), abaixo da pia-máter e ao redor de pequenos vasos na região cortical (Wesseling et al., 2015; Kishimoto et al., 2018; Koehler et al., 2018).

De uma forma geral, o grau histológico das neoplasias de SNC variam de I a IV, sendo classificados como grau I as que apresentam um baixo potencial de proliferação e a possibilidade de sucesso na ressecção cirúrgica (Higgins et al., 2017). As características dos graus encontrados nas diferentes neoplasias estão descritas ao longo deste texto.

Os oligodendrogliomas são classificados como oligodendroglioma grau II quando apresentam figuras de mitose ocasionais, associadas a atipia celular marcada. Na classificação dessa neoplasia em humanos, quando o tumor apresenta focos de necrose, proliferação microvascular, ou mais de seis figuras de mitose por 10 campos de maior aumento é

classificado como oligodendroglioma grau III (anaplásico), sendo essas características observadas em aproximadamente 90% desses tumores em cães (Higgins et al., 2017, Kishimoto et al., 2018). Nos oligodendrogliomas grau III (anaplásicos), as células são grandes, com aspecto epitelióide, os núcleos geralmente são grandes e pleomórficos, nucléolo proeminente, apesar de ainda haver células com padrão arredondado e núcleos basofílicos (Bentley et al., 2013; Wesseling et al., 2015). A taxa de proliferação pode chegar a 5% nos tumores de baixo grau e acima de 20% nos tumores de alto grau (Higgins et al., 2017). É comum encontrar proliferação de capilares e áreas de calcificação, porém não são achados específicos para o oligodendroglioma (Wesseling et al., 2015; Kishimoto et al., 2018; Koehler et al., 2018). Também pode ser encontrado material basofílico semelhante a mucina no interstício, ou na forma de lagos microcísticos (Higgins et al., 2017; Koehler et al., 2018). Oligodendrogliomas multifocais são encontrados em gatos e também pode haver propagação intensa em ventrículos e sob a meninge (Louis et al., 2007; Bentley et al., 2013).

Na avaliação IHQ os oligodendrogliomas são marcados pelos anticorpos anti-Olig2 (marcação nuclear forte em 80-90% das células), anti-SOX10 (marcação nuclear fraca em 88,9% das células), anti-fator de crescimento α derivado de plaquetas (marcação forte e difusa no citoplasma), anti-nestina (marcação difusa a focal no citoplasma de aproximadamente 48,1% dos tumores (Wesseling et al., 2015; Kishimoto et al., 2018; Koehler et al., 2018). Também são descritas marcações citoplasmáticas fortes com o anticorpo anti-DCX em 81,5% dos tumores e com anti- β III tubulina em aproximadamente metade dos tumores. Não ocorre marcação com o anticorpo anti-neurofilamento (Kishimoto et al., 2018). Desta forma, o estudo de Kishimoto et al. (2018) demonstra que os oligodendrogliomas, principalmente os anaplásicos, podem ser originados tanto de células precursoras de oligodendrócitos, como de células multipotentes imaturas, capazes de se diferenciar em diferentes linhagens celulares, como oligodendrócitos, astrócitos e até neurônios (Kishimoto et al., 2018).

2.3. **Astrocitoma**

Astrócitos são células componentes da neuroglia, responsáveis por diversas funções no SNC, como a regulação da concentração de neurotransmissores, participam da composição da barreira hematoencefálica, da homeostase encefálica, entre outras funções (Mescher, 2018). A prevalência dos astrocitomas na população total de cães gira em torno de 0,32%, sendo que esses tumores representam aproximadamente 13,22% de todos os tumores intracranianos em

caninos (Song et al., 2013). A média de idade dos cães afetados é de 8 a 9 anos (Stoica et al., 2004; Song et al., 2013) e peso médio de 28,9 quilos, sendo considerada uma neoplasia de cães de grande porte e velhos (Song et al., 2013). Raças braquicefálicas, como o Boxer e o Boston Terrier, apresentam maior predisposição para astrocitomas, porém não há predisposição quanto a sexo (Song et al., 2013).

Em felinos, os astrocitomas correspondem a aproximadamente 2.8% de todos os tumores encontrados no SNC e a idade dos animais acometidos é de 3,1 a 12,9 anos (Troxel et al., 2003). Astrocitomas são raros em bovinos (Oliveira et al., 2016), equinos (Cavasin et al., 2020), cabras (De Las Mulas et al., 1996) e animais silvestres, como as camurças (*Rupicapra rupicapra*) (D'angelo et al., 2005).

As principais localizações dos astrocitomas são áreas isoladas no telencéfalo e diencefalo (Stoica et al., 2004; Snyder et al., 2006). Raramente são descritos acometendo a medula espinhal (Stoica et al., 2004) e região ocular de cães (Siso et al., 2003; Meyerholz e Haynes, 2004; Naranjo et al., 2008). No gato é relatada ocorrência em bulbo olfatório, lobo piriforme, lobo parietal, núcleo basal, ventrículo lateral e diencefalo (Troxel et al., 2003). Os sinais clínicos observados em casos de astrocitomas são inespecíficos e variados, podendo ocorrer mudanças de comportamento, perda da consciência, convulsões, distúrbios vestibulares e perda de visão (Troxel et al., 2003; Snyder et al., 2006).

Os padrões morfológicos e critérios de classificação encontrados em astrocitomas de animais domésticos são semelhantes aos encontrados em humanos (Meuten, 2017; Stoica et al., 2004) e alterações genéticas são associadas às formas mais malignas (Stoica et al., 2004).

Os astrocitomas são divididos em dois grandes subgrupos, sendo eles os astrocitomas infiltrativos (em que estão incluídos astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico, glioblastoma e a gliomatose cerebral), que correspondem a aproximadamente 90% da casuística; e os astrocitomas bem circunscritos, que correspondem a um grupo mais raro e específico (astrocitoma subependimal de células gigantes, astrocitoma pilocítico, astrocitoma gemistocítico e xantoastrocitoma pleomórfico) (Louis et al., 2007). Porém, a classificação dos astrocitomas mais comumente empregada é a graduação de I a IV, sendo que nesse tipo de graduação são levados em conta a densidade e atipia celular e o número de mitoses (Louis et al., 2007; Higgins et al., 2017).

Os astrocitomas grau I não foram ainda descritos em animais. Estes são bem diferenciados, com baixa densidade celular e não causam sinais clínicos perceptíveis (Naranjo et al., 2008; Higgins et al., 2017). Aproximadamente 30% dos astrocitomas são descritos como astrocitomas fibrilares, que são um subtipo do astrocitoma difuso grau II (Bentley et al., 2013; Koehler et al., 2018, Higgins et al., 2017). Este pode estar localizado nos lobos encefálicos temporal, piriforme, frontal e na medula espinhal (Bentley et al., 2013; Koehler et al., 2018). Macroscopicamente, em cortes transversais do encéfalo, não há distinção entre os limites da substância branca e cinzenta (Higgins et al., 2017). Microscopicamente apresentam baixa densidade de células (Naranjo et al., 2008) alongadas a fusiformes, ocasionalmente poligonais, que infiltram o parênquima adjacente (Louis et al., 2007; Koehler et al., 2018).

Astrocitomas anaplásicos grau III apresentam prevalência de 30%. Macroscopicamente são semelhantes aos astrocitomas difusos (Higgins et al., 2017). Estes são infiltrativos e apresentam alta densidade de células fusiformes, poligonais a arredondadas, com moderado pleomorfismo, podendo ser encontradas células gigantes tumorais multinucleadas (Siso et al., 2003; Stoica et al., 2004; Naranjo et al., 2008; Higgins et al., 2017). Os núcleos são grandes e mais hipercromáticos do que os observados no astrocitoma difuso. Há quantidade moderada de mitoses e as células tendem a se alinhar longitudinalmente ao longo da substância branca (Louis et al., 2007; Higgins et al., 2017).

O glioblastoma ou astrocitoma grau IV representa 30% dos tumores de astrócitos e é considerado o mais maligno dentre esses tumores. Tem sua origem em células primitivas (células tronco) localizadas na região subependimal e que circundam os ventrículos laterais do encéfalo, desta forma o glioblastoma localiza-se na substância branca dos lobos temporal e parietal, sendo muito raramente encontrado fora dessas regiões (Lipsitz et al., 2003; Higgins et al., 2017). Macroscopicamente são pobremente demarcados, com áreas de necrose amareladas a esbranquiçadas, focos de hemorragia ou áreas císticas (Higgins et al., 2017). Microscopicamente o glioblastoma tem natureza infiltrativa, alta densidade celular com abundantes figuras de mitose, marcada atipia nuclear, podem ocorrer células gigantes, algumas multinucleadas. Tem como características proliferação microvascular e extensas áreas de necrose circundadas por células gliais enfileiradas (pseudopaliçada), com trombose (Lipsitz et al., 2003; Stoica et al., 2011; Higgins et al., 2017; Koehler et al., 2018).

A gliomatose cerebral é um glioma infiltrativo, que pode estar localizado em pelo menos três lobos do encéfalo ou na medula espinhal. As células neoplásicas são alongadas e

delgadas, com núcleos retorcidos e uniformemente hipercromáticos, quase helicoidais, citoplasma escasso e poucas figuras de mitose (Plattner et al., 2012; Higgins et al., 2017).

O astrocitoma de células gigantes subependimais é um representante dos astrocitomas bem circunscritos, caracterizado macroscopicamente como uma massa brancacenta circunscrita na região subependimal, que se projeta para dentro do ventrículo lateral. Esse tipo de tumor é composto por células bifásicas pleomórficas, dentro de matriz fibrilar disposta de forma entrelaçada e como rosetas perivasculares. As células apresentam formato fusiforme a poligonal, com citoplasma eosinofílico abundante, semelhante a gemistócitos (Duniho et al., 2000; Higgins et al., 2017).

O astrocitoma pilocítico ocorre de forma circunscrita na região de tálamo, lobo temporal e nervo óptico. Microscopicamente apresenta células bipolares compactas, que se assemelham a fios de cabelo, formando feixes ou áreas microcísticas. Fibras de Rosenthal, gotículas granulares hialinas, corpos eosinofílicos intracitoplasmáticos e capilares glomeruloides também são observados nestes tumores (Stoica et al., 2004; Higgins et al., 2017).

Astrocitoma gemistocítico é encontrado mais frequentemente no cerebelo e menos frequentemente na medula espinhal. Macroscopicamente se apresenta como área extensa bem demarcada, amarronzada, intercalada por áreas necróticas amareladas e áreas císticas. Microscopicamente é composto por cordões de células arredondadas com citoplasma eosinofílico e núcleo excêntrico, semelhantes aos gemistócitos (Higgins et al., 2017; Koehler et al., 2018).

Xantoastrocitoma pleomórfico foi descrito somente uma vez em um cão, como uma massa bem delimitada, com bordas hemorrágicas e centro amarronzado, com localização intra-axial na medula oblonga. Microscopicamente apresenta células pleomórficas, pode conter células gigantes, vacuolizações citoplasmáticas pouco coradas, negativas na coloração de PAS. Há também pequenas células alongadas e fibras reticulares ao redor de grupos de células neoplásicas. A neoplasia também contém vasos sanguíneos pequenos e tortuosos, bem como vasos maiores (Hostnik et al., 2015; Higgins et al., 2017).

O astroblastoma é um tumor raramente relatado em cães (Coward et al., 2005), caracterizado pela formação de rosetas constituídas por células alongadas de citoplasma eosinofílico em paliçada, dispostas ao redor de um vaso sanguíneo central. Este tumor é reativo na marcação IHQ para S-100 e GFAP (Coward et al., 2005; Stoica et al., 2011).

O astrocitoma angiocêntrico foi relatado em felino. Macroscopicamente caracteriza-se por leptomeninges do bulbo olfatório, córtex olfatório, giros cerebrais e núcleo septal espessados, coloração cinza a marrom, é firme, com pequenas áreas de hemorragia. Microscopicamente apresenta densos agregados de células neoplásicas poligonais a alongadas arranjadas ao longo dos espaços perivasculares, ocasionalmente orientadas perpendicularmente nos vasos sanguíneos, formando paliçadas. Na IHQ há forte marcação das células neoplásicas para GFAP, S-100 e vimentina (Rissi et al., 2019).

O marcador imuno-histoquímico para astrocitoma é o GFAP, com aproximadamente 84% das células marcadas, sendo mais acentuada nos tumores bem diferenciados (Stoica et al., 2004), apesar de ser descrita marcação constante dos glioblastomas (Lipsitz et al., 2003; Louis et al., 2007). Por outro lado, anti-Nestina produz boa marcação, tanto em tumores bem diferenciados quanto nos indiferenciados (Ide et al., 2010). O marcador S-100 (Stoica et al., 2011) e o DCX geram marcação mais discreta nos astrocitomas (Duniho et al., 2000; Ide et al., 2010). O marcador MAPs (do inglês *microtubule-associated proteins*, são grupos de proteínas do citoesqueleto, sendo MAP2 regulador da homeostase dos microtúbulos, com importante função em astrócitos) é um marcador rotineiramente utilizado em gliomas humanos e com algum grau de marcação nos astrocitomas caninos (Demeter et al., 2019). Neurofilamento, β III Tubulina, e citoqueratina não apresentam marcação em astrocitomas (Ide et al., 2010).

A proteína p53 é responsável por induzir a apoptose após dano ao DNA celular. Cerca de 35% dos astrocitomas têm superexpressão da p53, sendo que as áreas mais fortemente marcadas para essa proteína são aquelas com células menos diferenciadas, evidenciando a relação direta entre a mutação em p53 e os astrocitomas (Stoica et al., 2004).

Alguns marcadores são utilizados para auxiliar no prognóstico dos astrocitomas, como a proteína transmembrana EGFR (do inglês *Epidermal growth factor receptor*), expressa em aproximadamente 52% dos gliomas, sendo que os menos diferenciados apresentam maiores marcações, assim como o Ki-67, marcador de proliferação celular, com maior marcação em tumores menos diferenciadas (Fraser et al., 2016).

2.4 Neoplasias de Plexo Coroide

Os tumores de plexo coroide (TPC) são neoplasias mais comuns em cães (Higgins et al., 2017), raros em felinos (Troxel et al., 2003), caprinos (Klopfleisch et al., 2006; Löhr, 2013), bovinos (Ortloff et al., 2017) e equinos (Sardon et al., 2008; Rocha et al., 2014). Nos caninos a prevalência é de 0,1% e de 4 a 5.7% quando comparada aos tumores primários do SNC (Snyder et al., 2006; Westworth et al., 2008; Song et al., 2013). A média da idade dos caninos afetados é de 6 anos, porém, não foi observada correlação entre idade do animal e ocorrência do tumor (Song et al., 2013) e nem predileção por sexo (Westworth et al., 2008). A média de peso dos caninos é de 23 quilos sendo, então, uma neoplasia de cães de médio a grande porte (Song et al., 2013), com as raças Golden Retriever, Dálmata e Setter Inglês mais predispostas à ocorrência dos TPC (Westworth et al., 2008; Song et al., 2013).

Os TPC são relatados em telencéfalo, diencéfalo, mielencéfalo, mesencéfalo e cerebelo (Snyder et al., 2006). O quarto ventrículo é o local mais acometido, com 46% de todos os tipos de neoplasia encefálica, seguido do terceiro ventrículo com 36% e ventrículos laterais com 18% dos TPC, sendo os carcinomas mais frequentes que os papilomas (Westworth et al., 2008).

O sinal clínico mais comumente observado é mudança de comportamento, seguido por síndrome vestibular, alteração no posicionamento do pescoço, convulsões e regurgitação (Andrade et al., 2019; Snyder et al., 2006; Pastorello et al., 2010).

Macroscopicamente, os tumores de plexo coroide são bem delimitados, com coloração acinzentada a brancacenta e avermelhada. Podem apresentar-se como massas de superfície irregular ou crescimento papiliforme que se projeta para a luz dos ventrículos, podendo ocasionar hidrocefalia por obstrução e perda da capacidade de absorção do líquido (Westworth et al., 2008; Pastorello et al., 2010; Higgins et al., 2017), tanto nos tumores benignos como malignos, com porcentagens de 90 e 82%, respectivamente (Muscatello et al., 2018). Frequentemente, TPC classificados histologicamente como benignos apresentam comportamento maligno, como invasão do parênquima encefálico (Westworth et al., 2008; Muscatello et al., 2018). Por outro lado, os locais mais frequentemente invadidos, em ordem decrescente, são parênquima encefálico, região intraventricular e espaço subaracnoide (Muscatello et al., 2018). Reação subependimária secundária ao tumor pode ser observada (Rocha et al., 2014).

Os tumores de plexo coroide são classificados em três tipos: papilomas de plexo coroide (PPC), papiloma atípico de plexo coroide (PAPC) e carcinoma de plexo coroide (CPC)

(Westworth et al., 2008; Higgins et al., 2017), sendo 36 a 42% classificados como benignos e 58 a 64% como malignos (Westworth et al., 2008; Muscatello et al., 2018). Os PPC ou tumor de plexo coroide grau I (TPC I) possuem arquitetura arboriforme, com camada de células colunares a cuboides, estroma fibrovascular delicado, muito semelhante ao plexo coroide normal, porém, a celularidade é maior, podendo haver estratificação e áreas de mineralização (Westworth et al., 2008; Wolburg e Paulus, 2010; Higgins et al., 2017). As mitoses nesse tumor são incomuns, com menos de uma figura a cada 10 campos de maior aumento (400X) (Louis et al., 2007). Os PAPC ou tumores de plexo coroide grau II (TPC II) são muito raros, possuindo pelo menos duas das quatro características a seguir: maior celularidade, atipia nuclear, perda do padrão papilar e necrose (Higgins et al., 2017; Muscatello et al., 2018). Os CPC ou tumores de plexo coroide grau III (TPC III) possuem pelo menos quatro das seis características a seguir: mais de cinco figuras de mitose por 10 campos de maior aumento; atipia nuclear; múltiplas camadas epiteliais; grande densidade celular; perda do padrão papilar, com formação de camadas sólidas; e áreas de necrose (Westworth et al., 2008; Pastorello et al., 2010; Higgins et al., 2017). Também é comum encontrar nos TPC III invasão local, propagação extraventricular no espaço subaracnoide do encéfalo e da medula espinhal, muitas vezes impossibilitando a identificação do local de origem do tumor (Westworth et al., 2008; Muscatello et al., 2018). Desmoplasia pode ser observada nos TPC III (65%) e TPC I (9%) (Muscatello et al., 2018).

Nos exames citológicos do líquido podem ser observados grupos coesos de células de aparência epitelial, pode haver anisocitose e anisocariose variadas, conforme a diferenciação do tumor (Pastorello et al., 2010). Aumento da densidade vascular é observada em aproximadamente 61% dos casos de TPC e não está associada ao grau de classificação dos tumores, enquanto é observada proliferação glomeruloide microvascular em 27% dos tumores, sendo 43% de CPC e apenas 4% de PPC (Muscatello et al., 2018). Na reação de IHQ, o Fator de expressão de crescimento vascular só não foi observado em 12% dos casos de TPC, porém a marcação foi fraca, tanto nos PPC quanto nos CPC (Muscatello et al., 2018).

Na marcação IHQ, TPC com anaplasia marcada foram positivos para pancitoqueratina e citoqueratina AE1, enquanto a citoqueratina AE3 marcou mais os tumores menos diferenciados, além de células com diferenciação escamosa (Cantile et al., 2002; Higgins et al., 2017). Alguns TPC podem apresentar marcação para GFAP e S-100 (Cantile et al., 2002; Pastorello et al., 2010; Wolburg e Paulus, 2010). Marcação acentuada para vimentina pode

ocorrer nas células neoplásicas, apesar de não ocorrer marcação em células normais do plexo coroide (Cantile et al., 2002; Pastorello et al., 2010).

Para o prognóstico do tumor pode se fazer correlação com a diferenciação celular e com o grau de proliferação celular e microvascular. No plexo coroide normal aproximadamente 0,15% das células epiteliais são marcadas com Ki67, enquanto que nos CPC 5,14% e nos PPC 0,94% de células são marcadas (Muscatello et al., 2018).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento na expectativa de vida dos animais de companhia, por meio do controle de doenças infecciosas e pelos avanços na Medicina Veterinária levou a um aumento de doenças relacionadas com a idade, como as neoplasias. Ao mesmo tempo, técnicas outrora inacessíveis como a imuno-histoquímica e exames de imagem avançados como ressonância magnética se tornaram cada vez mais utilizados e presentes na rotina diagnóstica veterinária. A utilização de um sistema adequado e único de classificação e graduação de neoplasias primárias do sistema nervoso central se faz necessário para que as áreas de clínica, imagem, cirurgia e patologia veterinária possam interagir entre si para uma conduta cada vez mais adequada no diagnóstico e tratamento dessas neoplasias. Os caninos são a espécie mais frequentemente acometida pelas neoplasias do SNC, sendo as características desses tumores semelhantes às encontradas em humanos, desta forma as informações e avanços obtidos no estudo das neoplasias em cães contribuem para o entendimento das neoplasias em humanos.

REFERÊNCIAS

1. ANDRADE, T. M. et al. Ependimoma anaplásico em cão. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 1, p. 389, 2019.
2. ARECO, W. V. C. et al. Graduação histológica e aspectos clínico-patológicos relacionados em 22 meningiomas de cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 751-761, 2018.
3. BENTLEY, R. et al. Canine intracranial gliomas: relationship between magnetic resonance imaging criteria and tumor type and grade. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 2, p. 463-471. 2013.
4. CANTILE, C. et al. Pathological and immunohistochemical studies of choroid plexus carcinoma of the dog. **Journal of Comparative Pathology**, v. 126, n. 2-3, p. 183-193, 2002.
5. CAVASIN, J., MILLER, A., DUHAMEL, G. Intracerebral astrocytoma in a horse. **Journal of Comparative Pathology**, v. 177, p. 1-4, 2020.
6. CHAVES, R.O. et al. Neoplasias encefálicas em 40 cães: aspectos clínico-epidemiológicos e patológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 734-740, 2018.
7. COWART, J.; SCHULMAN, F.; MENA, H. Low-grade glial tumor with features of astroblastoma in a dog. **Veterinary Pathology**, v. 42, n. 3, p. 366-369, 2005.
8. CULLEN, J. M., BREEN, M. An overview of molecular cancer pathogenesis, prognosis and diagnosis. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 5 ed., Raleigh: John Wiley & Sons. 2017. p.1-26.
9. D'ANGELO, A. et al. Astrocytoma in a chamois: Astrozytom bei einer Gemse. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 147, n. 10, p. 453-455, 2005.
10. DE LAS MULAS, J. M. N. et al. Fibrillary astrocytoma in a goat: Pathologic, immunohistochemical, and ultrastructural study. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, n. 3, p. 387-389, 1996.

11. DEMETER, E. et al. Microtubule-Associated Protein 2 Expression in Canine Glioma. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 395, 2019.
12. DERAKHSHANFAR, A., MOZAFFARI, A. First report of oligodendroglioma in a sheep. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 81, n. 2, p. 114-115, 2010.
13. DICKINSON, P. et al. Clinical and pathologic features of oligodendrogliomas in two cats. **Veterinary Pathology**, v. 37, n. 2, p. 160-167, 2000.
14. DUNIHO, S. et al. A subependymal giant cell astrocytoma in a cat. **Veterinary Pathology**, v. 37, n. 3, p. 275-278, 2000.
15. ERAVCI YALIN, E. et al. Intramedullary spinal cord meningioma in a Boxer: A case report. **Veterinari Medicina**, v. 60, n. 4, p. 222-226, 2015.
16. FILLEY, A., et al. Immunologic and gene expression profiles of spontaneous canine oligodendrogliomas. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 137, p.469-479. 2018.
17. FINNEGAN, D. et al. Meningeal granular cell tumour in a green tree python (*Morelia viridis*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 174, p. 54-57, 2020.
18. FRASER, A. et al. Epidermal growth factor receptor and Ki-67 expression in canine gliomas. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 6, p. 1131-1137, 2016.
19. HEADLEY, S. et al. Central primitive neuroectodermal tumour with ependymal differentiation in a dog. **Journal of Comparative Pathology**, v. 140, n. 1, p. 80-83, 2009.
20. HIGGINS, R. J. et al. Tumors of the Nervous System. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in Domestic Animals**. 5 ed. Raleigh: John Wiley & Sons. 2017. p. 834-891.
21. HOSTNIK, E. et al. Pleomorphic xanthoastrocytoma within the medulla oblongata of a young dog. **Veterinary Pathology**, v. 52, n. 1, p. 176-180, 2015.

22. HUSSEIN, A. K., SULLIVAN, M., PENDERIS, J. Effect of brachycephalic, mesaticephalic, and dolichocephalic head conformations on olfactory bulb angle and orientation in dogs as determined by use of in vivo magnetic resonance imaging. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 7, p. 946-951, 2012.
23. IDE, T. et al. Immunohistochemical characterization of canine neuroepithelial tumors. **Veterinary Pathology**, v. 47, n. 4, p. 741-750, 2010.
24. IDE, T. et al. Expression of cell adhesion molecules and doublecortin in canine anaplastic meningiomas. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 292-301, 2011.
25. KISHIMOTO, T. E. et al. Expression of Oligodendrocyte Precursor Cell Markers in Canine Oligodendrogliomas. **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 5, p. 634-644, 2018.
26. KLOPFLEISCH, R.; BEIER, D., TEIFKE, J. Choroid plexus carcinoma in a goat. **Journal of Comparative Pathology**, v. 135, n. 1, p. 42-46, 2006.
27. KOEHLER, J. W. et al. A revised diagnostic classification of canine glioma: towards validation of the canine glioma patient as a naturally occurring preclinical model for human glioma. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 77, n. 11, p. 1039-1054, 2018.
28. LIPSITZ, D. et al. Glioblastoma multiforme: clinical findings, magnetic resonance imaging, and pathology in five dogs. **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 6, p. 659-669, 2003.
29. LÖHR, C. One hundred two tumors in 100 goats (1987–2011). **Veterinary Pathology**, v. 50, n. 4, p. 668-675, 2013
30. LOUIS, D. N. et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. **Acta Neuropathologica**, v. 114, n. 2, p. 97-109, 2007.

31. MARCASSO, R. A. et al. Meningiomas em cães: aspectos clínicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 10, p. 844-852, 2015.
32. MESCHER, A. L. **Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas**. 13 ed., New York: McGraw Hill Education, 2018. 511p.
33. MEYERHOLZ, D., HAYNES, J. Solitary retinal astrocytoma in a dog. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 2, p. 177-178, 2004.
34. MONTOLIU, P. et al. Histological and immunohistochemical study of 30 cases of canine meningioma. **Journal of Comparative Pathology**, v. 135, n. 4, p. 200-207, 2006.
35. MOTTA, L., MANDARA, M.T., SKERRITT, G.C. Canine and feline intracranial meningiomas: an updated review. **Veterinary Journal**, v. 192, n. 2. P. 153-165.2012.
36. MUSCATELLO, L. V. et al. Glomeruloid microvascular proliferation, desmoplasia, and high proliferative index as potential indicators of high grade canine choroid plexus tumors. **Veterinary Pathology**, v. 55, n. 3, p. 391-401, 2018.
37. NARANJO, C., SCHOBERT, C., DUBIELZIG, R. Canine ocular gliomas: a retrospective study. **Veterinary Ophthalmology**, v. 11, n. 6, p. 356-362, 2008.
38. NAYLOR, R. et al. A retrobulbar meningioma as a cause of unilateral exophthalmos and blindness in a horse. **Equine Veterinary Education**, v. 22, n. 10, p. 503-510, 2010.
39. OLIVEIRA, T. S. et al. Neurological diseases of cattle diagnosed by histopathology in Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 9, n. 2, p. 62-69, 2016.
40. ORTLOFF, A., NEUMANN, J., ILLANES, O. Concurrent gliosarcoma and choroid plexus carcinoma in a cow. **Journal of Comparative Pathology**, v. 156, n. 1, p. 25-28, 2017.

41. PASTORELLO, A., CONSTANTINO-CASAS, F., ARCHER, J. Choroid plexus carcinoma cells in the cerebrospinal fluid of a Staffordshire Bull Terrier. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 39, n. 4, p. 505-510, 2010.
42. PAVELIN, S. et al. The significance of immunohistochemical expression of merlin, Ki-67, and p53 in meningiomas. **Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology**, v. 22, n. 1, p. 46-49, 2014.
43. PLATTNER, B. L. et al. Gliomatosis cerebri in two dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 48, n. 5, p. 359-365, 2012.
44. POLI, F. et al. Central nervous system metastasis of an intradural malignant peripheral nerve sheath tumor in a dog. **Open Veterinary Journal**, v. 9, n. 1, p. 49–53-49–53, 2019.
45. REIS Jr, J. et al. Orbital (retrobulbar) meningioma in a Simmental cow. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 4, p. 504-507, 2007.
46. RISSI, D. R., MCHALE, B. J., ARMIÉN, A. G. Angiocentric astrocytoma in a cat. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, n. 4, p. 576-580, 2019.
47. ROCHA, P. R. D. A. et al. Subependymal reaction secondary to choroid plexus papilloma in a horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 4, p. 524-527, 2014.
48. SANTOS, R. P. et al. Neoplasma envolvendo o sistema nervoso central de cães: 26 casos (2003-2011). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, p.153-158, 2012.
49. SALVADORI, C. et al. Footpad peripheral ganglioneuroblastoma in a dog. **Veterinary Dermatology**, v. 30, n. 4, p. 346-e100, 2019.
50. SARDON, D. et al. Choroid plexus papilloma of the fourth ventricle of the plexus in a horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 9, p. 545-548, 2008.

51. SISO, S. et al. An anaplastic astrocytoma (optic chiasmatic-hypothalamic glioma) in a dog. **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 5, p. 567-569, 2003.
52. SNYDER, J. M. et al. Canine intracranial primary neoplasia: 173 cases (1986–2003). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 3, p. 669-675, 2006.
53. SONG, R. et al. Postmortem evaluation of 435 cases of intracranial neoplasia in dogs and relationship of neoplasm with breed, age, and body weight. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 5, p. 1143-1152, 2013.
54. STOICA, G. et al. Morphology, immunohistochemistry, and genetic alterations in dog astrocytomas. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 1, p. 10-19, 2004.
55. STOICA, G. et al. Canine astrocytic tumors: a comparative review. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 266-275, 2011.
56. STURGES, B. et al. Magnetic resonance imaging and histological classification of intracranial meningiomas in 112 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 3, p. 586-595, 2008.
57. TROXEL, M. T. et al. Feline intracranial neoplasia: retrospective review of 160 cases (1985–2001). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 6, p. 850-859, 2003.
58. WENTZ, M. F. et al. Cholesteatoma and hydrocephalus associated to a third ventricle meningioma in a cat. **Ciência Rural**, v. 49, n. 10, 2019.
59. WESSELING, P., van den BENT, M., PERRY, A. Oligodendroglioma: pathology, molecular mechanisms and markers. **Acta Neuropathologica**, v. 129, n. 6, p. 809-827, 2015.
60. Westworth, D. R., Dickinson, P. J., Vernau, W., Johnson, E. G., Bollen, A. W., Kass, P. H., Higgins, R. J. Choroid plexus tumors in 56 dogs (1985–2007). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n.5, p. 1157-1165. 2008.

61. WOLBURG, H., PAULUS, W. Choroid plexus: biology and pathology. **Acta Neuropathologica**, v. 119, n. 1, p. 75-88, 2010.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 - Mature intracranial teratoma with meningocele in a lamb

Publicado na revista: Ciência Rural, Santa Maria, v.50:12, e20200248, 2020

Qualis B1

Mature intracranial teratoma with meningocele in a lamb

Teratoma intracraniano benigno com meningocele em um cordeiro

ABSTRACT

This study describes the pathological aspects of a mature intracranial teratoma with meningocele in a one-day-old lamb. The diagnosis of mature teratoma was based on microscopic features, where well-differentiated tissues representative of the three germ layers were observed. The tumor consisted of respiratory, gastrointestinal and urinary epithelium as components of the endoderm; muscle and bone tissues as components of the mesoderm; and keratinized stratified squamous epithelium and adnexa as components of the ectoderm. To the best of our knowledge, this is the first report of intracranial teratoma with meningocele in animals.

Keywords: intracranial teratoma; meningocele; lamb;

RESUMO

Descrevem-se os aspectos patológicos de um teratoma intracraniano benigno com meningocele em um cordeiro de um dia de idade. O diagnóstico de teratoma benigno foi baseado nos achados histopatológicos, com tecidos representativos das três camadas germinativas. O tumor consistia de epitélio respiratório, gastrintestinal e urinário como componentes do endoderma; tecido muscular e ósseo do mesoderma; e epitélio escamoso estratificado queratinizado e anexos como componentes do ectoderma. Com base no conhecimento dos autores, este é o primeiro relato de teratoma intracraniano com meningocele em animais.

Palavras-chaves: teratoma intracranial; meningocele; cordeiro.

Teratomas are tumors that contain cellular components derived from at least two of the three embryonic germ layers (Reindel *et al.*, 1996). They probably arise from pluripotential germ cells that have undergone differentiation (AGNEW & MACLACHLAN, 2017). Teratomas in humans account for approximately 0.5–1% of primary adult intracranial tumors, with a higher frequency in children (~7%) and are more common in the pineal region, suprasellar cistern, basal ganglia, and thalamus (Zygourakis *et al.*, 2015).

In non-human mammals, intracranial teratomas have been reported in alpaca (Hill e Mirams, 2008), cat (Chénier *et al.*, 1998), rat (Reindel *et al.*, 1996), dog (Patnaik e Nafe,

1980), rabbit (Bishop, 1978), sheep (Damodaran *et al.*, 1978) and deer (HEADLEY *et al.*, 2016), with younger animals being the most affected (Chénier *et al.*, 1998).

Histologically, teratomas can be classified as mature or immature tumors. A mature teratoma consists of the complete differentiation of the ectodermal, mesodermal and endodermal elements (COLPAN *et al.*, 2004). Immature teratoma have more undifferentiated tissue consisting of embryonic mesodermal elements and neuroectodermal tissue and have a high mitotic index (HIGGINS *et al.*, 2017).

Meningocele is a congenital anomaly in domestic animals characterized by the herniation of fluid-filled meninges through a defect in the cranium. The herniation is related to the suture lines, usually in the frontal region. It occurs from a focal failure of dehiscence of the neural tube from the embryonic ectoderm, accompanied by a focal failure of the development of the axial skeletal encasement (Maxie, 2007). In animals, meningocele has been reported in calves (Lapointe *et al.*, 2000) lambs (Kohli, 1998), foals, pigs (CHO *et al.*, 2015) and cats (Maxie, 2007).

The association of tumors in the central nervous system with defects of the neural tube is rare and has been reported in humans, such as in the association of an encephalocele and spinal teratoma (Radmanesh *et al.*, 2007) and in the Currarino triad, a congenital disease characterized by sacral agenesis, anorectal malformations, and a presacral mass, which in most cases is a teratoma in the spinal cord (Chakhalian *et al.*, 2017; Bagrodia *et al.*, 2018; Emoto *et al.*, 2018). This report aimed to describe the pathological aspects of a mature intracranial teratoma with meningocele in a lamb.

A one-day-old male Santa Inês lamb was submitted to necropsy in the Veterinary Pathology Laboratory at the Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais State, Brazil. At necropsy, a two-centimeter osseous defect (cranium bifidum), not covered by skin, in the dorsal region of the parietal bone with a 2.0x2.5x2.5 cm protrusion of fluid-filled meninges (meningocele) (Fig. 1A) was found. A viscous fluid (Figure 1B) involving the leptomeninges from the meningocele to the cerebellum and brainstem region was observed. The cerebellum was laterally displaced, with flattening of the gyri and narrowing of the sulci, and on the right side, there was a firm whitish mass with an area of 3,0x2.5 cm with hairs protruding on its surface (Figure 1C). The mass involved the colliculi, was impossible to distinguish between the caudal and rostral colliculi, and displaced the medulla oblongata laterally. The hairs were deeper in the brainstem and terminated in a cystic cavity filled with viscous fluid. Discrete bilateral enlargement of the lateral ventricles was also observed. Tissue samples were fixed in

10% neutral buffered formalin and routinely processed for histopathologic examination. Additional brain sections were submitted to alcian blue staining.

Microscopically, a pseudostratified columnar ciliated epithelium with goblet cells, associated with serous glands in the submucosa (Figure 2A), characterizing a typical respiratory epithelium, was observed. In other areas, osseous tissue forming trabecular bone was observed (Figure 2B). Adjacent to the respiratory epithelium, there was a keratinized stratified squamous epithelium (Figure 2C) associated with hair follicles and sweat and sebaceous glands. As a continuation of this epithelium, there was a stratified and nonkeratinized squamous epithelium, with mucous glands in the submucosa and two muscular layers (internal circular and external longitudinal) immediately below it, structures that resembled a segment of the esophagus. Additionally, there were areas with a transitional urinary epithelium, characterized by basal nuclei and a greater amount of apical cytoplasm in the outermost layer. In several regions, striated skeletal muscle and smooth muscle were observed. Alcian blue staining (pH 2.5) demonstrated acidic mucin in the cytoplasm of the serous glands, mucous glands, and goblet cells (Figure 2D).

The etiology and pathogenesis of extragonadal teratomas are still obscure. Some theories affirm that some embryonic germ cells do not reach the gonadal ridge and migrate aberrantly. These ectopic germ cells are generally incorporated into midline structures, which can be associated with the head, mediastinum or sacrococcygeal region. Lacking the signs of normal maturation, these ectopic germ cells conserve their pluripotential capacity and can develop into teratomas or any other type of germ cell neoplasm (TAPPER & LACK, 1984). The possibility of two different pathogeneses, one for teratoma and the other for meningocele, cannot be excluded. However, teratomas associated with defects of the neural tube are reported in humans (EMOTO et al., 2018, RADMANESH et al., 2007).

In the case described here, the diagnosis of mature intracranial teratoma was based on the microscopic findings of well-differentiated tissue originating from the three germ layers. Respiratory, esophageal and urinary epithelium represented the endoderm, bone and muscular tissue represented the mesoderm and the keratinized stratified squamous epithelium, associated with hair follicles and sweat and sebaceous glands, represented the ectoderm. These histological characteristics are consistent with those described in the literature (Reindel *et al.*, 1996). To the best of our knowledge, this is the first report of intracranial teratoma with meningocele in animals.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Capes for granting a master's scholarship and the Minas Gerais Research Foundation – FAPEMIG (Processo CVZ-PPM 00763-16) for financial support.

REFERENCES

- AGNEW, D.W.; MACLACHLAN, J.N. Tumors of the Genital System. In: MEUTEN, D.J. **Tumor in Domestic Animals**. Ames: John Wiley & Sons Inc., 2017. cap.16, p. 689-722.
- BAGRODIA, N.; CARLISLE, E. M.; MAK, G. Z. Sacrococcygeal teratoma: Atypical presentations in two neonates. **Journal of Pediatric Surgery Case Reports**, v. 33, p. 41-45, 2018. ISSN 2213-5766.
- BISHOP, L. Intracranial teratoma in a domestic rabbit. **Veterinary pathology**, v. 15, n. 4, p. 525-530, 1978. ISSN 0300-9858.
- CHAKHALIAN, D. et al. Multidisciplinary surgical treatment of presacral meningocele and teratoma in an adult with Currarino triad. **Surgical neurology international**, v. 8, 2017.
- CHÉNIER, S.; QUESNEL, A.; GIRARD, C. Intracranial teratoma and dermoid cyst in a kitten. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 10, n. 4, p. 381-384, 1998. ISSN 1040-6387.
- DAMODARAN, S.; RAMAKRISHNAN, R.; THANIKACHALAM, M. Teratoma of the brain in a sheep [India]. Short communication. **Indian Veterinary Journal**, 1978. ISSN 0019-6479.
- EMOTO, S. et al. Surgical management for a huge presacral teratoma and a meningocele in an adult with Currarino triad: a case report. **Surgical case reports**, v. 4, n. 1, p. 9, 2018. ISSN 2198-7793.
- HILL, F.; MIRAMS, C. **Intracranial teratoma in an alpaca (Vicugna pacos) in New Zealand**: British Medical Journal Publishing Group 2008.
- KISHIMOTO, T. E. et al. Expression of Oligodendrocyte Precursor Cell Markers in Canine Oligodendrogliomas. **Vet Pathol**, v. 55, n. 5, p. 634-644, Sep 2018. ISSN 1544-2217 (Electronic) 0300-9858 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29852819> >.
- KOHLI, R. Congenital meningocele with a rare skull defect in a lamb. **Australian veterinary journal**, v. 76, n. 4, p. 252, 1998. ISSN 0005-0423.
- LAPOINTE, J.-M.; LACHANCE, S.; STEFFEN, D. J. Tibial hemimelia, meningocele, and abdominal hernia in Shorthorn cattle. **Veterinary pathology**, v. 37, n. 5, p. 508-511, 2000. ISSN 0300-9858.
- MAXIE, M. G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals**. 2007. ISBN 0702028231.
- MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. John Wiley & Sons, 2016. ISBN 1119181194.

MONTOLIU, P. et al. Histological and immunohistochemical study of 30 cases of canine meningioma. **Journal of comparative pathology**, v. 135, n. 4, p. 200-207, 2006. ISSN 0021-9975.

PATNAIK, A.; NAFE, L. Intracranial teratocarcinoma in a dog. **Veterinary pathology**, v. 17, n. 6, p. 764-769, 1980. ISSN 0300-9858.

RADMANESH, F.; NEJAT, F.; MONAJEMZADEH, M. Teratoma within an encephalocele: common etiology or coincidence: Case report. **Journal of Neurosurgery: Pediatrics**, v. 107, n. 3, p. 263-265, 2007. ISSN 0022-3085.

REINDEL, J. et al. Malignant intracranial teratoma in a juvenile Wistar rat. **Veterinary pathology**, v. 33, n. 4, p. 462-465, 1996. ISSN 0300-9858.

SNYDER, J. M. et al. Canine intracranial primary neoplasia: 173 cases (1986–2003). **Journal of veterinary internal medicine**, v. 20, n. 3, p. 669-675, 2006. ISSN 0891-6640.

SONG, R. et al. Postmortem evaluation of 435 cases of intracranial neoplasia in dogs and relationship of neoplasm with breed, age, and body weight. **Journal of Veterinary internal medicine**, v. 27, n. 5, p. 1143-1152, 2013. ISSN 0891-6640.

ZYGOURAKIS, C. C. et al. Management of central nervous system teratoma. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 22, n. 1, p. 98-104, 2015. ISSN 0967-5868.

Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0967586814003749>.

Accessed: feb 19, 2020. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.03.039.

Figures and Legends

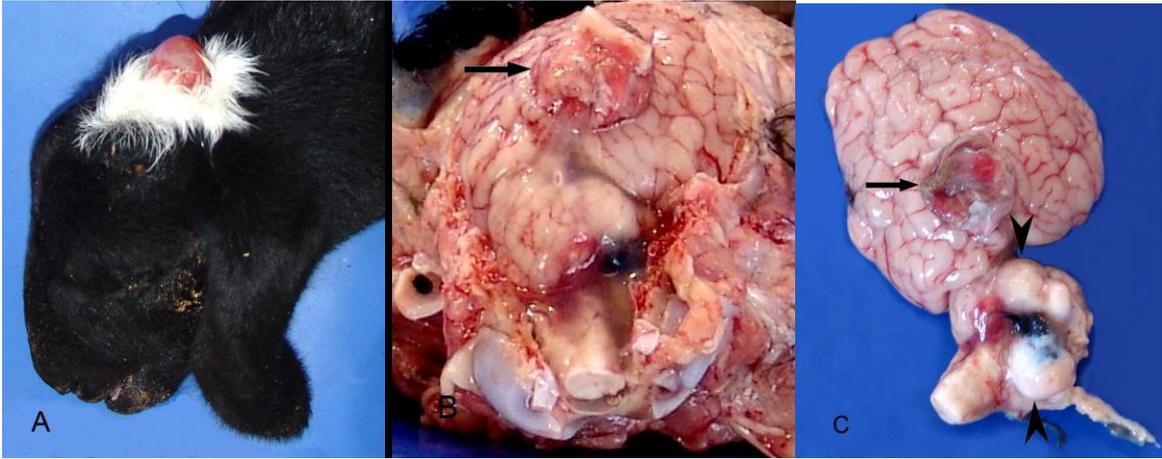


Fig. 1. Intracranial teratoma with meningocele in a lamb. (A) Cranium bifidum and meningocele. (B) Meningocele (arrow) and teratoma with a viscous fluid involving the leptomeninges. (C) Meningocele (arrow) and teratoma with black hairs (arrowhead) in the region of the cerebellum and brainstem.

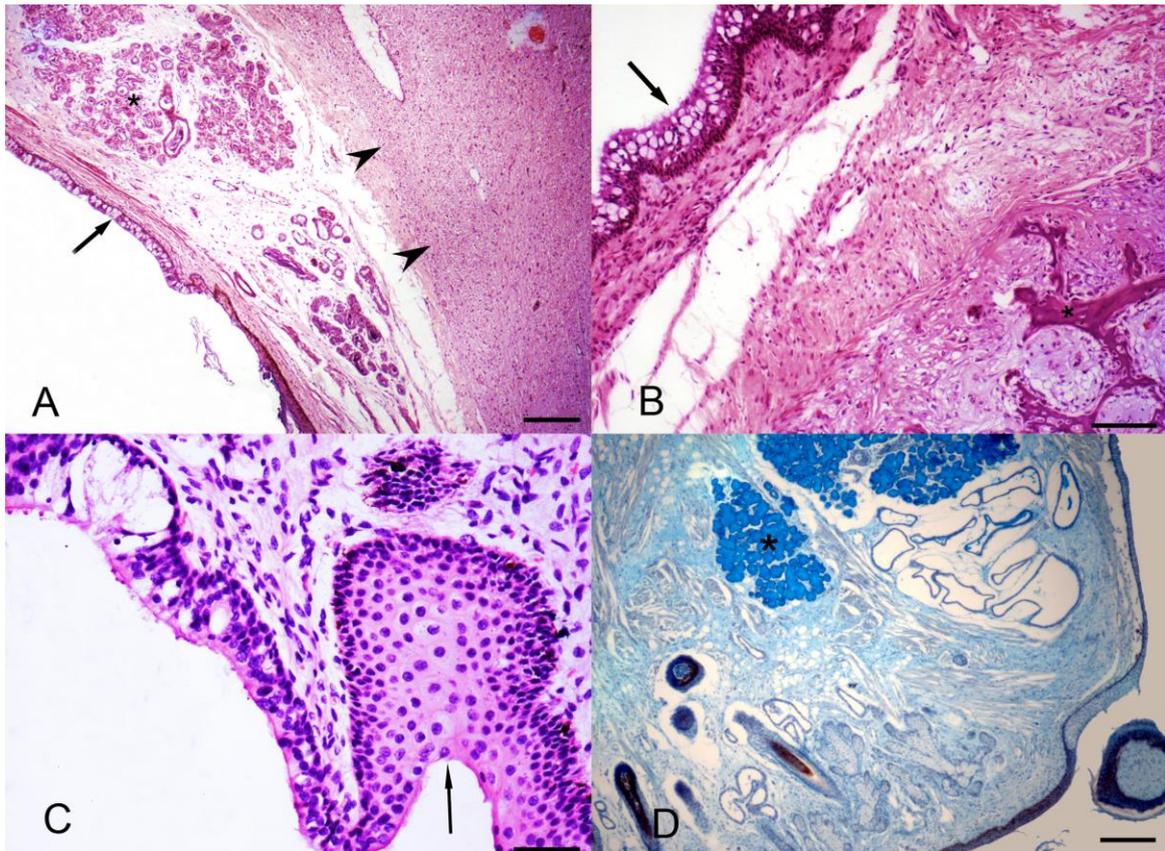


Fig. 2. Intracranial teratoma in a lamb. (A) Pseudostratified columnar ciliated epithelium (arrow) associated with serous glands (asterisks) and nervous tissue (arrowhead), H&E staining, bar 200 μm . (B) Respiratory epithelium (arrow) and areas with osseous tissue and trabecular bones (asterisks), H&E staining, bar 100 μm . (C) Respiratory epithelium changing to keratinized stratified squamous epithelium (arrow), H&E staining, bar 50 μm . (D) Stratified keratinized squamous epithelium, associated with hair follicles and sweat and sebaceous glands (arrowhead), which was continued with stratified nonkeratinized squamous epithelium and mucous glands with acidic mucin (asterisks), alcian blue staining (pH 2.5), bar 200 μm .

ARTIGO 2 – Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos de tumores primários do sistema nervoso central de caninos

Trabalho escrito conforme as normas do periódico Pesquisa Veterinária Brasileira – Qualis A2

Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos de tumores primários do sistema nervoso central de caninos (2000-2021)

ABSTRACT. - **Histological and immunohistochemical aspects of primary tumors of the canine central nervous system (2000-2021).** *Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):000-000.* Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Campus Universitário. Cx Postal 3037, Lavras. MG 37200-900, Brazil. E-mail:

Nine cases of primary tumors of the central nervous system (CNS) in dogs diagnosed over a 21-year period were reviewed according to the criteria of the World Health Organization (WHO 2007) and Higgins et al. (2017), and subjected to IHQ labeling using the primary antibodies anti-NeuN, -specific neuron enolase, -Olig2, -GFAP, -neurofilament, -S-100, -chromogranin, -synaptophysin, -pan-cytokeratin, -vimentin and -PCNA. Information regarding sex, age, breed, clinical signs, anatomical location, and macroscopic lesions were also documented. The frequency of primary CNS neoplasms, when compared with neoplasms in different systems, was 2.62%. The most frequently diagnosed neoplasms were meningioma (55.5%), oligodendroglioma (33.3%) and astrocytoma (=glioblastoma; 11.1%), respectively. Meningiomas showed immunolabeling to vimentin, PCNA, and pan-cytokeratin, with more intense anti-pan-cytokeratin labeling in psammomatous meningioma. Oligodendrogliomas showed marked immunolabeling for Olig2, moderate for vimentin and moderate to accentuated for PCNA. The glioblastoma was markedly labeled for GFAP and moderate for vimentin. Based on microscopic characteristics and reinforced by IHC, tumors were classified as transitional meningioma grade I, transitional grade II, psammomatous grade II, papillary grade III, oligodendroglioma grade III, and astrocytoma grade IV. There are little data on the frequency and characteristics of primary neoplasms of the CNS of animals in Brazil. Thus, this study contributes to pathological and epidemiological data on CNS tumors in dogs.

INDEX TERMS: astrocytoma, glioblastoma, meningioma, oligodendroglioma.

RESUMO.- [Aspectos histológicos e imuno-histoquímicos de tumores primários do sistema nervoso central de caninos (2000-2021).] Nove casos de tumor primário do sistema nervoso central diagnosticados em um período de 21 anos foram revisados, de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS 2007) e Higgins et al. (2017) e submetidos à imuno-histoquímica (IHQ) utilizando os anticorpos primários anti-NeuN, -enolase neurônio específica, -Olig2, -GFAP, -neurofilamento, -S-100, -cromogranina, -sinaptofisina, -pancitoqueratina, -vimentina e -PCNA. Informações referentes a sexo, idade, raça, sinais clínicos, localização anatômica e lesões macroscópicas também foram documentadas. A frequência das neoplasias primárias do SNC, quando comparadas com neoplasias em diferentes sistemas, foi de 2,62%. As neoplasias mais frequentemente diagnosticadas foram o meningioma (55,5%), oligodendroglioma (33,3%) e astrocitoma (=glioblastoma; 11,1%). Na marcação IHQ os meningiomas foram fortemente marcados para vimentina, pancitoqueratina e PCNA, com imunomarcacão para pancitoqueratina mais acentuada no meningioma psamomatoso. Os oligodendrogliomas mostraram imunomarcacão acentuada para Olig2, moderada para vimentina e moderada a acentuada para PCNA. O glioblastoma teve marcação acentuada para GFAP e moderada para vimentina. Com base nas características microscópicas, reforçadas pela IHQ, os tumores foram classificados como: meningioma transicional de grau I, transicional grau II, meningioma psamomatoso grau II, meningioma papilar grau III, oligodendroglioma grau III e astrocitoma grau IV. No Brasil existem poucos dados sobre frequência e características das neoplasias primárias do SNC de animais. Desta forma, este estudo contribuirá com dados epidemiológicos e patológicos sobre as neoplasias do SNC em cães.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: astrocitoma, glioblastoma, meningioma, oligodendroglioma

INTRODUÇÃO

As neoplasias do sistema nervoso central (SNC) são relativamente raras na maioria das espécies domésticas e são classificadas de acordo com a origem celular, a forma de crescimento e o grau de diferenciação celular (Sisó et al. 2003, Stoica et al. 2004). Os cães são mais frequentemente acometidos,

com aproximadamente 75% dos casos, seguidos pelos gatos, com 15%, e 10% nas demais espécies animais (Higgins et al. 2017).

A prevalência de neoplasias do SNC em cães é de 4,5%, as de origem primária equivalem a 2,3%, enquanto 2,2% são provenientes de metástases (Song et al., 2013). O sinal clínico mais comumente observado nesses tipos de tumores é a convulsão, seguida por alterações no comportamento, síndrome vestibular, andar em círculos, alterações de locomoção, apatia, paralisia e distúrbios visuais, como cegueira (Snyder et al., 2006; Kishimoto et al., 2018). Tumores primários do SNC dificilmente fazem metástase para outros órgãos e ocorrem, mais frequentemente, em telencéfalo e diencéfalo (Snyder et al., 2006). Em ordem decrescente, os mais frequentemente encontrados são meningioma, oligodendroglioma, astrocitoma e tumores de plexo coroide (Snyder et al. 2006, Song et al. 2013, Chaves et al. 2018),

O grau histológico das neoplasias de SNC varia de I a IV, sendo classificados como grau I as que apresentam baixo potencial de proliferação e possibilidade de sucesso na ressecção cirúrgica (Higgins et al. 2017) com descrição das características da graduação para cada neoplasia primária do SNC.

O meningioma é uma neoplasia derivada das células meningoteliais que recobrem as vilosidades da membrana aracnoide (Higgins et al. 2017). A classificação histológica de neoplasias do SNC proposta pela World Health Organization em 2016 divide os meningiomas em grau I ou benigno (subtipos meningotelial, fibroso, transicional, psamomatoso, angiomatoso, microcístico e secretório), grau II ou atípico (subtipos atípico, cordoide e de células claras), e grau III ou anaplásico (subtipo papilar e rabdoide) (Louis et al. 2007, Higgins et al. 2017). Em geral, os meningiomas são fortemente marcados na IHQ para vimentina (Marcasso et al. 2005, Montoliu et al. 2006). As células que formam espirais e as áreas perivasculares costumam marcar mais fortemente, ao contrário de áreas com formações microcísticas (Montoliu et al. 2006). A imunomarcagem para S-100 é intensa (Montoliu et al. 2006) a moderada (Montoliu et al. 2006, Marcasso et al. 2015) na grande maioria dos meningiomas, em que células com formas fibroblásticas são mais marcadas que células que formam espirais (Montoliu et al. 2006). A expressão de citoqueratina é observada em poucos casos (aproximadamente 17%), com marcação restrita a pequenas áreas (Montoliu et al. 2006).

O oligodendroglioma, neoplasia originária de oligodendrócitos, é classificado como oligodendroglioma grau II quando apresenta figuras de mitose ocasionais associadas a atipia celular marcada, e grau III (anaplásico) quando o tumor apresenta focos de necrose, proliferação microvascular, ou mais de seis figuras de mitose por 10 campos de maior aumento (400x), características essas observadas em aproximadamente 90% desses tumores em cães (Higgins et al. 2017, Kishimoto et al. 2018). Na avaliação IHQ os oligodendrogliomas são marcados pelos anticorpos anti-Olig2 (marcação nuclear forte em 80-90% das células (Wesseling et al. 2015, Higgins et al. 2017, Kishimoto et al. 2018, Koehler et al. 2018).

Os astrocitomas, que são tumores de astrócitos, representam aproximadamente 13,22% de todos os tumores intracranianos em caninos (Song et al. 2013). Eles são classificados em dois grandes subgrupos; os astrocitomas infiltrativos (em que estão incluídos astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico, glioblastoma e gliomatose cerebral), que correspondem a aproximadamente 90% da casuística; e os astrocitomas bem circunscritos, que correspondem a um grupo mais raro e específico (neste grupo estão astrocitoma subependimal de células gigantes, astrocitoma pilocítico, astrocitoma gemistocítico e xantastrocitoma pleomórfico) (Louis et al. 2007). Porém, a classificação dos astrocitomas mais comumente empregada é a graduação de I a IV. Nessa graduação são levados em conta a densidade e atipia celular e o número de mitoses (Louis et al. 2007, Higgins et al. 2017). O marcador imunohistoquímico para astrocitoma é o GFAP, com marcação de aproximadamente 84% das células, mais acentuada nos tumores bem diferenciados (Stoica et al. 2004), apesar de ser descrita marcação constante nos glioblastomas (Lipsitz et al. 2003, Louis et al. 2007). Desta forma, o objetivo deste estudo é classificar pela histopatologia e pela IHQ as neoplasias de SNC em caninos, além de descrever os achados epidemiológicos, clínicos e patológicos das neoplasias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Análise histopatológica e histoquímica. As amostras avaliadas neste estudo são provenientes de neoplasias do SNC de caninos encaminhados para necropsia no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Lavras de 2000 a 2021. Fragmentos das neoplasias foram coletados em formalina tamponada a 10%. As amostras foram processadas rotineiramente para histopatologia e incluídas em parafina, cortadas em seções de 5µm coradas em Hematoxilina e Eosina. Os meningiomas também foram submetidos à coloração histoquímica de Tricrômico de Masson e os oligodendrogliomas ao Alcian Blue. Ao exame histopatológico as neoplasias foram classificadas conforme Higgins et al. (2017).

Imuno-histoquímica. Cortes adicionais foram realizados e dispostos em lâminas silanizadas para realização de IHQ. Foram empregados os anticorpos primários anti-NeuN, -enolase neurônio específica, -Olig2, -GFAP, -neurofilamento (clone 2F11) (NF), -S-100, -cromogranina, -sinaptofisina, -pancitoqueratina, -vimentina e PCNA, conforme protocolo adaptado de Kishimoto et al. (2018). As especificações e a diluição dos anticorpos empregados estão descritas no Quadro 1. A reativação antigênica foi realizada pelo calor, em tampão Tris EDTA (pH 9,0), em micro-ondas doméstico, potência total, por 10 minutos. Para completar a marcação foi utilizado um kit comercial (Polímero Histofine Simple Stain) contendo anticorpo secundário conjugado com biotina e estreptavidina conjugada com peroxidase. A reação foi revelada com DAB (3,3-diaminobenzidina, DAKO). Como controle negativo o anticorpo primário foi substituído por soro fetal bovino e como controle positivo foram utilizadas amostras de SNC, pele (pancitoqueratina e vimentina) e adrenal (enolase, sinaptofisina e cromogranina) de cães.

Quadro 1. Anticorpos utilizados em marcação imuno-histoquímica de neoplasias primárias do sistema nervoso central de cães

Anticorpo	Hospedeiro	Tipo	Diluição	Fabricante
Antígeno Nuclear de Proliferação Celular (PCNA)	Camundongo	Monoclonal	1:1000	Dako Cytomation
PanCitoqueratina AE1/AE3	Camundongo	Coquetel	1:200	Invitrogen
Cromogranina A	Coelho	Policlonal	1:200	Dako Cytomation
EnolaseNeurônio Específica	Camundongo	Monoclonal	Anticorpo pronto	Dako
NeuN	Coelho	Monoclonal	1:1000	Sigma Aldrich
Neurofilamento	Camundongo	Monoclonal	1:1000	Dako Cytomation
Olig2	Coelho	Policlonal	1:1000	Sigma Life Science
Proteína Ácida Fibrilar Glial	Coelho	Policlonal	1:500	Dako Cytomation
Sinaptofisina	Camundongo	Monoclonal	1:20	Dako Cytomation
S100	Camundongo	Monoclonal	1:100	Invitrogen
Vimentina	Camundongo	Monoclonal	1:200	SigmaAldrich

RESULTADOS

No período de 2000 a março de 2021 foram necropsiados 2.672 cães. Destes, 343 (12,83%) foram diagnosticados com neoplasia em diferentes sistemas e, dentre essas neoplasias, nove (2,62%) eram

primárias do SNC, classificadas como meningioma (5/9), oligodendroglioma (3/9) e astrocitoma (glioblastoma) (1/9). Dados sobre os cães, o diagnóstico e sinais clínicos estão demonstrados na Tabela 1. Somente os Caninos 7, 8 e 9 tiveram morte espontânea, os demais foram submetidos a eutanásia, pela gravidade dos sinais clínicos.

Lesões Macroscópicas. Os meningiomas (Fig. 1) variaram de 1,5 a 3,0 cm, eram compressivos (Caninos 1-5), infiltrativos (Caninos 3-5) e firmes (Caninos 1-5). A superfície tumoral era irregular (multinodular) (Caninos 1,3,5) a nodular (Caninos 2,4), ao corte os tumores eram branco-acinzentados (Caninos 1-4) a branco-amarelados (Canino 5) com áreas avermelhadas intercaladas (Canino 4). Abrangiam a região da base encefálica e mediolateral direita da ponte e região ventral direita do cerebelo (Canino 1), fossa hipofisária (Canino 2), bulbo olfatório e adjacências da lâmina crivosa (Canino 3), base do lobo frontal (Caninos 3,4) e lobo piriforme esquerdo (Canino 5). À superfície de corte havia áreas friáveis no parênquima adjacente, indicativas de perda de parênquima encefálico por compressão (Canino 5; Fig. 1).

Tabela 1 - Neoplasias primárias do SNC em caninos, resenha do animal, diagnóstico e sinais clínicos

Canino	Sexo	Idade	Raça	Diagnóstico	Sinais clínicos
1	F	11 a	Boxer	Meningioma	Não informados
2	M	13 a	SRD	Meningioma	Convulsão (2 anos); nistagmo, andar em círculos (5 dias).
3	F	11 a	Boxer	Meningioma	Tetraparesia, tremores, trismo mandibular, perda de propriocepção
4	M	12 a	Yorkshire	Meningioma	Sinais neurológicos não especificados
5	F	10 a	SRD	Meningioma	Convulsão, midríase, ataxia, hiperestesia, perda de propriocepção, cegueira bilateral
6	F	8 a	SRD	Oligodendroglioma	Convulsão (meses), oligúria (1 mês)
7	F	5 a	Yorkshire	Oligodendroglioma	Convulsão, hiperestesia, andar compulsivo em círculos; perda de propriocepção e visão, ptose facial direita.
8	F	10 a	Bulldog Francês	Oligodendroglioma	Perda de visão, andar em círculos e convulsões (1 ano)
9	M	6 m	Rottweiler	Glioblastoma	Convulsão (3 meses); inquietação, ptose palpebral, dispneia e membros rígidos (1 dia)

a: anos; m: meses; SRD: sem raça definida

Os oligodendrogliomas (Fig. 1 E, F) apresentaram-se como proliferações de 1,5 a 3,0 cm de diâmetro, macias, acinzentadas (Caninos 6-8), com áreas avermelhadas (Caninos 7,8) e superfície gelatinosa ao corte. Localizaram-se em lobo piriforme (Caninos 6,8) ou telencéfalo esquerdo (Canino 7), com compressão do parênquima cerebral adjacente.

No caso do glioblastoma havia achatamento das circunvoluções do hemisfério cerebral esquerdo. Ao corte observou-se massa acinzentada e macia, bem delimitada, medindo 7 x 5 x 5 cm, com áreas centrais amareladas, friáveis ou hemorrágicas. Essa massa estendia-se do bulbo olfatório ao tálamo, projetando-se na direção do ventrículo lateral esquerdo. Havia ainda dilatação dos ventrículos laterais, atrofia por compressão da substância branca periventricular e hipocampo esquerdos e distorção do hemisfério cerebral direito e mesencéfalo, com obstrução parcial do ducto mesencefálico e terceiro ventrículo.

Lesões histopatológicas e achados histoquímicos. O meningioma dos Caninos 1, 2 e 4 foi histologicamente semelhante. Havia proliferação de células alongadas formando feixes e cordões celulares em meio a grupos de células sinciciais que formavam espirais concêntricas bem demarcadas (Fig. 2). O padrão de ninhos e espirais celulares foi mais evidente no Canino 4. As células possuíam núcleos

arredondados a ovalados, predominantemente tumefeitos, citoplasma de tamanho moderado, poligonal a alongado. Havia anisocitose e anisocariose discretas a moderadas e, em média, uma figura de mitose por campo de maior aumento. Nos Caninos 2 e 4 foi observado infiltrado de neutrófilos e macrófagos multifocal moderado em meio às células tumorais. No canino 4 havia infiltração tumoral no parênquima adjacente (Fig. 2), além de necrose multifocal. Na coloração de tricrômico de Masson houve marcação discreta em paredes de vasos em todos os meningiomas.

O meningioma do Canino 3 apresentou padrão celular predominantemente sólido, formando ninhos com anisocitose e anisocariose acentuadas e ao centro havia grande quantidade de estruturas lamelares concêntricas, muitas delas calcificadas (corpos psamomatosos) (Fig. 3). Circundando esses ninhos celulares havia células fusiformes formando feixes. As células desses ninhos tinham núcleo oval, alguns eram vesiculares, com cromatina granular e citoplasma com bordas pouco definidas. Havia infiltração das células neoplásicas no parênquima adjacente e no tecido ósseo nasal. Em meio ao tumor havia proliferação discreta de estroma de sustentação, evidenciado pela coloração de Tricrômico de Masson. No Canino 5 o meningioma tinha celularidade elevada, com células neoplásicas dispostas predominantemente em camadas ao longo de eixos conjuntivo-vasculares (Fig. 3), lembrando pseudorosetas perivasculares (pseudopapilares). As células eram fusiformes, com citoplasma pouco definido, núcleos arredondados a ovalados, alguns vesiculares e cromatina distribuída em grumos. Em outros focos as células fusiformes formavam grupos, com crescimento desorganizado (Fig. 3E). Havia anisocitose e anisocariose moderada a acentuada e infiltração no parênquima adjacente. Na coloração de Tricrômico de Masson houve marcação discreta das regiões fibrovasculares das pseudorosetas. Baseado nas características histopatológicas, os meningiomas dos Caninos 1 e 2 foram classificados como transicionais de grau I; do Canino 3 como psamomatoso de grau II; do Canino 4 como transicional de grau II e do Canino 5 como papilar grau III.

Os Oligodendrogliomas (Caninos 6, 7 e 8) apresentaram células com núcleo arredondado, denso e fortemente basofílico; citoplasma escasso com um halo claro em sua volta, lembrando o padrão de favos de mel (Fig. 4). Havia anisocitose e anisocariose moderada (Canino 6) a acentuada (Caninos 7 e 8). Em meio ao tumor havia proliferação microvascular acentuada e extensas áreas de hemorragia e necrose, mais acentuadas nos caninos 7 e 8 (Fig. 4B). As células neoplásicas infiltravam o parênquima adjacente (Fig. 4B), sendo classificados como oligodendrogliomas grau III. Na coloração de Alcian Blue foram visualizados lagos de mucina (Fig. 4C) nos três casos, mais acentuados no Canino 8.

O astrocitoma do canino 9 apresentou células tumorais esparsas, dispostas em fileiras e cordões, com extensas áreas de necrose (Fig. 5A), algumas com calcificação central e hemorragia (Fig. 5B), circundadas por células neoplásicas alongadas alinhadas em forma de pseudopaliçada (Fig. 5A-B). As células tumorais possuíam núcleo arredondado a ovalado, basofílico e vacuolizado, citoplasma alongado e eosinofílico, com anisocitose e anisocariose acentuadas. Em meio ao tumor havia intensa proliferação de vasos sanguíneos e discreta de tecido conjuntivo fibroso. Com base nas características histológicas foi classificado como astrocitoma grau IV (glioblastoma).

Imuno-histoquímica. Os cinco meningiomas marcaram para vimentina na IHQ, com marcação difusa do citoplasma das células neoplásicas, porém a quantidade de células marcadas foi moderada (Caninos 1,4,5) a acentuada (Canino 2,3). A marcação ocorreu tanto em células fusiformes (Caninos 3,5) (Fig. 2E, Fig. 3C e 3E) como em células dispostas ou tentando formar grupos (Fig. 2F) e/ou redemoinhos (Caninos 1, 2,5). No meningioma psamomatoso a marcação ocorreu entre os ninhos celulares/espírais concêntricos (Fig. 3C). Três meningiomas foram positivos para pancitoqueratina. Esta ocorreu em focos/grumos (Canino 2) no citoplasma de grande quantidade de células tumorais (Fig. 2F), ou difusa no citoplasma das células em ninhos/espírais (Canino 3) de uma grande quantidade de células (Fig. 3D), ou havia raras células aleatórias marcadas (Canino 5).

A marcação dos meningiomas para PCNA foi forte nos núcleos de pequena (Caninos 1,5), moderada (Caninos 2,4) a grande (Canino 3) quantidade de células neoplásicas (meningoteliais) com distribuição multifocal, sendo mais acentuada nas células que invadem o parênquima encefálico adjacente (Canino 2), nas células periféricas às espírais concêntricas típicas do meningioma psamomatoso (Canino 3) (Fig. 3F). Foi observada média de quatro (Canino 1), sete (Canino 2,4,5) e 30 (Canino 3) células marcadas por campo de maior aumento. Estes casos foram negativos para GFAP, Olig2, S100, cromogranina, enolase neurônio específica, sinaptofisina e neurofilamento.

Os três oligodendrogliomas (Caninos 6, 7, 8) apresentaram forte marcação nuclear e moderada marcação citoplasmática de grande quantidade de células neoplásicas (multifocal) para o anticorpo Olig2 (Fig. 4D). Para pancitoqueratina ocorreu forte marcação do citoplasma de raras de células neoplásicas, com distribuição aleatória (Caninos 6-7). No Canino 7 ocorreu forte marcação para vimentina no citoplasma de poucas células tumorais (Fig. 4E), no citoplasma de quantidade moderada de células que circundavam áreas de necrose (astrócitos) (Fig. 4F) e acentuada na parede de vasos intratumorais

neoformados (Fig. 4G). Na marcação para GFAP ocorreu forte marcação no citoplasma de astrócitos multifocais no tumor (Fig. 4H) ou circundando as áreas de necrose (Canino 7). Para o PCNA ocorreu forte marcação dos núcleos de grande a pequena quantidade de oligodendrócitos neoplásicos, com distribuição multifocal. Houve média de 10 a 20 marcações por campo de maior aumento. Não houve marcação para S100, cromogranina, enolase, sinaptofisina e neurofilamento.

O astrocitoma grau IV (Canino 9) apresentou forte marcação multifocal com GFAP no citoplasma de mais de 60% das células neoplásicas (Fig. 5C). Para vimentina houve forte marcação no citoplasma de quantidade moderada de células neoplásicas, multifocal, sendo mais intensa nas áreas de pseudopaliçadas. Para os demais anticorpos não ocorreu marcação.

DISCUSSÃO

A frequência das neoplasias primárias do SNC de caninos deste estudo foi de 2,62%, semelhante ao relatado por Song et al. (2013). O meningioma foi o tumor mais frequente, com 55,55% dos casos, índice maior que os 45 a 51,5% reportados na literatura (Snyder et al. 2006, Song et al. 2013). Os animais acometidos com meningioma eram idosos, com 10 a 13 anos, semelhante aos relatos de cães acometidos; de 9 a 14 anos (Snyder et al. 2006, Sturges et al. 2008, Song et al. 2013, Areco et al. 2018). Cães de raças grandes, com mais de 20 quilos, são significativamente mais acometidos, como Golden Retriever, Labrador Retriever (Sturges et al. 2008, Song et al. 2013), Boxer (Marcasso et al. 2015) e SRD, mas também pode acometer Schnauzer miniatura e Terrier rateiro (Song et al. 2013), semelhante aos achados neste estudo, em que foram acometidos dois cães da raça Boxer, dois sem raça definida de grande porte e um de pequeno porte, da raça Yorkshire.

Dois meningiomas foram classificados como transicional de grau I, um como transicional de grau II, um como psamomatoso de grau II e um como papilar grau III. O subtipo transicional grau I tinha uma mistura dos padrões meningotelial e fibroso, com células fusiformes, em algumas áreas formando espirais concêntricas, em outros grupos celulares os núcleos eram arredondados e as células formavam lóbulos bem demarcados semelhante aos achados em outros estudos (Montoliu et al. 2006, Sturges et al. 2008, Marcasso et al. 2015, Higgins et al. 2017). Um dos tumores, que apresentou invasão do tecido adjacente, anisocitose e anisocariose moderadas, hiper celularidade, infiltrado inflamatório multifocal e necrose multifocal foi classificado como transicional de grau II, uma vez que todo meningioma grau I com invasão de tecido adjacente é imediatamente graduado como meningioma de grau II (Ide et al. 2011, Higgins et al. 2017). Somado a isso é considerada na classificação do meningioma de grau II a presença de, no mínimo, quatro mitoses por 10 campos de maior aumento, ou três dos cinco critérios a seguir: 1) perda da arquitetura padrão; 2) células pequenas com alta relação núcleo/citoplasma; 3) atipia nuclear ou macronúcleo; 4) hiper celularidade e 5) áreas de necrose (Louis et al. 2007, Higgins et al. 2017).

O subtipo psamomatoso apresentou numerosas estruturas espirais com centro hialino lamelar ou mineralizado, denominado corpo de psamoma (Sturges et al. 2008, Areco et al. 2018, Higgins et al. 2017). Ele foi classificado como grau II, por apresentar anisocitose e anisocariose acentuadas, infiltração no parênquima adjacente e, na imunomarcação por PCNA, média de 30 células marcadas por campo de maior aumento. Já no meningioma papilar grau III predominava a formação de camadas celulares ao longo de eixos conjuntivo-vasculares (Areco et al. 2018). As células meningoteliais irradiam de um vaso central formando papilas e pseudorosetas, que ocupam mais de 50% da área do tumor (Montoliu et al. 2006, Higgins et al. 2017), conforme visualizado neste estudo.

Todos os meningiomas foram positivos na IHQ para vimentina (Marcasso et al. 2005, Montoliu et al. 2006) e três (60%) para citoqueratina, o que diferiu dos achados de Montoliu et al. (2006), em que a expressão de citoqueratina foi observada em 17 % dos casos, além de ser restrita a pequenas áreas. O meningioma psamomatoso foi o mais fortemente marcado para citoqueratina, com marcação principalmente no grupo de células que se assemelhavam a um padrão epitelial e circundavam os corpos psamomatosos.

Os oligodendrogliomas do estudo corresponderam a 33,33% dos tumores diagnosticados no SNC, taxa essa maior que os 20% relatados em cães por Snyder et al. (2006) e Song et al. (2013). Não há predisposição por sexo, a idade média é de 8 anos, porém animais jovens também podem ser acometidos (Song et al. 2013, Kishimoto et al. 2018). Raças braquicefálicas, como Boxer, Bulldog Francês e Boston Terrier, são propensas ao oligodendroglioma e uma das teorias para a sua ocorrência é a de maiores alterações na pressão intracraniana e menor capacidade de compensar essa pressão por mecanismos fisiológicos nos braquicefálicos (Hussein et al. 2012, Song et al. 2013, Koehler et al. 2018). Estes achados em cães braquicefálicos divergiram deste estudo, no qual os cães acometidos foram da raça Yorkshire, sem raça definida e apenas um (Canino C8) era braquicefálico, da raça Bulldog Francês. A idade dos animais acometidos foi semelhante à relatada; 6 a 10 anos.

O diagnóstico de oligodendroglioma grau III foi baseado nas características histológicas, histoquímicas e na IHQ (Higgins et al. 2017, Kishimoto et al. 2018). As células tinham núcleo hiper cromático, citoplasma fracamente corado com bordas bem marcadas, halos perinucleares característicos, porém anisocitose e anisocariose moderadas a acentuadas, proliferação microvascular, áreas de necrose e infiltração no parênquima adjacente. Também foram positivas na coloração de Alcian Blue. Na avaliação IHQ os oligodendrogliomas marcaram para Olig2 (marcação nuclear forte em 80-90% das células), também observado por Wesseling et al. (2015), Higgins et al. (2017), Kishimoto et al. (2018) e Koehler et al. (2018).

Os astrocitomas representaram 11,11% dos tumores intracranianos, semelhante aos achados de Song et al. (2013), que descreveram aproximadamente 13,22%. Foi afetado um cão Rottweiler, já Song et al. (2013) descreveram maior predisposição em raças braquicefálicas, como Boxer e Boston Terrier, porém descrevem não haver predisposição quanto a sexo.

O astrocitoma deste estudo foi classificado como grau IV ou glioblastoma. Foram observadas características macroscópicas e microscópicas semelhantes às descritas para glioblastoma. Tem sua origem em células primitivas (células tronco) localizadas na região subependimal e que circundam os ventrículos laterais. Desta forma, o glioblastoma localiza-se na substância branca dos lobos temporal e parietal, sendo muito raramente encontrado fora dessas regiões (Lipsitz et al. 2003, Higgins et al. 2017). Macroscopicamente são pobremente demarcados, com áreas de necrose amareladas a esbranquiçadas, focos de hemorragia ou áreas císticas (Higgins et al. 2017). Uma característica microscopicamente marcante do glioblastoma, além da atipia celular, é a proliferação microvascular e extensas áreas de necrose circundadas por células gliais enfileiradas, conhecidas como pseudopaliçada (Frenier et al. 1990, Uchida et al. 1995, Lipsitz et al. 2003, Stoica et al. 2011, Higgins et al. 2017, Koehler et al. 2018). O canino deste estudo apresentou algumas particularidades, como sinais clínicos relacionados à neoplasia desde os três meses de idade e deformação macroscópica da calota craniana, próxima ao bulbo olfatório, com óbito aos seis meses de idade devido a neoplasia. Esses achados permitem especular a origem congênita dessa neoplasia. A média de idade dos cães afetados por astrocitoma é de 8 a 9 anos (Stoica et al. 2004, Song et al. 2013) e peso médio de 28,9 quilos, sendo considerada uma neoplasia de cães de grande porte e velhos (Song et al. 2013), apesar de serem esporadicamente relatados em cães mais jovens (Nelson et al. 1981, Keller & Madewell 1992, Kube et al. 2003). As mineralizações encontradas neste caso, embora não sejam descritas nos glioblastomas de animais, têm sido relatadas em astrocitomas de humanos (Kubota et al. 1986, Okuchi et al. 1992, Pupin et al. 2019).

O glioblastoma foi fortemente marcado para GFAP, considerado o marcador imuno-histoquímico para esses tumores, com aproximadamente 84% das células marcadas, sendo mais acentuada nos tumores bem diferenciados (Stoica et al. 2004), apesar de ser descrita marcação constante dos glioblastomas (Lipsitz et al. 2003, Louis et al. 2007).

Os resultados deste estudo demonstraram que o meningioma é a neoplasia mais frequentemente diagnosticada, que tumores de SNC podem ocorrer em animais jovens (com provável origem congênita) e que as características histológicas dos tumores em caninos são semelhantes aos achados em humanos, conforme a classificação da OMS (2007), reforçando que o cão é um modelo experimental mais adequado que o camundongo para o estudo de neoplasias primárias do SNC de humanos.

REFERENCIAS

- Areco W.V.C., Silva T.M., Melo S. M.P., Silva M.C., Irigoyen L.F., Fighera R.A., Mazzanti A. & Kommers G.D. 2018. Graduação histológica e aspectos clínico-patológicos relacionados em 22 meningiomas de cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(4):751-761.
- Chaves R.O., Feranti J.P.S., Copat B., Ripplinger A. França R.T., Kommers G.D., Fighera R.A. & Mazzanti A. 2018. Neoplasias encefálicas em 40 cães: aspectos clínico-epidemiológicos e patológicos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(4): 734-740.
- Frenier S.L., Kraft S.L., Moore M.P. & Gavin P.R. 1990. Canine intracranial astrocytoma and comparison with human counterpart. *Compend. Contin. Ed. Small. Anim.*, 12:1422-1433.
- Higgins, R.J. Bollen A.W., Dickinson P.J. & Sisó-Llonch S. 2017. Tumors of the nervous system. p. 834-891. In: Meuten D.J. *Tumors in Domestic Animals*. 5 ed. Raleigh: John Wiley & Sons.
- Hussein A.K., Sullivan M., Penderis J. 2012. Effect of brachycephalic, mesaticephalic, and dolichocephalic head conformations on olfactory bulb angle and orientation in dogs as determined by use of in vivo magnetic resonance imaging. *American Journal of Veterinary Research*, 73 (7) 946-951.

- Ide, T., Uchida K., Suzuki K, Kagawa Y., Nakayama H. 2011. Expression of cell adhesion molecules and doublecortin in canine anaplastic meningiomas. *Veterinary Pathology*, 48 (1): 292-301.
- Kishimoto T.E., Uchida K., Thongtharb A., Shibato T., Chambers J.K., Nibe K., Kagawa Y. & Nakayama H. 2018. Expression of oligodendrocyte precursor cell markers in canine oligodendrogliomas. *Veterinary Pathology*, 55(5): 634-644.
- Koehler J.W. Miller A.D., Porter B., Aldape K., Beck J., Brat D., Cornax I., Corps K., Frank C., Giannini C., Horbinski C., Huse J.T., O'Sullivan M. G., Rissi D.R., Simpson R.M., Woolard K., Shih J.H., Mazcko C., Gilbert M.R. & LeBlanc A.K. 2018. A revised diagnostic classification of canine glioma: towards validation of the canine glioma patient as a naturally occurring preclinical model for human glioma. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 77(11):1039-1054.
- Kube S.A., Bruyette D.S. & Hanson S. M. 2003. Astrocytomas in young dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 39: 288-293.
- Kubota T., Kogure Y., Yamamoto S, Kitano T. & Hayashi M. 1986. Calcification in glioblastoma multiforme of the cervical spinal cord. *Surg. Neurol.*, 26: 183-186.
- Lipsitz D. Higgins R.J. Kortz G.D. Dickinson P.J. Bollen A.W., Naydan D.K. & LeCouteur R.A. 2003. Glioblastoma multiforme: clinical findings, magnetic resonance imaging, and pathology in five dogs. *Veterinary Pathology*, 40(6): 659-669 .
- Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K., Burger P.C., Jouvett A., Scheithauer B.W. & Kleihues P. 2007. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathologica*, 114:97-109.
- Marcasso R.A., Moreira J.R., Valentim L.G., Arias M.V.B. & Bracarense A.P.F.R.L. 2015. Meningiomas em cães: aspectos clínicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 35(10):844-852.
- Montoliu P., Añor S., Vidal E. & Pumarola M. 2006. Histological and immunohistochemical study of 30 cases of canine meningioma. *Journal of Comparative Pathology*, 135(4):200-207.
- Nelson R.W., Morrison M.B., Lurus A.G. & Miller J.B. 1981. Diencephalic syndrome secondary to intracranial astrocytoma in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 179: 1004-1010.
- Okuchi K., Hiramatsu K., Morimoto T., Tsunoda S., Sakaki T. & Iwasaki S. 1992. Astrocytoma with widespread calcification along axonal fibers. *Neuroradiology*, 34(4): 328-330.
- Pupin R.C., Rissi D. R., Gomes D.C., Gimelli A. & Palumbo M.I.P. 2019. High-grade astrocytoma with ventricular invasion in a dog. *Veterinary Record Case Reports*, 7(4): e000958,
- Sisó S., Lorenzo V., Ferrer I., Villgrassa M. & Pumarola M. 2003. An anaplastic astrocytoma (optic chiasmatic-hypothalamic glioma) in a dog. *Veterinary Pathology*, 40(5):567-569.
- Snyder J.M., Shofer F.S., Van Winkle T.J. & Massicotte C. 2006. Canine intracranial primary neoplasia: 173 cases (1986–2003). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(3):669-675.
- Song R.B., Vite C.H., Bradley C.W. & Cross J.R. 2013. Postmortem evaluation of 435 cases of intracranial neoplasia in dogs and relationship of neoplasm with breed, age, and body weight. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(5):1143-1152.
- Stoica G., Levine J., Wolff J. & Murphy K. 2011. Canine astrocytic tumors: a comparative review. *Veterinary Pathology*, 48(1):266-275.
- Sturges B. K., Dickinson P.J., Bollen A.W., Koblik P.D., Kass P.H., Kortz G.D., Vernau K.M., Knipe M.F., LeCouteur R.A. & Higgins R.J. 2008. Magnetic resonance imaging and histological classification of intracranial meningiomas in 112 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22 (3):586-595.
- Uchida K, Kurki K, Priseryanto B.P., Kato K, Yano Y., Marakami T., Yamaguchi R. & Tateyama S. 1995. Giant cell glioblastoma in the frontal cortex of a dog. *Vet. Pathol.*, 32:197-199.
- Wesseling P., Van den Bent M. & Perry A. 2015. Oligodendroglioma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathologica*, v. 129, n. 6, p. 809-827.

LISTA DE FIGURAS:

Fig. 1 – Aspecto macroscópico das neoplasias de SNC em caninos. (A) – Canino 1- meningioma transicional Grau I, localizado na base encefálica médio-lateral direita da ponte, comprimindo o tecido cerebral. (B) Canino 3 – meningioma psomatoso na região ventral do encéfalo no bulbo olfatório. (C) Canino 4 – meningioma transicional Grau II na base do lobo frontal, com bordos pouco demarcados. (D) Canino 5 - meningioma papilar, grau III, massa compressiva no lobo piriforme esquerdo, com perda de parênquima cerebral. (E-F) Canino 6 e 8 com oligodendroglioma grau III, em telencefalo e lobo piriforme esquerdo respectivamente.

Fig. 2 - Aspecto microscópico e imuno-histoquímico dos meningiomas de SNC em caninos. (A e B) – Canino 2, Meningioma transicional grau I, H.E. 20x. (C) Canino 4, transicional Grau II com infiltração para o neurópilo. H.E. obj. 10x. (D) Canino 1, imunomarcção com vimentina de células fusiformes, obj. 20x. (E) Canino 2, imunomarcção com vimentina em ninhos celulares, obj. 20x. (F) canino 2, imunomarcção multifocal (grumos) com pancitoqueratina, obj. 20x.

Fig. 3 – Aspecto microscópico e imuno-histoquímico dos meningiomas de SNC em caninos. (A) Canino 3, meningioma psomatoso, grau II, com acentuada quantidade de corpos psomatosos. H.E. obj 10x. (B) canino 5, meningioma papilar, grau III, formando camadas celulares ao longo de eixos conjuntivo-vasculares, H.E. obj. 40x. (C-D) Canino 3, meningioma psomatoso, imunomarcção para vimentina e pancitoqueratina, obj. 20x, respectivamente. (E) canino 5, anti-vimentina obj. 20x. (F) canino 3, meningioma psomatoso, imunomarcção anti-PCNA, obj. 20x.

Fig. 4 – Aspecto microscópico e imuno-histoquímico dos oligodendrogliomas grau III do SNC de caninos. (A) Canino 6, padrão favo de mel. H.E. obj. 10x. (B), Canino 7, células tumorais infiltrando o parenquima adjacente e com áreas de necrose e hemorragia H.E. obj. 10x. (C) Canino 8, lagos de mucina em meio as células tumorais. Alcian Blue, obj. 10x. (D) Canino 6, imunomarcção anti-Olig 2, obj. 20x. (E) canino 7 focos com imunomarcção anti-vimentina. Obj. 40x. (F-G) marcação antivimentina de células circundando as áreas de necrose (astrócitos) Obj. 40x. e vasos sanguíneos. Obj. 20x. (H) Canino 6 - marcação anti-GFAP de astrócitos em meio ao oligodendroglioma. Obj. 20x.

Fig. 5 – Aspecto microscópico e imuno-histoquímico do astrocitoma Grau IV no SNC do canino 9. (A) células em paliçada circundando as áreas de necrose H.E. Obj. 10x (B) e com focos de mineralização. H.E. Obj. 10x. (C) marcação imuno-histoquímica anti- GFAP. Obj. 10x.

Figura 1

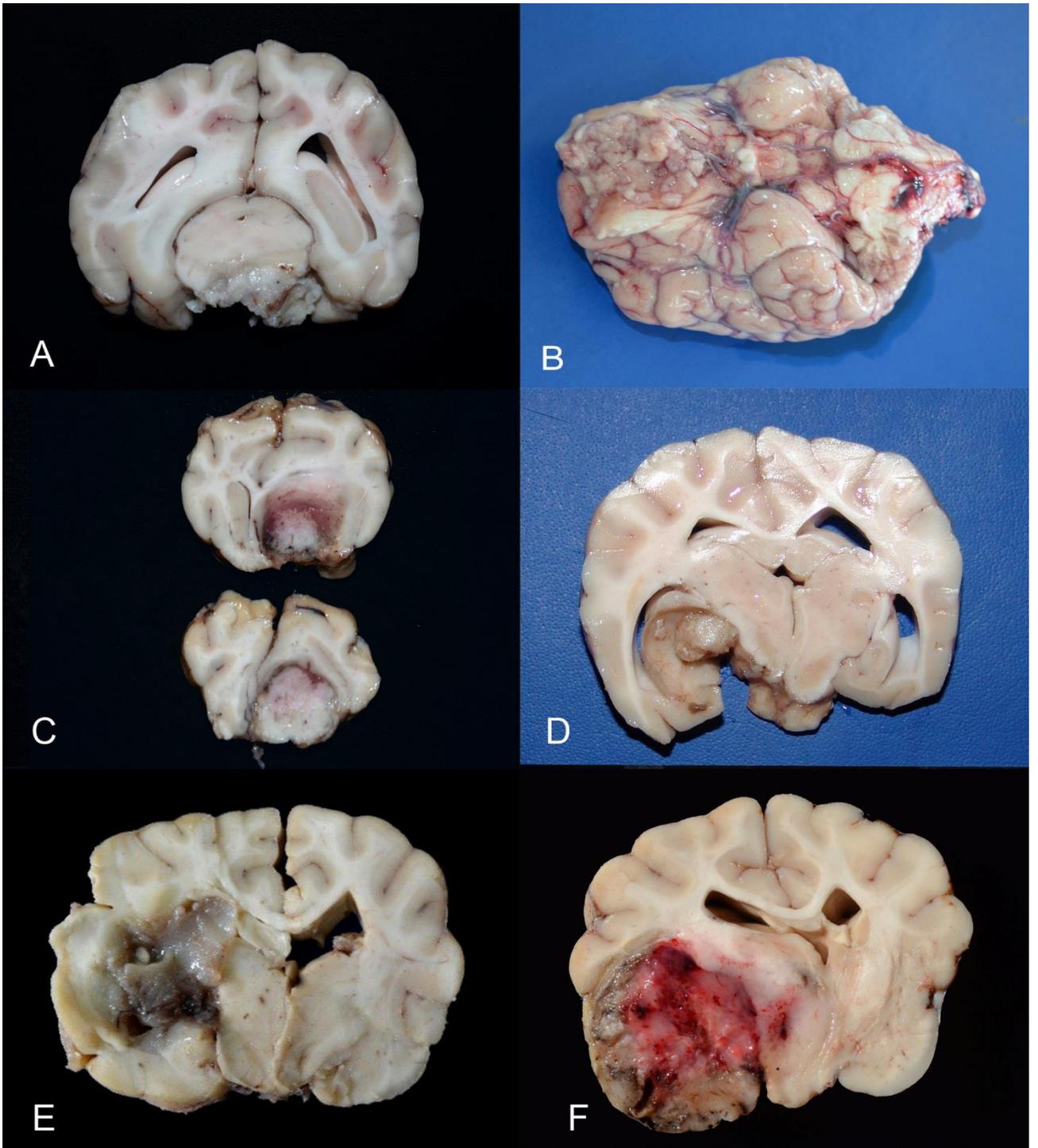


Figura 2

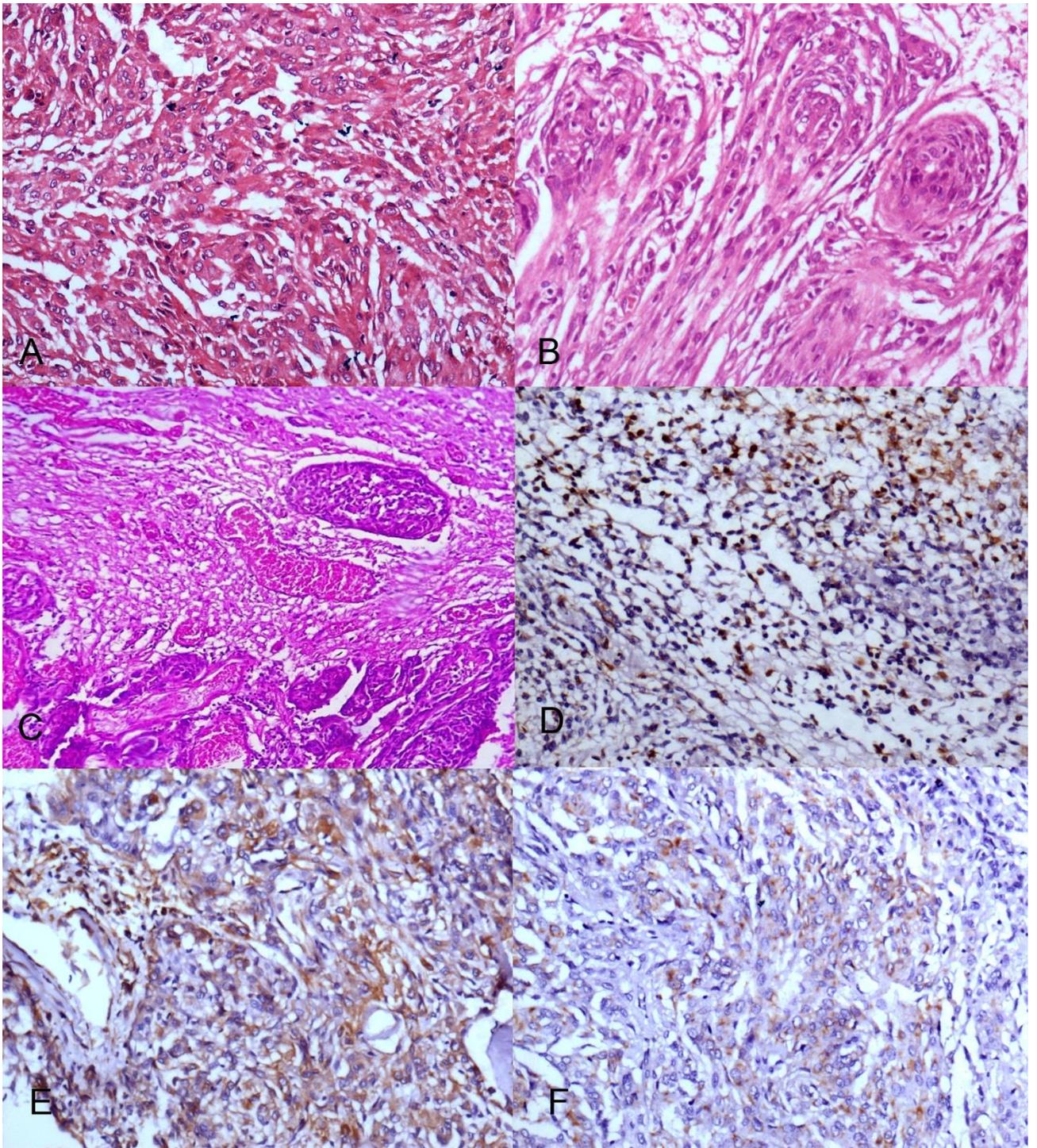


Figura 3

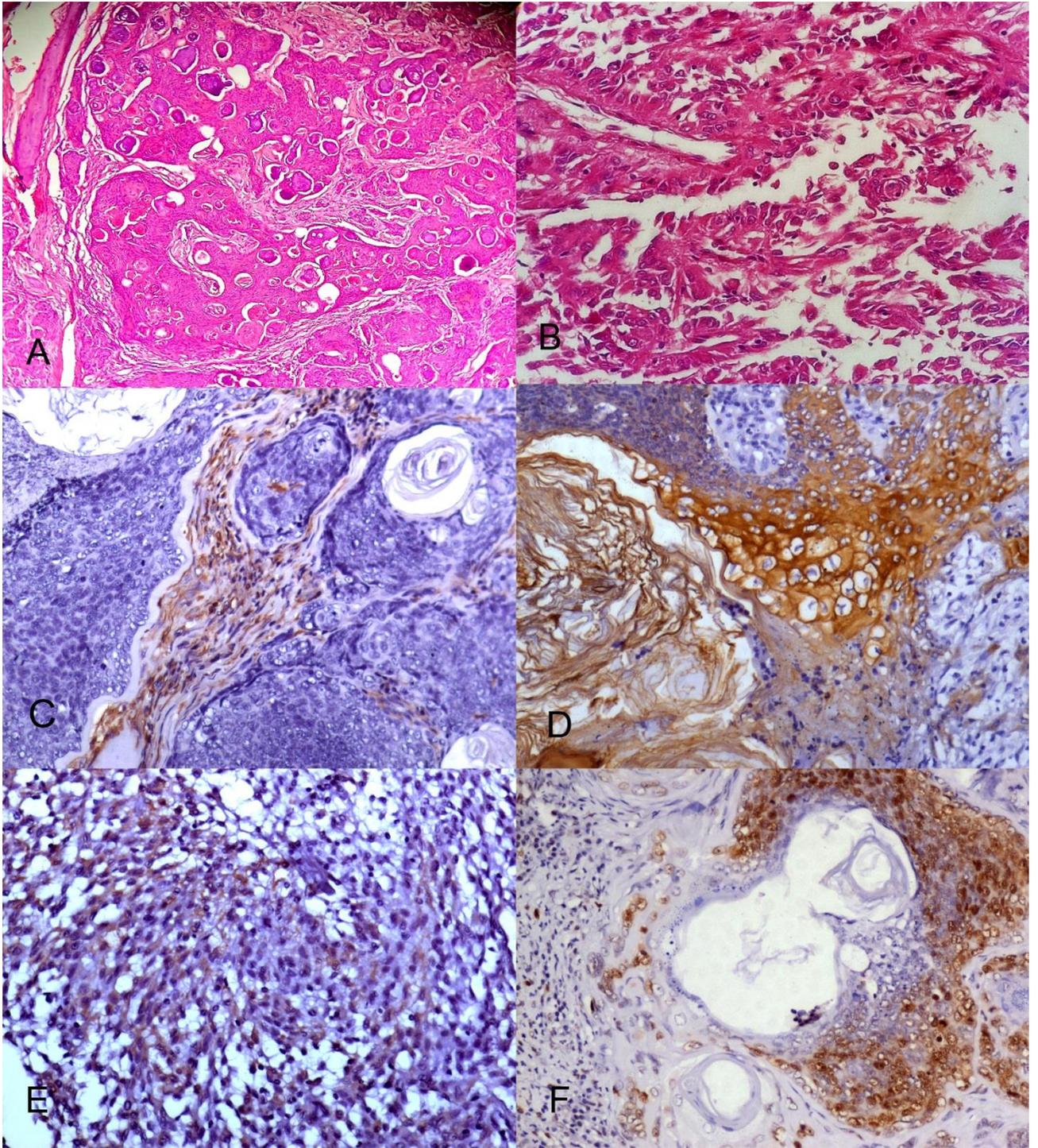


Figura 4

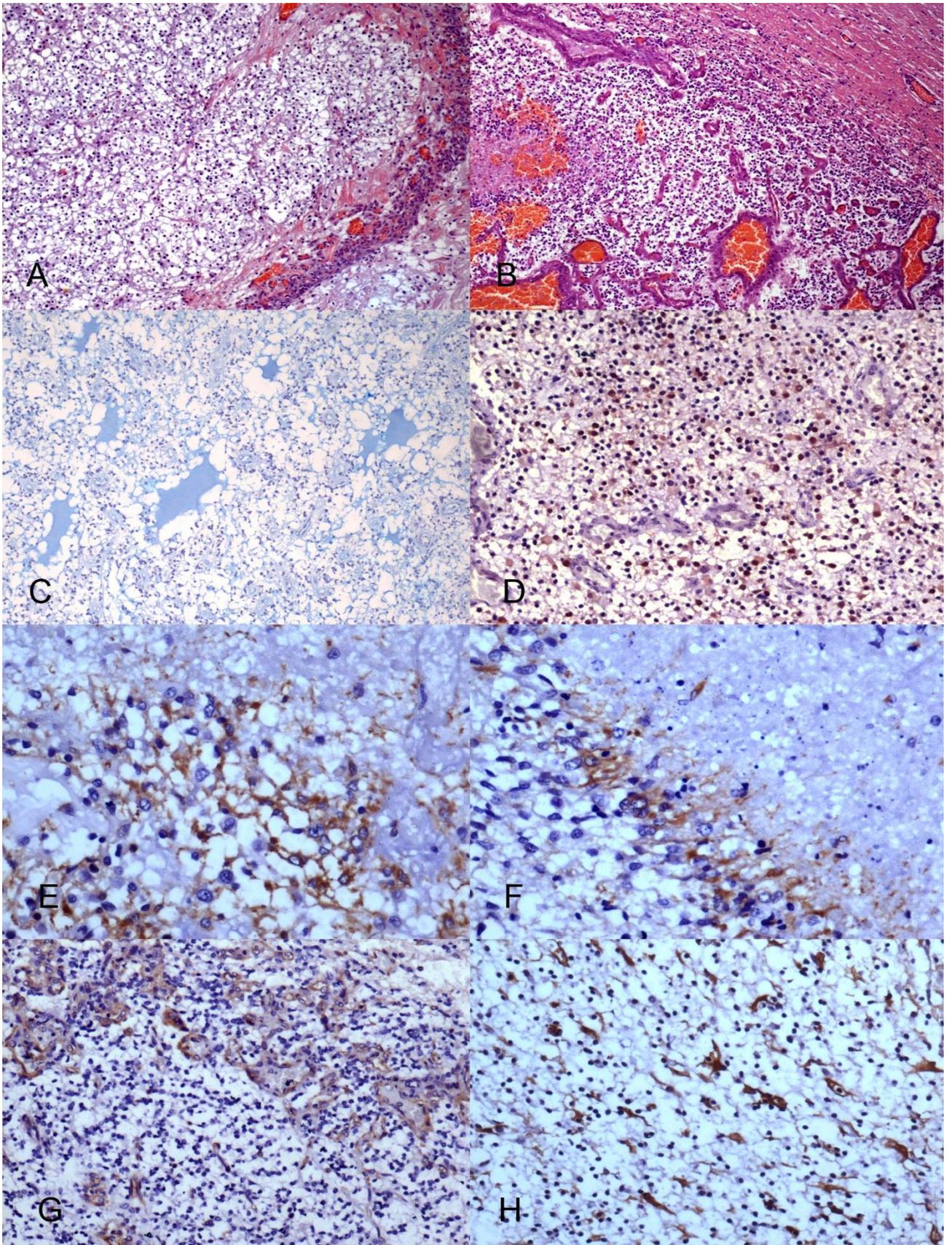
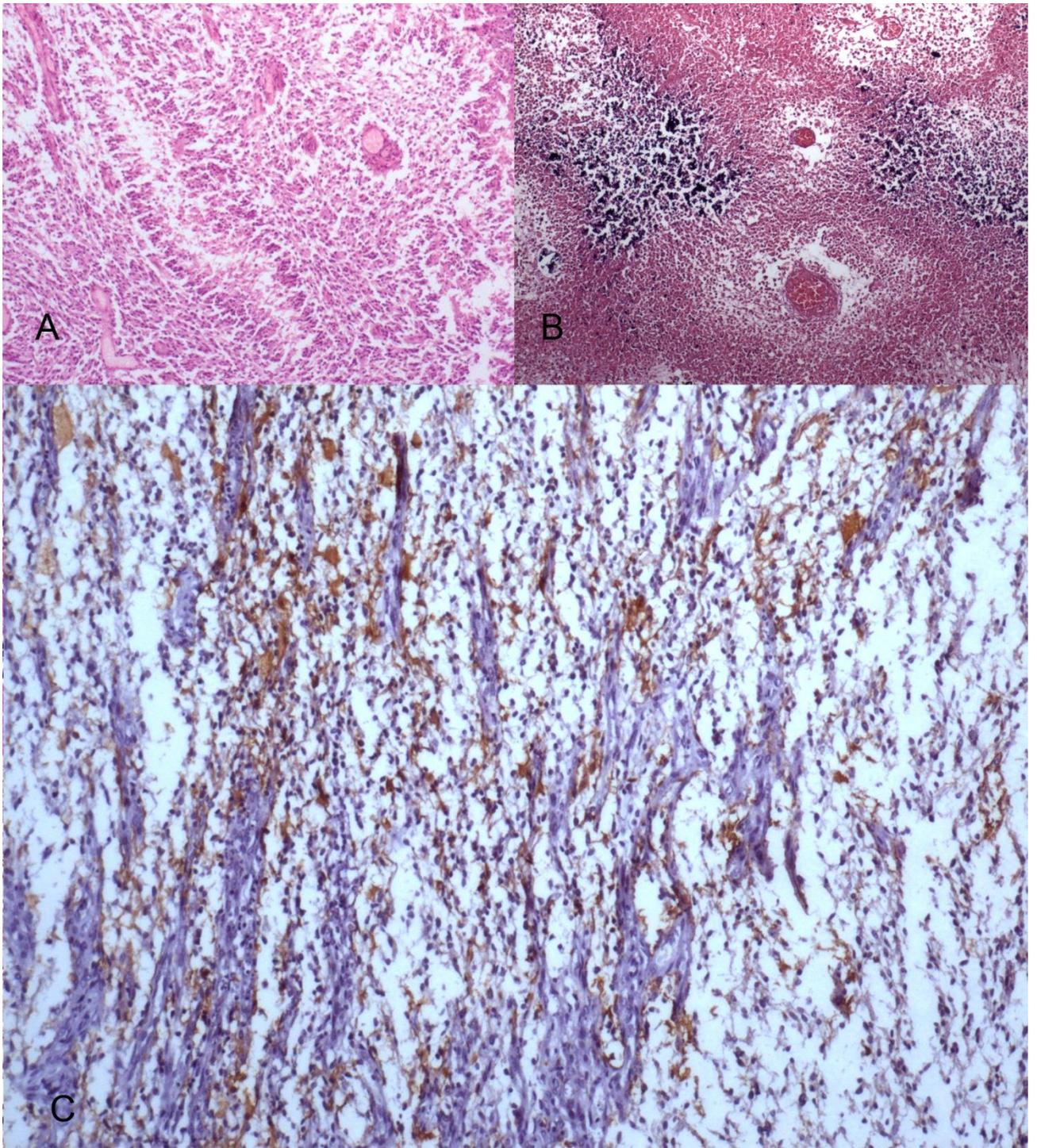


Figura 5



**ARTIGO 3 – CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DE
UM EPENDIMOMA CEREBRAL EM BOVINO**

Trabalho escrito conforme as normas do periódico Ciência Rural – Qualis B1

CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DE UM EPENDIMOMA CEREBRAL EM BOVINO

HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF AN CEREBRAL EPENDYMOMA IN CATTLE

RESUMO

Neoplasias primárias do sistema nervoso central são raras, sendo mais comumente diagnosticadas em caninos e felinos. Os ependimomas são tumores originados das células do epitélio ependimal que revestem o sistema ventricular cerebral e o canal central da medula espinhal. O objetivo desse trabalho é descrever as características histológicas e imuno-histoquímicas de um ependimoma cerebral em uma vaca Holandesa de 4 anos de idade. Macroscopicamente havia uma massa firme, de 3x2 cm, bem demarcada e de coloração branco amarelada no ventrículo lateral direito. Microscopicamente, as células apresentavam núcleos arredondados basofílicos, citoplasma eosinofílico com bordos indistintos que formavam rosetas e pseudorosetas. Também havia áreas multifocais de proliferação celular que não estavam associadas a vasos. Na imuno-histoquímica seus processos fibrilares foram acentuadamente marcados pelos anticorpos anti-GFAP, -vimentina e moderadamente pelo anticorpo anti-S100. Raros núcleos das células tumorais foram marcados pelo anticorpo anti-PCNA.

Palavras-chaves: bovino, ependimoma, neoplasias do sistema nervoso central.

ABSTRACT

Primary neoplasms of the central nervous system are rare, being more commonly diagnosed in canines and felines. Ependymomas are tumors originating from ependymal cells that line the ventricular system of the brain and spinal cord. The objective of this study is to describe the histological and immunohistochemical characteristics of a cerebral ependymoma in a 4-year-old Holstein cow. Macroscopically, there was a firm mass, 3x2 cm, well demarcated and yellowish-white in the right lateral ventricle. Microscopically, cells with round basophilic nuclei, eosinophilic cytoplasm with indistinct edges that formed rosettes and pseudorosettes around vessels, were seen. Their fibrillar processes were strongly immunostaining by anti-GFAP and vimentin antibodies and moderate to anti-S100 antibody. Rare nuclear cells were immunoreactivity to anti-PCNA antibody.

Key words: bovine, ependymoma, primary neoplasms of the central nervous system

Os ependimomas são tumores raros provavelmente originados das células ependimais (células tronco radiais gliais) da zona subventricular (DORFER et al., 2016). Estes são esporadicamente relatados em cães (SONG et al., 2013, TRASLAVINA et al., 2013, MILLER et al., 2019), gatos (TROXEL et al., 2003, WOOLFORD et al., 2013), muares (MENDES de CORDOVA et al., 2015), caprinos (KÜHL et al., 2020), bovinos (McGILL et al., 1993) e equinos (HUXTABLE, et al., 2000). Equivale a aproximadamente 3% dos tumores primários de SNC em caninos, não havendo correlação entre gênero, mas há

correlação positiva entre o aumento da idade e o aumento da incidência do tumor (HIGGINS et al., 2017). Em felinos, osependimomas equivalem a aproximadamente 2.8% dos tumores do SNC, sendo a média de idade dos animais acometidos de 8,1 anos (TROXEL et al., 2003, WOOLFORD et al., 2013).

Macroscopicamente, os endimomas tendem a ser grandes, bem demarcados, amarronzados, acinzentados a avermelhado (HUXTABLE, et al., 2000, MCGILL et al., 1993, MICHIMAE et al., 2004), macios e com localização intraventricular. Na superfície de corte podem ser lisos ou granulares, podendo haver áreas císticas com necrose e hemorragia focal (CARRIGAN et al., 1996, MICHIMAE et al., 2004, MILLER et al., 2019). Possui um crescimento lento, como uma massa sub ou supra tentorial, acometendo principalmente os ventrículos laterais, seguido do terceiro e quarto ventrículo, aqueduto mesencefálico e mais raramente o canal central da medula espinhal (HIGGINS et al., 2017, WOOLFORD et al., 2013, MICHIMAE et al., 2004). Os tumores extraventriculares se localizam mais comumente no espaço subaracnóide e adjacentes ao cerebelo (WOOLFORD et al., 2013).

Histologicamente os endimomas em cães, apresentam o padrão papilar e celular (HIGGINS et al., 2017). Já o padrão de células claras (células tumorais lembram oligodendrócitos) e tancítico são mais raros em caninos e mais frequentes em felinos (HIGGINS et al., 2017, TRASLAVINA et al., 2013, WOOLFORD et al., 2013). Em felinos também são relatados os padrões subependimoma e endimoma extraventricular primário (WOOLFORD et al., 2013). Em humanos a variante celular, foi retirada da classificação, por sobrepor os endimomas padrões (LOUIS et al., 2016).

Rosetas e pseudorosetas são um achado importante para o diagnóstico microscópico dos endimomas, mas essas não são restritas a essas neoplasias (MILLER et al., 2019, WIPPOLD et al., 2006). Nas pseudorosetas os processos fibrilares das células neoplásicas irradiam centripitamente, enquanto o núcleo localiza-se na periferia, criando uma característica de zona livre de núcleo ao redor de um vaso sanguíneo (CARRIGAN et al., 1996, HIGGINS et al., 2017, MILLER et al., 2019, WOOLFORD et al., 2013). Por outro lado, as rosetas endimais verdadeiras apresentam um lumen vazio (MILLER et al., 2019). Somado a essas características, o endimoma celular possui celularidade moderada a acentuada e pode apresentar grupos celulares dispostos aleatoriamente sem uma orientação associada aos vasos sanguíneos. Os núcleos são ovais a arredondados, citoplasma alongado com bordos pouco definidos e com raras figuras de mitose (HIGGINS et al., 2017, MICHIMAE et al., 2004). Já os endimomas papilares são caracterizados por células endimais neoplásicas com núcleo oval a arredondado, moderada quantidade de citoplasma, com cromatina densa e que apresentam um crescimento na forma de cordões, fitas e projeções papiliformes (MILLER et al., 2019).

Na marcação IHQ as células neoplásicas do endimoma bem diferenciado apresentam marcação citoplasmática expressiva para GFAP, moderada para vimentina e S-100, poucas células marcadas para pancitoqueratina e raras células para olig2 (HIGGINS et al., 2017). O objetivo deste trabalho é descrever os aspectos histopatológicos e imuno-histoquímico de um endimoma cerebral em bovino.

Uma vaca Holandesa de 4 anos de idade, com sinais neurológicos de andar em círculos para o mesmo lado, batida de cabeça contra obstáculos, cegueira e sialorreia, foi

encaminhada para necropsia no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Lavras. Na necropsia foram observadas assimetria dos hemisférios cerebrais, achatamento dos giros no hemisfério direito e conificação do cerebelo. Ao corte foi observado no ventrículo lateral direito uma massa firme, de 3x2 cm, bem demarcada e de coloração branco amarelada (Figura 1). Amostras de tecidos foram coletados, fixados em formalina tamponada neutra a 10% e processadas rotineiramente para histopatologia.

Microscopicamente o ependimoma apresentou células alongadas com núcleos arredondados basofílicos ou vacuolizados, nucléolos evidentes e citoplasma eosinofílico com bordos indistintos. Estas células se distribuíam ao longo do parênquima tumoral formando pseudorosetas ao redor de um vaso sanguíneo, onde os processos fibrilares das células neoplásicas irradiavam em direção ao centro, enquanto o núcleo localizava-se na periferia, criando uma característica de zona livre de núcleo ao redor do vaso sanguíneo (Figura 2B-C). Havia também em menor quantidade rosetas verdadeira com os processos fibrilares terminando em um espaço vazio (Figura 2B e D). Em algumas áreas foi observado cordões de células neoplásicas, recobrando espaços abertos consistentes com canais ependimários (Figura 2E) e em outras áreas, células neoplásicas que não estavam associadas a proliferação de vasos sanguíneos (Figura 2F). Também havia malácia no parênquima encefálico periférico ao ventrículo ocupado pela neoplasia.

Amostras da neoplasia foram submetidos à marcação imuno-histoquímica utilizando os anticorpos primário anti-enolase neurônio específica, -Olig2, -GFAP, -Neurofilamento (clone 2F11) (NF), -S100, -cromogranina, -sinaptofisina, -pancitoqueratina, -vimentina e -PCNA conforme protocolo adaptado de Kishimoto et al., (2018). A diluição utilizada e características do anticorpo estão descritas no Quadro 1. A reativação antigênica pelo calor foi realizada em tampão citrato (pH 6,0) com irradiação das amostras por 10 minutos, com potência máxima, em micro-ondas doméstico. Para completar a marcação foi utilizado um kit comercial (Polímero Histofine Simple Stain) contendo anticorpo secundário conjugado com biotina e estreptavidina conjugada com peroxidase. A reação foi revelada com o cromógeno DAB (3,3 -diaminobenzidina, DAKO). Como controle negativo o anticorpo primário foi substituído por soro fetal bovino e como controle positivo foram utilizadas amostras de SNC, pele (pancitoqueratina e vimentina) e adrenal (sinaptofisina e cromogranina) de bovino.

Na marcação imuno-histoquímica, os processos fibrilares de uma grande quantidade de células neoplásicas ependimárias marcaram para GFAP (Figura 2 A-B), S-100 (Fig.2C) e todas para vimentina (Figura 2D). Raras células tiveram marcação nuclear nas pseudorosetas e de forma aleatória para o PCNA. Este foi negativo para citoqueratina, Olig-2, cromogranina, enolase neurônio específica, neurofilamento e Sinaptofisina.

Pelas características macroscópicas, microscópicas e IHQ o tumor foi classificado como ependimoma benigno, com predomínio do padrão papilar. Porém associado ao padrão papilar havia áreas mais celulares e de crescimento não associado a vasos sanguíneos, que são descritos no padrão celular (HIGGINS et al., 2017). Tumores com prevalência de determinado padrão podem apresentar áreas focais com outros padrões histológicos, podendo até haver variação de grau, com focos de células tumorais com características mais malignas dentro de um tumor (WOOLFORD et al., 2013).

Quadro 1. Anticorpos utilizados em marcação imuno-histoquímica em um ependimoma cerebral de bovino

ANTICORPO	HOSPEDEIRO	TIPO	DILUIÇÃO	FABRICANTE
Antígeno Nuclear de Proliferação Celular (PCNA)	Camundongo	Monoclonal	1:1000	Dako Cytomation
PanCitoqueratina AE1/AE3	Camundongo	Coquetel	1:200	Invitrogen
Cromogranina A	Coelho	Policlonal	1:200	Dako Cytomation
Enolase Neurônio Específica	Camundongo	Monoclonal	Anticorpo pronto para uso	Dako
Neurofilamento	Camundongo	Monoclonal	1:1000	Dako Cytomation
Olig2	Coelho	Policlonal	1:1000	Sigma Life Science
Proteína Ácida Fibrilar Glial	Coelho	Policlonal	1:500	Dako Cytomation
Sinaptofisina	Camundongo	Monoclonal	1:20	Dako Cytomation
S100	Camundongo	Monoclonal	1:100	Invitrogen
Vimentina	Camundongo	Monoclonal	1:200	Sigma Aldrich

O bovino deste estudo apresentou sinais neurológicos como andar em círculos, batida da cabeça contra obstáculos e cegueira, que se encaixam nos sinais clínicos associados a ependimomas, podendo ocorrer perda de propriocepção e consciência, deficiências no reflexo de dor, alterações na posição do pescoço, convulsões, cegueira e outros sinais neurológicos inespecíficos (MENDES de CORDOVA et al., 2015, MICHIMAE et al., 2004, TRASLAVINA et al., 2013, WOOLFORD et al., 2013).

A presença da massa tumoral, levou a hidrocefalia no ventrículo lateral adjacente e edema do neurópilo que circunda o ventrículo lateral afetado. Hidrocefalia pela obstrução dos aquedutos (McGILL et al., 1993; MICHIMAE et al., 2004), edema do tecido próximo a neoplasia (MICHIMAE et al., 2004) e focos de malácia podem ser vistas no parênquima encefálico (MENDES de CORDOVA et al., 2015).

Microscopicamente o ependimoma do bovino estudado apresentou pseudo-rosetas em maior quantidade e rosetas verdadeiras em menor quantidade, além dos canais ependimários formados pelas células tumorais, característicos dos ependimomas, conforme descrito na

literatura (MILLER et al., 2019). Além disso, o epêndimoma apresentou um comportamento relativamente benigno, com discreta anisocitose e anisocariose, com poucas células marcadas com o anticorpo anti-PCNA, semelhante aos epêndimomas descrito em caninos, os quais, apresentam atipia moderada e menos de uma figura de mitose por campo de maior aumento (HIGGINS et al., 2017, MILLER et al., 2019). Tumores classificados como epêndimomas anaplásicos, exibem pleomorfismo, com atipia nuclear e mais de 4 figuras de mitose a cada 10 campos de maior aumento, múltiplos nucléolos, necrose, áreas de pseudopalissada e proliferação microvascular (HIGGINS et al., 2017; MICHIMAE et al., 2004). Áreas com hemorragias, hemossiderose e calcificações podem ser vistas (HUXTABLE, et al., 2000; MCGILL et al., 1993; MICHIMAE et al., 2004; WOOLFORD et al., 2013).

O epêndimoma deste estudo foi fortemente marcado para o anticorpo anti-GFAP e vimentina e um número moderado de células para S-100. Epêndimomas são bem marcados na IHQ para GFAP, apresentando intensidades e distribuições variáveis (HUXTABLE, et al., 2000; WOOLFORD et al., 2013, MILLER et al., 2019), com 64% de marcação em tumores de felinos (MICHIMAE et al., 2004; WOOLFORD et al., 2013). Em cães, o GFAP marca fortemente as rosetas e pseudorosetas e mais de 60% das células neoplásicas que entremeiam essas estruturas (CARRIGAN et al., 1996; MILLER et al., 2019), semelhante ao observado no bovino deste estudo, uma vez que não achamos trabalhos em bovinos para comparar.

O epêndimoma do bovino estudado foi negativo para a pancitoqueratina, diferente do observado em alguns tumores de felinos (MICHIMAE et al., 2004; WOOLFORD et al., 2013) e caninos (MILLER et al., 2019). Já a marcação para vimentina foi acentuada e difusa, sendo descrito a expressão desse marcador em tumores de humanos (ELLISON et al., 2016, VEGE et al., 2000) e equinos (CARRIGAN et al., 1996).

O diagnóstico de epêndimoma foi baseado nos achados macroscópicos, microscópicos e imuno-histoquímicos, semelhantes aos relatados em outras espécies. Epêndimomas em bovinos são raríssimos, sendo que não achamos trabalhos referentes a classificação ou aspectos imuno-histoquímicos desses tumores na espécie em estudo.

REFERÊNCIAS

- CARRIGAN, M. J. et al. Equine papillary ependymoma. **Veterinary Pathology**, v.33, n.1, p.77-80, 1996. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/030098589603300109>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1177/030098589603300109
- DORFER, C. et al. Ependymoma: a heterogeneous tumor of uncertain origin and limited therapeutic options. **Handb Clin Neurol**. v.134 p. 417–431, 2016. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128029978000256>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1016/B978-0-12-802997-8.00025-6
- ELLISON, D.W. et al. Ependymoma. In: Louis D.N. **WHO classification of Tumors of the central nervous system (revised 4th edition)**. Lyon: IARC; 2016. p. 106-12.
- HIGGINS, R.J. et al. Tumors of the Nervous System. In: MEUTEN, D.J. **Tumor in Domestic Animals**. Ames: John Wiley & Sons Inc, 2017. cap.19, p. 834-891.

HUXTABLE, C. R. et al. Marginal siderosis and degenerative myelopathy: a manifestation of chronic subarachnoid hemorrhage in a horse with a myxopapillary ependymoma. **Veterinary pathology**, v.37, n.5, p. 483-485, 2000. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1354/vp.37-5-483>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1354/vp.37-5-483

JUDKINS, A. R.; ELLISON, D. W. Ependymoblastoma: dear, damned, distracting diagnosis, farewell! **Brain Pathology**, v.20, n.1, p.133-139, 2010. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1750-3639.2008.00253.x>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1111/j.1750-3639.2008.00253.x

KISHIMOTO, T. E. et al. Expression of oligodendrocyte precursor cell markers in canine oligodendrogliomas. **Veterinary Pathology**, v.55, n.5, p.634-644, 2018. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985818777794>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1177/0300985818777794

KÜHL, B. et al. Ependymoma in a dwarf goat. **Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere**, v.48 n.1 p.45-49, 2020. Available from: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/a-1067-3925>. Accessed: mar 23, 2021. DOI: 10.1055/a-1067-3925

LOUIS, N. L., et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. **Acta Neuropathol**, v.131 p.803-820, 2016. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00401-016-1545-1.pdf>. Accessed: mar 31, 2021. doi 10.1007/s00401-016-1545-1

McGILL, I. S.; WELLS, G. A. H. Neuropathological findings in cattle with clinically suspect but histologically unconfirmed bovine spongiform encephalopathy (BSE). **Journal of comparative pathology**, v.108, n.3, p.241-260, 1993. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997508802885>. Accessed: mar 23, 2021. [doi.org/10.1016/S0021-9975\(08\)80288-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(08)80288-5)

MENDES DE CORDOVA, F., et al. Cerebral malacia in a mule with ependymoma. **Equine Veterinary Education**, v.27, n.1, p.34-38, 2015. Available from: <https://beva.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/eve.12272>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1111/eve.12272

MICHIMAE, Y. et al. Anaplastic ependymoma in the cervical spinal cord of a Maltese dog. **Journal of veterinary medical science**, v.66 n.9, p.1155-1158, 2004. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/66/9/66_9_1155/article/-char/ja/. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1292/jvms.66.1155

MILLER, A. D. et al. Canine ependymoma: diagnostic criteria and common pitfalls. **Veterinary pathology**, v.56 n.6, p.860-867, 2019. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985819859872>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1177/0300985819859872

SONG, R. et al. Postmortem evaluation of 435 cases of intracranial neoplasia in dogs and relationship of neoplasm with breed, age, and body weight. **Journal of Veterinary internal medicine**, v. 27, n. 5, p. 1143-1152, 2013. Available from:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jvim.12136>. Accessed: mar 23, 2021.
doi.org/10.1111/jvim.12136

TRASLAVINA, R. P., et al. Clear cell ependymoma in a dog. **Journal of Comparative Pathology**, v.149 n.1: p.53-56, 2013. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997512004240>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1016/j.jcpa.2012.11.236

TROXEL, M. T. et al. Feline intracranial neoplasia: retrospective review of 160 cases (1985–2001). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 6, p. 850-859, 2003. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02525.x>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02525.x

VEGE K.D. et al. The immunophenotype of ependymomas. **Appl Immunohistochem. Mol. Morphol.** v.8, n.1, p. 25-31. 2000. Available from: https://journals.lww.com/appliedimmunohist/Fulltext/2000/03000/The_Immunophenotype_of_Ependymomas.4.aspx. Accessed: mar 23, 2021.

WIPPOLD, F.J.; PERRY, A. Neuropathology for the neuroradiologist: rosettes and pseudorosettes. **American Journal of Neuroradiology**, v.27, n.3, p.488-492, 2006. Available from: <http://www.ajnr.org/content/27/3/488.short>. Accessed: mar 23, 2021.

WOOLFORD, L., et al. Ventricular and extraventricular ependymal tumors in 18 cats. **Veterinary Pathology**, v.50 n.2, p.243-251, 2013. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0300985812452580>. Accessed: mar 23, 2021. doi.org/10.1177/0300985812452580

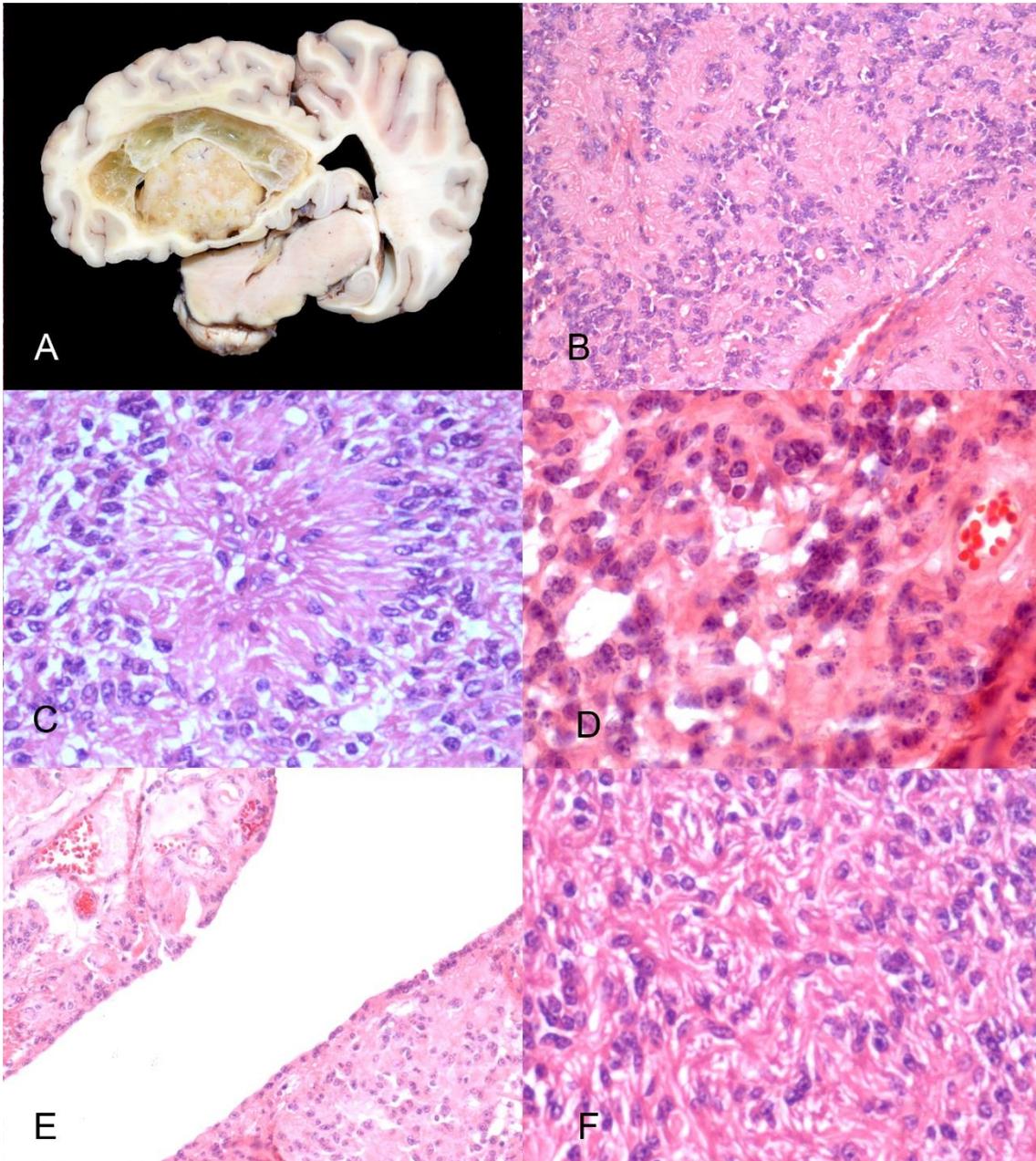


Figura 1. Ependimoma em bovino. (A). Massa neoplásica, bem demarcada, no ventrículo lateral direito, com hidrocefalia secundária. (B) Pseudo-rosetas com processos fibrilares em direção ao vaso central e rosetas verdadeiras com espaço vazio ao centro, H.E. Obj. 10x. (C) Pseudo-roseta, H.E. Obj. 20x. (D) Rosetas verdadeiras, H.E. Obj. 40x. (E) Células neoplásicas formando canais ependimários H.E. Obj. 10x. (F) células ependimárias tumorais sem associação com vasos, H.E. Obj. 20x.

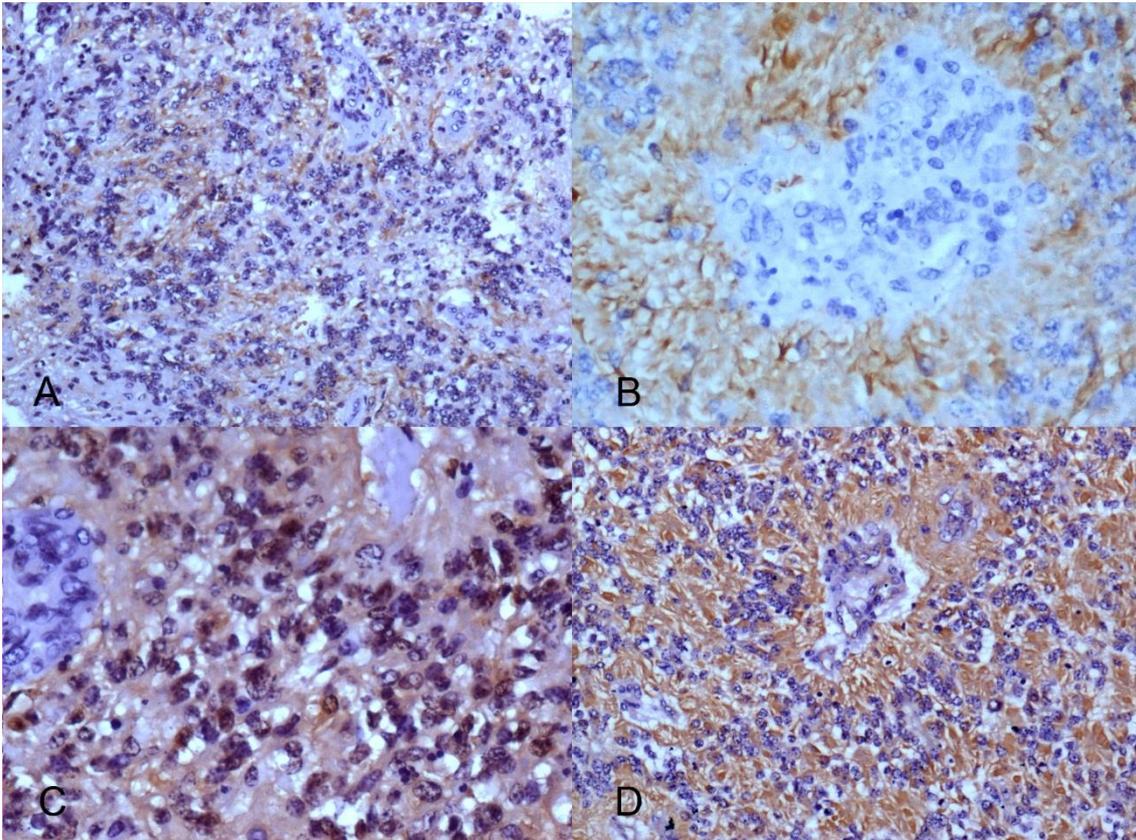


Figura 2 – Ependimoma em bovino. (A) Marcação imuno-histoquímica anti-GFAP em pseudo-rosetas e em células tumorais aleatórias, Obj. 20x., e (B) nos processos celulares fibrilares circundando vaso sanguíneo (pseudo-roseta), Obj 40x. (C) marcação citoplasmática difusa anti-S100, Obj. 40x. e (D) marcação difusa acentuada anti-vimentina nos processos celulares fibrilares. Obj 20x.

TERCEIRA PARTE – Neoplasias sem diagnóstico definitivo

Apesar das marcações IHQs utilizadas, em dois casos de neoplasias do SNC não foi possível chegar ao diagnóstico definitivo. Estes serão posteriormente submetidos a novas marcações.

Caso 1: Equino, fêmea, 5 anos de idade, Sem Raça Definida.

Neoplasia de SNC encaminhada para diagnóstico no Setor de Patologia Veterinária da UFLA.

Histórico e sinais clínicos: O animal apresentou dificuldade de locomoção progressiva, paralisia de membros posteriores, dificuldade em permanecer em estação. Duas vezes ao dia, o animal era colocado em pé, porém não conseguia se locomover e somente permanecia em estação mediante auxílio. Em um destes momentos, o animal sofreu uma queda que levou ao agravamento do quadro clínico. Mediante evolução do quadro, com o equino apático, alheio ao ambiente e não responsivo a estímulos externo foi recomendada a eutanásia do animal. A evolução do quadro clínico foi de aproximadamente dois meses.

Necropsia: Na necropsia foi observado mucosas congestas, escaras de decúbito em membros e flanco, estômago com ulceração na mucosa, coração com petéquias multifocais discretas no epicárdio, pulmão vermelho escuro e com líquido espumoso na traqueia e grandes brônquios. Crânio com fratura em região temporo-occipital bilateral que se estendia dorsal e ventralmente. O encéfalo apresentava massa friável de aproximadamente 7 cm de diâmetro com coloração acinzentada em com hemorragia envolvendo a região de tronco cerebral, pedúnculo cerebelar e hipotálamo (Fig.1).



Figura 1. Encéfalo de um equino com massa tumoral acinzentada envolvendo região de tronco cerebral, pedúnculo cerebelar e hipotálamo.

Microscopia: Presença de células neoplásicas com núcleos arredondados e basofílicos, citoplasma escasso eosinofílico, com crescimento em cordões (Fig 2A) e circundando vasos sanguíneos, lembrando pseudo-rosetas (Fig.2B). Há focos de invasão do parênquima e dissociação das células do plexo coroide (Fig. 2C). Em outras áreas da neoplasia há anisocitose e anisocariose moderada, onde os núcleos tendendo ao arredondado, com cromatina em grumos e citoplasma eosinofílico escasso, porém em maior quantidade do que em outras áreas do tumor (Fig. 2D). Há focos de necrose e calcificação na neoplasia (Fig. 2E).

Imuno-histoquímica:

A marcação anti-vimentina (Fig. 3A) ocorreu de forma acentuada no citoplasma de moderada quantidade de células neoplásicas distribuída de forma multifocal. Discreta quantidade de células foram marcadas pelo GFAP (Fig. 3B), provavelmente astrócitos associados a neoplasia, assim como raras células marcadas com o anticorpo anti-S100 (Fig.3C). Na marcação anti-PCNA, houve marcação nuclear em moderada quantidade de células neoplásicas (Fig.4D).

O diagnóstico sugerido pela localização e aspecto microscópico, foi de pinealoma ou de oligodendroglioma, porém as células não marcaram na IHQ com os anticorpos anti-sinaptofisina e anti-Olig2.

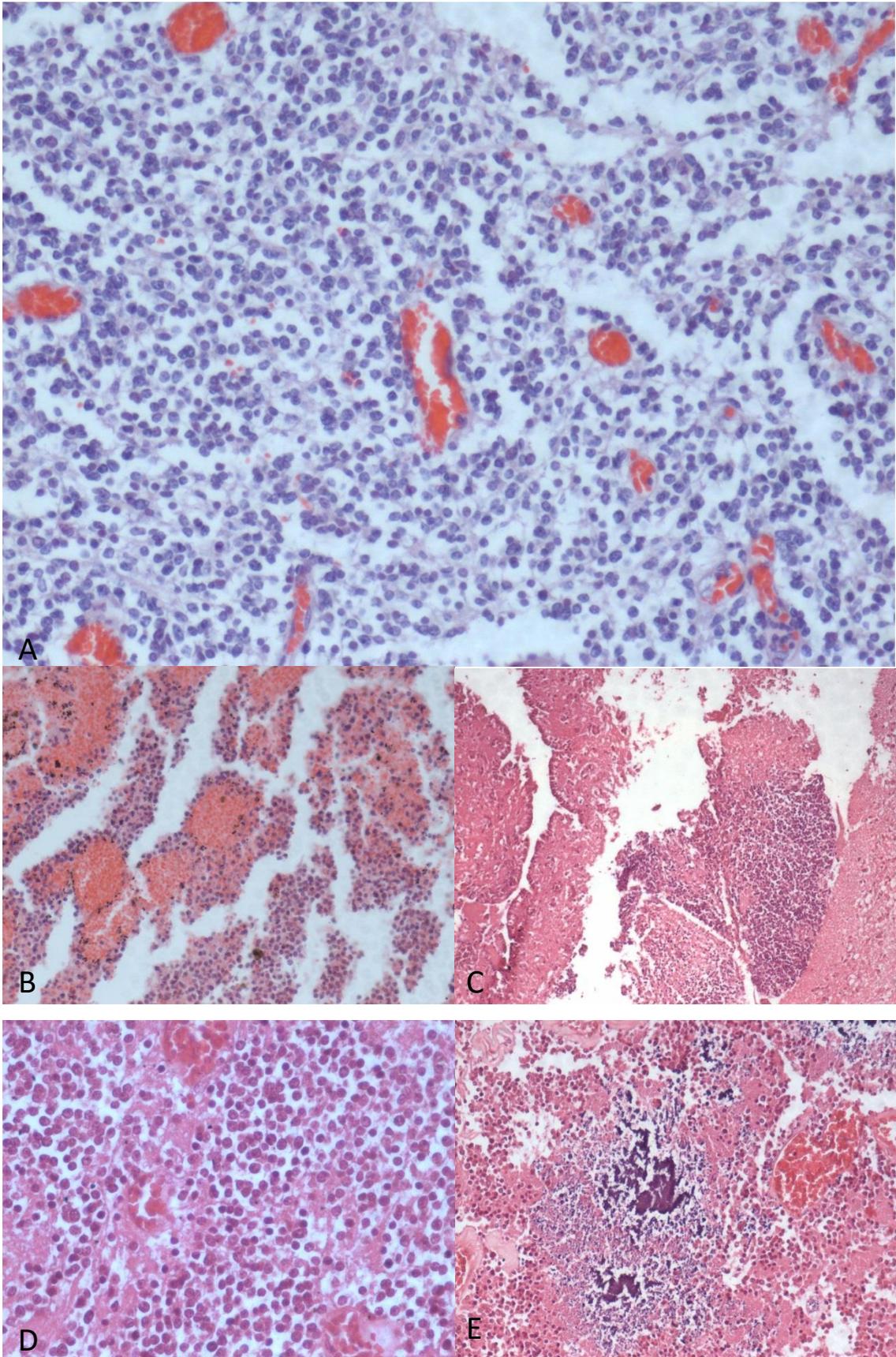


Figura 2 – Aspecto microscópico de neoplasia no SNC de um equino. (A) Crescimento das células neoplásicas na forma de cordões (Obj. 20x) e (B) ao redor de vasos sanguíneos (Obj.

20x). (C) Invasão do parênquima cerebral (Obj. 10x). (D) Área com anisocitose e anisocariose moderada (Obj. 20x). (E) Focos de necrose e calcificação (Obj. 20x).

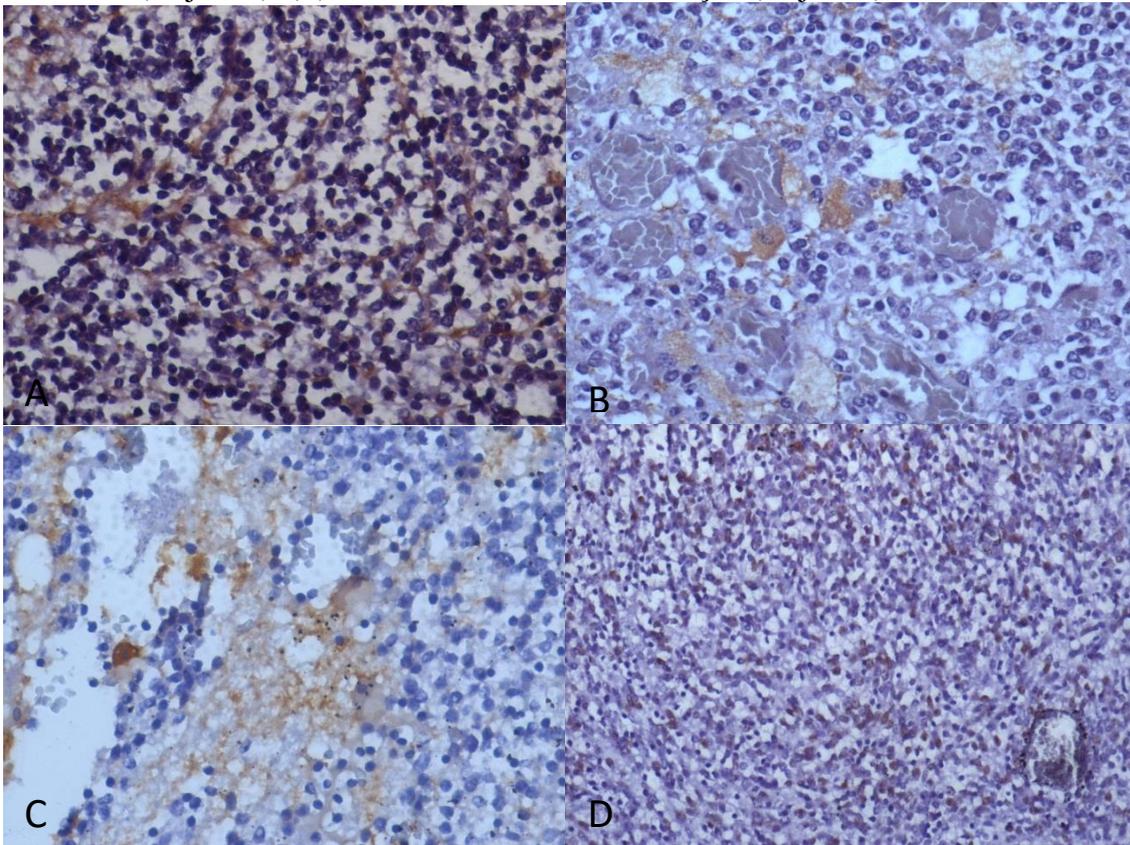


Figura 3. Neoplasia sistema nervoso central de um equino. (A) Marcação anti-vimentina no citoplasma de moderada quantidade de células neoplásicas (Obj.40x). (B) Marcação anti-GFAP (Obj 40x), (C) marcação citoplasmática anti-S100 em pouca quantidade de células (Obj 40x). (D) Marcação anti-PCNA no núcleo de moderada quantidade de células (Obj 20x).

Caso 2: Bovino, Fêmea, 6-8 meses de idade, Raça Gir.

Neoplasia de SNC encaminhada para diagnóstico no Setor de Patologia Veterinária da UFLA.

Histórico e sinais clínicos: O animal foi colocado em um piquete, com muitas pedras e um touro. Quinze dias após, apresentou letargia, fraqueza, ataxia posterior, decúbito por 10 dias. O bovino estava se alimentando e bebendo água normalmente, responsivo aos estímulos do ambiente (consciência normal). O proprietário achava que o touro tinha subido nela, acompanhado de provável queda e devido ao quadro desfavorável o animal foi eutanasiado.

Necropsia: presença de lesões musculares por decúbito caracterizados por feixes musculares amarelados com focos de hemorragia, sendo mais acentuado no membro posterior direito. Articulação tarso metatarso do membro posterior direito com deposição de fibrina. Cordão medular na região da tuberosidade ilíaca, vermelho –amarelado e aumentado de volume. Ao corte massa difusamente amarelada firme de aproximadamente 1,5 cm associado a espessamento das meninges.

Microscopia: proliferação de células com núcleos tendendo a arredondados, cromatina em grumos, nucléolos evidentes e citoplasma eosinofílico com bordos indistintos. Em algumas áreas essas células formam estruturas semelhantes a glomérulos (Fig.1) ou túbulos (Fig.2), presas a um delgado estroma fibrovascular. Há anisocariose moderada a acentuada (Fig. 3) e três a quatro figuras de mitose por campo de maior aumento.

Imuno-histoquímica: As células tumorais foram negativas na marcação IHQ para todos os anticorpos utilizados. Sendo a marcação positiva para os controles interno, como pancitoqueratina em células do plexo coroide; -GFAP em nervos espinhais, -neurofilamento e -S100 em neurônios e células do parênquima encefálico normal; para B-III tubulina em fibras nervosas; -vimentina nas células do epêndima e nas paredes de vasos e feixes dos nervos espinhais. Na marcação anti-PCNA, apesar das figuras de mitose, as células tumorais não foram marcadas.

O diagnóstico suspeito pela morfologia celular seria de um nefroblastoma em medula espinhal.

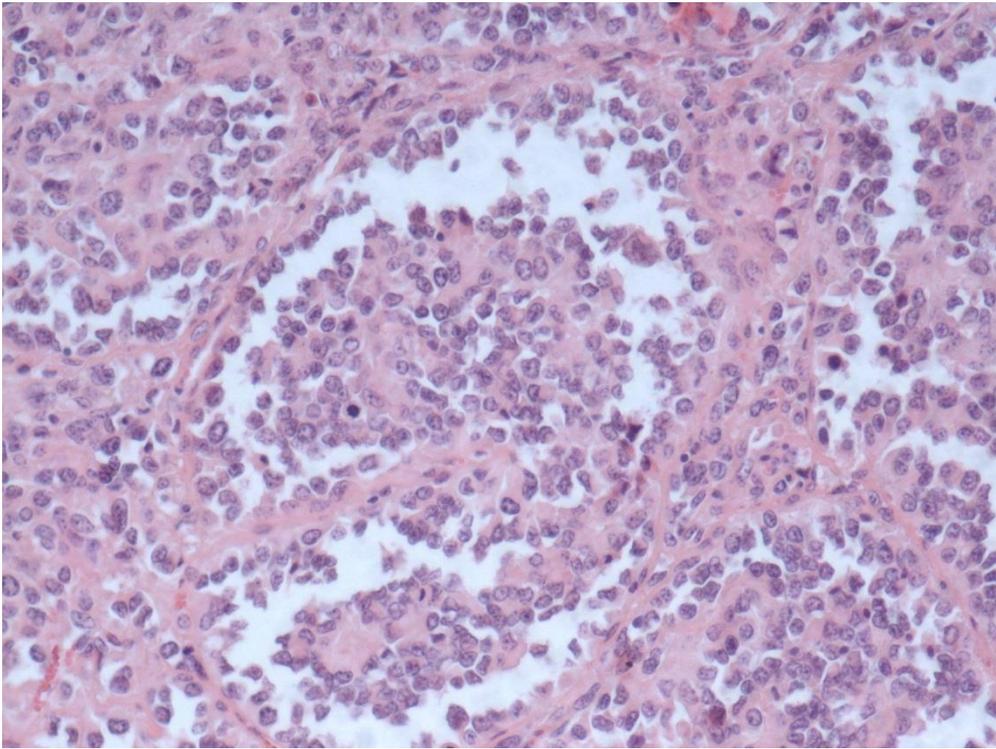


Figura 1. Neoplasia em cordão medular de uma bezerra, com crescimento celular neoplásico semelhante a glomérulos. H.E. Obj. 40x.

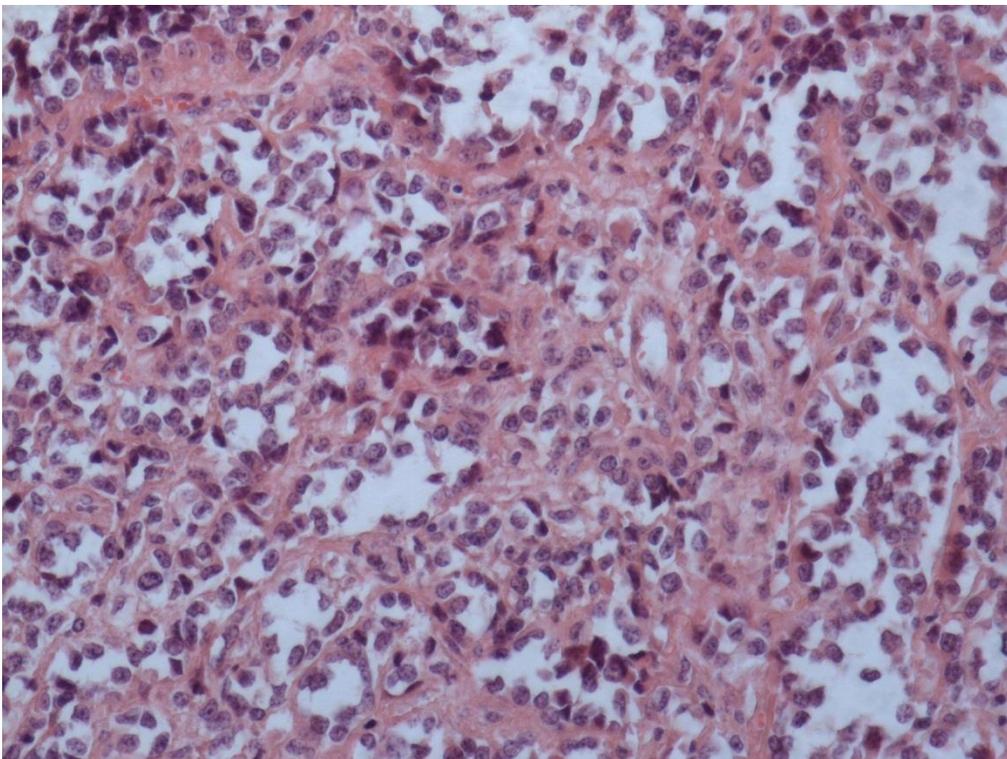


Figura 2. Neoplasia em cordão medular de uma bezerra, com crescimento celular neoplásico formando estruturas tubuliformes. H.E. Obj. 20x.

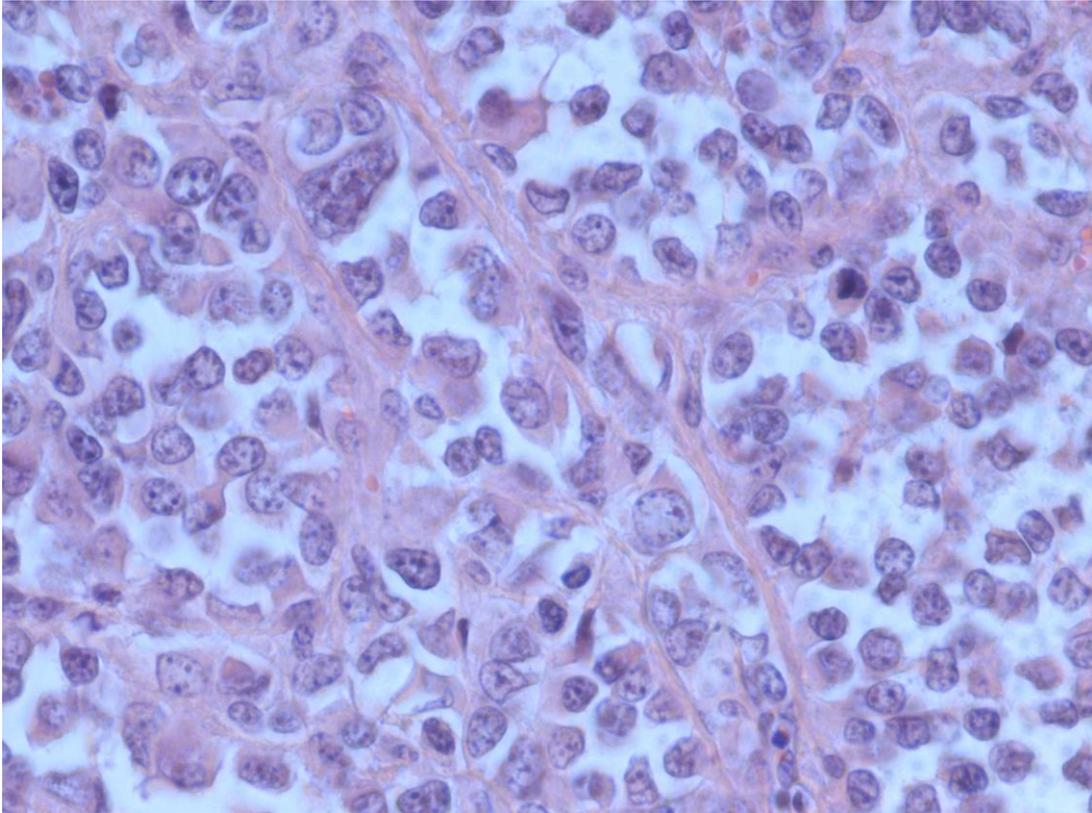


Figura 3 - Neoplasia em cordão medular de uma bezerra. Anisocitose e anisocariose acentuadas. H.E., Obj. 40x.

ANEXO 1

Canino 1 – N96-12

Canino 2 – N175-19

Canino 3 - N154-20

Canino 4 – N305-20

Canino 5 – N85-09

Canino 6 – N79-15

Canino 7 – N13-18

Canino 8 – N81-21

Canino 9 – N321-00

Ovino - N117-05

Bovino adulto – N455-17

Bezerra - A

Equino - D