

Características clínicas e histopatológicas da placa aural em eqüinos das raças Mangalarga e Quarto de Milha¹

Nicole R. Sousa², Vanessa B. Adorno², Júlio S. Marcondes², José P. Oliveira Filho^{2*}, Lissandro G. Conceição³, René L. Amorim² e Alexandre S. Borges²

ABSTRACT.- Souza N.R., Adorno V.B., Marcondes J.S., Oliveira Filho J.P., Conceição L.G., Amorim R.L. & Borges A.S. 2008. [Clinical and histopathological characteristics of the aural plaque in Mangalarga and Quarter Horses.] Características clínicas e histopatológicas da placa aural em eqüinos Mangalarga e Quarto de Milha. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28(6):279-284. Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp-Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618000, Brazil. E-mail: zep.filho@hotmail.com

Aural plaque is a variant of equine papillomatosis. Clinical examination was performed on 306 Mangalarga and 275 Quarter Horses to compare the occurrence of aural plaques among animals and to characterize clinical and histological findings for the disease. Aural plaques occurred in 57% of Mangalarga and in 35% of Quarter breeds. Clinically the lesions consisted of flat, desquamated and hypochromic plaques formed by coalescence of small papules. The main histopathological findings were epidermal hyperplasia and hypomelanosis with abrupt change between the normal and the affected epithelium.

INDEX TERMS: Equine, papillomatosis, aural plaques, Mangalarga, Quarter Horses.

RESUMO.- Placa aural é uma variante da papilomatose eqüina. Foram examinados 306 eqüinos da raça Mangalarga e 275 da raça Quarto de Milha, com o objetivo de comparar a ocorrência da placa aural entre os animais destas raças, e caracterizar os achados clínicos e histopatológicos desta enfermidade. A ocorrência da placa aural foi 57% nos eqüinos da raça Mangalarga e 35% nos eqüinos da raça Quarto de Milha. Clinicamente as lesões consistiram de placas aplainadas, descamativas e hipocrômicas, formadas com frequência pela coalescência de pequenas pápulas. Os principais achados histopatológicos foram hiperplasia epidérmica e hipomelanose levante

do à alteração abrupta entre o epitélio normal e o epitélio acometido pela placa aural.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Eqüino, papilomatose, placas aurais, Mangalarga e Quarto de Milha.

INTRODUÇÃO

Papilomatose é um dos neoplasmas cutâneos mais comuns nos eqüinos, com comportamento benigno e induzido por vírus (Baker & Leyland 1975, Sundberg et al. 1977, Jackson 2003, Valentine 2006). Placa aural é uma variante da apresentação da papilomatose eqüina, causada pelo Papilomavírus Eqüino (EPV), um DNA vírus de dupla fita da família Papovaviridae, que infecta as camadas de células basais do epitélio (Lancaster et al. 1984, Mayr & Guerreiro 1988, Williams 1997).

O seqüenciamento gênico do *Equus caballus papillomavirus* tipo 1 (EcPV-1) foi recentemente obtido de um papiloma cutâneo eqüino (Ghim et al. 2004). Embora o EcPV-1 tenha envolvimento direto com a patogênese da papilomatose cutânea eqüina, Postey et al. (2007) sugerem o envolvimento de um outro tipo viral do EPV com a placa aural eqüina. Há três tipos diferentes de papilomavírus eqüino: dois são responsáveis pela papilomato-

¹ Recebido em 13 de dezembro de 2007.

Aceito para publicação em 4 de fevereiro de 2008.

Parte do trabalho de Iniciação Científica do primeiro autor, PBIC/CNPq/UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp, Campus de Botucatu, SP.

² Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp-Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-000, Brasil. *Autor para correspondência: zep.filho@hotmail.com

³ Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, Av. PH. Rolfs s/n, Viçosa, MG 36570-000. E-mail: lissandro@ufv.br

se cutânea e placas aurais (Williams 1997, Scott & Miller 2003), e um terceiro que pode estar associado à papilomatose genital (O'Banion et al. 1986).

Suspeita-se que simúlideos ou outros artrópodes, por promoverem lesões cutâneas pela picada ou por atuarem como vetor mecânico do vírus (Perris 1995, Scott & Miller 2003), participem da patogênese da placa aural (Thomsett 1979, Fairley & Haines 1992). Embora a transmissão entre os cavalos seja improvável, ainda não são conhecidos os mecanismos pelos quais os vírus penetram na pele do pavilhão auricular e a forma de contágio entre os cavalos (Binninger & Piper 1968, Fairley & Haines 1992).

As placas aurais podem ocorrer uni ou bilateralmente na superfície interna dos pavilhões auriculares e consistem de lesões elevadas, planas, acinzentadas ou esbranquiçadas e hiperqueratóticas que tendem a coalescer (Thomsett 1984, Fairley & Haines 1992, Smith 1993, Fadok 1995).

Clinicamente estas placas variam de menos de um milímetro até mais de dois centímetros, podendo acometer mais de 50% da superfície interna dos pavilhões auriculares (Binninger & Piper 1968). As camadas escamosas e crostosas podem ser facilmente removidas durante o exame, revelando base eritematosa e brilhante (Binninger & Piper 1968, McMullan 1982).

As lesões são observadas durante o ano todo, mas são mais freqüentes no verão, quando ocorre maior insulto pelos simúlideos (Binninger & Piper 1968, Fairley & Haines 1992, Fadok 1995, Stannard 2000). Aparentemente não há predisposição racial e sexual, mas as lesões tendem a ocorrer com maior freqüência em animais com mais de um ano de idade. As lesões podem ser pruriginosas, não causando, em geral, desconforto ao animal, mas podem persistir indefinidamente. Entretanto, sinais de hipersensibilidade foram observados em muitos cavalos (Binninger & Piper 1968, Page 1972, Scott 1988, Fadok 1995, Stannard 2000).

Esta enfermidade acarreta prejuízos, pois reduz o valor de comercialização dos animais severamente acometidos. Nos Estados Unidos, a papilomatose foi a terceira neoplasia cutânea em eqüinos (Sundberg et al. 1977), e sua forma aural representou 1,44% dos casos de dermatopatias atendidas no período de 1979-2000 (Scott & Miller 2003). Na literatura compilada não foram encontradas informações sobre a ocorrência dessa enfermidade no Brasil, contudo há relatos verbais de que existe maior aparecimento de placas aurais em eqüinos da raça Mangalarga.

O objetivo do presente trabalho foi verificar a ocorrência da placa aural em animais das raças Mangalarga e Quarto de Milha, bem como, verificar as características clínicas e histológicas desta enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e características dos grupos experimentais

Foram examinados 581 eqüinos, machos e fêmeas, com idades entre 5 meses a 24 anos, das raças Mangalarga (n=306)

e Quarto de Milha (n=275). Os animais foram selecionados aleatoriamente, durante a inspeção de 14 haras da região Centro Oeste do estado de São Paulo, destes, oito haras criavam exclusivamente eqüinos da raça Quarto de Milha, enquanto que seis criavam exclusivamente eqüinos da raça Mangalarga. Todos os eqüinos examinados foram identificados e dados referentes à raça, sexo, idade, bem como a presença ou não das lesões compatíveis com placa aural, localização anatômica e características das lesões foram anotados em fichas individuais.

As lesões foram fotografadas e desenhadas em papel milimetrado, com o objetivo de demonstrar o tamanho, a distribuição no pavilhão auricular e possibilitar o acompanhamento da evolução das lesões ao longo de um ano.

Treze animais, que apresentavam lesões típicas de placa aural, foram submetidos à biópsia. Os animais biopsiados foram sedados com cloridrato de xilazina, 1mg/kg de peso vivo, e em seguida, as biópsias foram realizadas com "punch" de 4mm de diâmetro. Os fragmentos obtidos foram fixados em formalina tamponada 10% para confecção das lâminas e avaliação histológica.

Os animais submetidos à biópsia foram reexaminados após nove meses, com o objetivo de verificar a evolução das lesões. Os procedimentos realizados foram previamente aprovados pela Câmara de Ética em Experimentação Animal, FMVZ/Unesp-Botucatu.

Estudo histopatológico

As amostras fixadas em formalina foram processadas de maneira habitual e incluídas em parafina. Seções histológicas dos blocos de parafina foram feitas com espessura entre quatro a 5 micras e coradas por hematoxilina e eosina (HE) para posterior exame sob microscopia óptica de luz.

Análise estatística

Os dados obtidos em relação ao sexo e idade, bem como a presença ou não de placa aural e localização anatômica das lesões, foram analisados pelo método estatístico de qui-quadrado (χ^2) para verificar se houve diferença da prevalência entre os animais das raças Mangalarga e Quarto de Milha.

RESULTADOS

A ocorrência de lesões foi maior nos animais da raça Mangalarga, quando comparados com os animais da raça Quarto de Milha. O comprometimento de ambos os pavilhões auriculares também foi estatisticamente maior nos animais da raça Mangalarga. Contudo, não foram observadas diferenças estatísticas entre os animais dos dois grupos, quando comparada à presença de lesões em um único pavilhão auricular. Não ocorreu predileção por sexo ou idade e não foram observadas lesões nos 20 animais com idades inferiores a um ano.

Os resultados de ocorrência das lesões encontradas nos animais dos dois grupos estão apresentados nos Quadros 1 e 2.

Não foram observados sinais de prurido ou desconforto nos animais acometidos nem presença de lesões em região da vulva, prepúcio ou ânus. Não foi observada a presença de insetos na região dos pavilhões auriculares dos animais no momento do exame, porém em algumas

Quadro 1. Ocorrência da placa aurial em equinos da raça Mangalarga (ML) e Quarto de Milha (QM)

Placa aurial	ML		QM	
	n ^a	%	n	%
Presente	173a	57,0	96 b	35,0
Ausente	133	43,0	179	65,0
Total	306		275	

^a Número de amostras. Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferenças estatísticas, com nível de significância de 5%.

Quadro 2. Distribuição bilateral e unilateral das placas aurais em equinos da raça Mangalarga (ML) e Quarto de Milha (QM)

Placa aurial	ML		QM	
	n ^a	%	n	%
Bilateral	91a	53,0	32 b	33,0
Unilateral	82	47,0	64	67,0
Total	173		96	

^a Número de amostras. Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferenças estatísticas, com nível de significância de 5%.

lesões havia a presença de carrapatos (*Amblyomma cajennense*).

As lesões observadas consistiam de placas aplainadas, descamativas e hipocrômicas, formadas com frequência pela coalescência de pequenas pápulas, que variaram de 1-10mm de diâmetro (Fig.1A). Sendo comum a ocorrência conjunta no mesmo pavilhão auricular de diminutas pápulas com placas bem desenvolvidas (Fig.1B). As placas apresentaram, em geral, diâmetros que variaram de 1-3cm (Fig.1C). Algumas lesões apresentaram-se com aspecto vegeto verrucoso (Fig.1D) e alcançaram tamanhos avantajados ocupando quase toda a superfície do pavilhão auricular (Fig.1E). Essas lesões quando tinham a superfície ceratinizada retirada exibiam base de coloração pálida eritemato roseada (Fig.1F).

Após nove meses da primeira inspeção na maioria dos casos as lesões permaneceram estáveis. Em um dos animais, observou-se que houve aumento no número de lesões puntiformes bem como coalescência de algumas delas ocasionando aumento no tamanho da lesão inicial (Fig.2A).

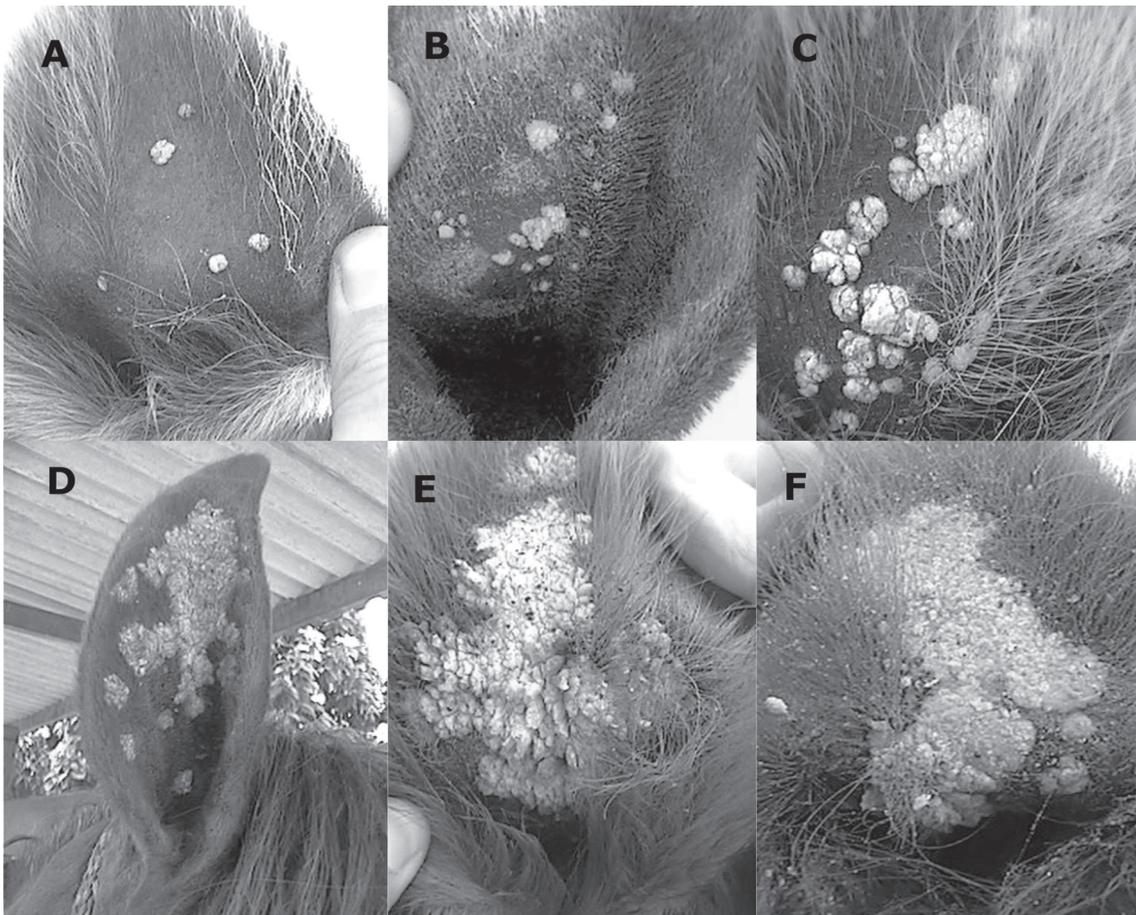


Fig.1. (A) Lesões isoladas, puntiformes variando de 1-3mm de diâmetro. (B) Lesões puntiformes e coalescentes. (C) Lesões coalescentes formando lesões circulares de 5-10mm de diâmetro e com aspecto vegetante. (D) Lesões maiores, com aspecto vegetante, formando verdadeiras placas. (E) Lesão na forma de placa tomando quase todo pavilhão, com aspecto descamativo e com presença de crostas. (F) Base despigmentada rósea, não ulcerada, após a remoção das crostas da Fig.1E.

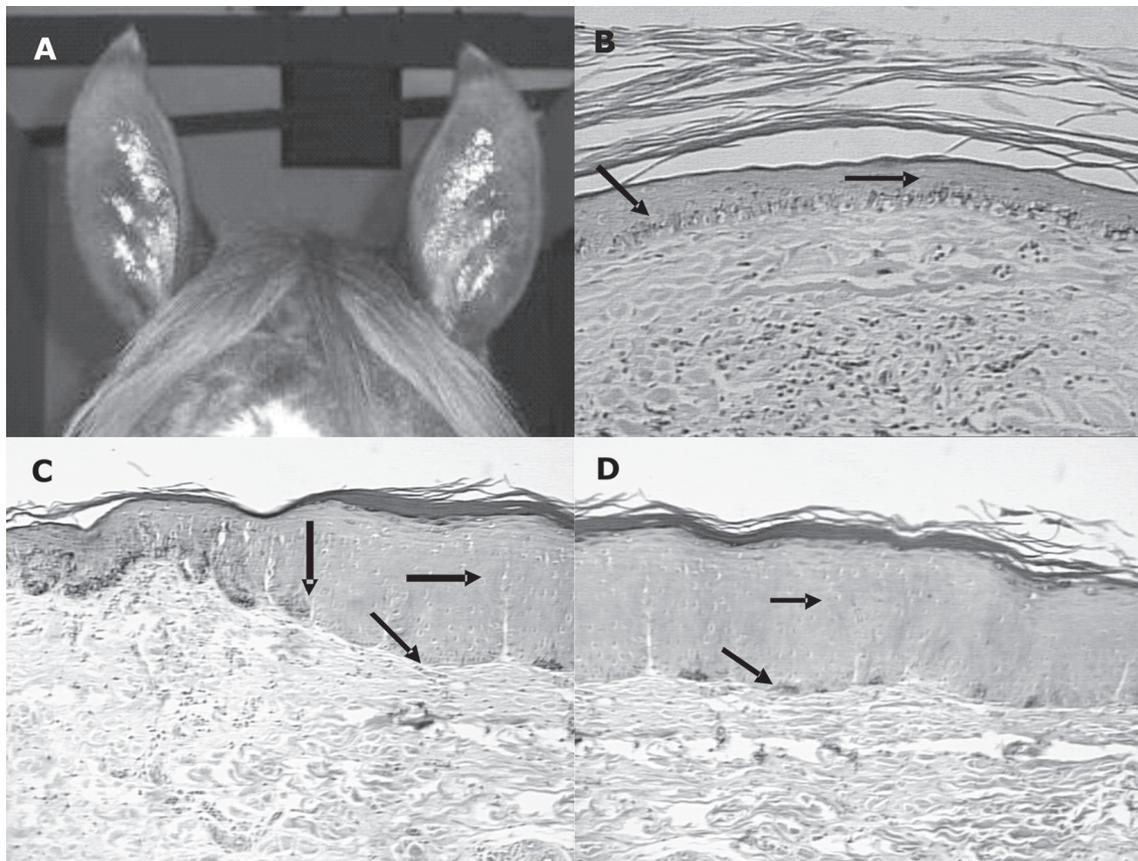


Fig.2. (A) Eqüino com comprometimento bilateral e lesões puntiformes disseminadas em quase todo pavilhão auricular. (B) Pele de orelha normal mostrando presença de melanócitos (↘) e camada epidérmica normal (→). HE, obj.3,2x (C) Pele com transição de epiderme normal à neoplásica (↘), com espessamento da epiderme (acantose) (→) e acentuada hipomelanose (↘). HE, obj.1,6x. (D) Pele com acentuado espessamento da epiderme (acantose) (→), hipomelanose epidérmica (↘) e hiperqueratose (→). HE, obj.1,6x.

Não foram observadas complicações decorrentes das biópsias e os fragmentos obtidos foram suficientes para a realização das técnicas histológicas.

O exame histológico da pele íntegra não apresentou alterações (Fig.2B), enquanto que os cortes histológicos de pele das placas aurais coradas por HE revelaram moderada a intensa hiperplasia epidérmica com discreta papilomatose e presença de largas cristas epidérmicas. Essas cristas epidérmicas projetavam-se para o interior da derme, terminando todas aproximadamente no mesmo nível. As cristas foram volumosas, se fundiam umas às outras e deixaram visíveis apenas um delgado eixo colagênico entre elas que ocasionalmente exibia discreta hemorragia.

Os ceratinócitos neoplásicos apresentaram núcleos grandes, vesiculosos e com vários nucléolos de grande tamanho. O citoplasma também era amplo e eosinofílico. A camada granulosa era delgada e com grânulos finos. Em alguns cortes notavam-se várias células vacuolizadas, semelhantes à coilocitos, que se concentravam principalmente na metade superior da epiderme. Ocasionalmente observavam-se células disceratóticas.

Sobre a epiderme notou-se hiperqueratose ortoceratótica lamelar, que na maioria dos cortes, foi compacta. A atividade mitótica foi baixa. Nas biópsias que representaram junção de pele normal com a lesão (Fig.2C), notou-se alteração abrupta entre a epiderme normal e a neoplásica, onde ficou evidente a hipomelanose epidérmica da última. Na derme superficial ocorria discreta ectasia e congestão vascular, vasos com endotélio proeminente e discreto infiltrado perivascular onde predominaram as células mononucleares. Em alguns cortes notou-se pequeno número de eosinófilos. Os anexos pilosebáceos não apresentaram alterações dignas de nota (Fig.2D).

DISCUSSÃO

Os dados obtidos condizem com a literatura na sua forma de apresentação, quanto ao aspecto e distribuição das lesões nas orelhas, acometendo eqüinos de faixas etárias variadas e sem predisposição de sexo (Binninger & Piper 1968, Jackson 2003, Scott & Miller 2003). Assim como no estudo realizado por Binninger & Piper (1968), as lesões compatíveis com placa auril só foram observadas em animais com idade superior a um ano.

Embora as lesões fossem estatisticamente mais comuns em animais da raça Mangalarga, vários autores consideram que as lesões de placa aural não têm predileção racial, entretanto estes autores não incluíram esta raça nos seus estudos (Binninger & Piper 1968, Fairley & Haines 1992, Johnson 1998).

A ocorrência da enfermidade nos animais estudados foi maior do que a descrita por Binninger & Piper (1968), os quais relataram o aparecimento em 24% dos animais estudados.

A maioria dos animais positivos para a presença da placa aural apresentou lesões puntiformes em ambos os pavilhões auriculares, no entanto havia lesões extensas em grandes placas na superfície interna da orelha, o que condiz com Thomsett (1979), que afirma que as lesões podem coalescer formando placas tomando quase toda porção interna da pina. Contudo, nenhuma lesão era pruriginosa ou dolorosa ao toque, sinais semelhantes aos descritos por diversos autores (McMullan 1982, Thomsett 1984, Scott & Miller 2003).

A ausência de regressão espontânea das lesões, durante o desenvolvimento deste estudo, coincide com as observações de diversos autores (Binninger & Piper 1968, Pascoe 1973, Fadok 1995, Johnson 1998, Radostits et al. 2002), que observaram que a placa aural, diferentemente das outras papilomatoses cutâneas, não regride espontaneamente.

A descrição das lesões observadas neste trabalho é semelhante aos achados de Binninger & Piper (1968), que descreveram as lesões como placas usualmente despigmentadas e circunscritas na face interna do pavilhão auricular e quando elevadas apresentaram-se estratificadas, acinzadas e crostosas; Scott (1988), que descreveu as placas aurais como lesões despigmentadas, únicas ou múltiplas, em um ou ambos os pavilhões auriculares e Fairley & Haines (1992), que descreveram macroscopicamente as lesões apresentando superfície plana, encrostada, sem pigmentação. Binninger & Piper (1968), após removerem a superfície ceratinizada das lesões também observaram, como neste trabalho, base de coloração pálida eritematosa rósea.

A não ocorrência de lesões similares à placa aural em outras regiões do corpo dos eqüinos aqui estudados discorda dos achados de Johnson (1998) e Binninger & Piper (1968). Estes últimos descreveram lesões similares à placa aural na região anal de um dos animais com placa aural presente em ambos os pavilhões auriculares.

Os animais não apresentaram insetos alimentando-se no local da lesão, mas havia a presença de outros artrópodos, como carrapatos junto às lesões. Binninger & Piper (1968) aludem à possibilidade de outros artrópodes transmitirem o papilomavírus.

A técnica de biópsia mostrou-se segura e eficiente para a coleta de fragmentos de pele para a avaliação histopatológica das placas aurais, não acarretando nenhum problema decorrente deste procedimento.

Em relação à histopatologia das lesões, alguns auto-

res relataram presença de hiperqueratose compacta, paraqueratose e hiperplasia regular intensa da epiderme (Binninger & Piper 1968, Williams 1997, Stannard, 2000). A histologia das lesões dos animais avaliados neste estudo revela intensa hiperplasia epidérmica, e intensa hipomelanose, levando à alteração abrupta entre o epitélio normal e o epitélio acometido pela placa aural.

A despigmentação observada justificou-se pela diminuição do número de melanócitos presentes nos cortes corados com HE e está de acordo com Binninger & Piper (1968) e Fulton et al (1970) que demonstraram em microscopia eletrônica que o estrato germinativo com papilomavírus parecia conter apenas queratinócitos, sem nenhuma melanina.

Binninger & Piper (1968) descreveram uma proliferação de cristas epidérmicas para a derme, o que foi observado no exame das biópsias de alguns animais estudados.

Os sinais de inflamação na derme superficial nas amostras de biópsias examinadas neste estudo, também foram descritos por Binninger & Piper (1968), que observaram moderada inflamação inespecífica na superfície dérmica imediatamente abaixo ou adjacente à placa hiperplásica acantótica, consistindo de agregados soltos de poucos linfócitos e histiócitos ao redor de pequenos vasos, com um número variado de eosinófilos ou plasmócitos; neutrófilos e raras células epitelióides. Fairley & Haines (1992) demonstraram através da microscopia eletrônica partículas virais intranucleares, características de papilomavírus, a partir de amostras de placa aural.

O presente estudo constata e documenta a ocorrência desta enfermidade em eqüinos no Brasil fornecendo subsídios para futuras investigações sobre a prevalência e etiologia das placas aurais.

REFERÊNCIAS

- Baker J.R. & Leyland A. 1975. Histological survey of tumors of the horse, with particular reference to those of the skin. *Vet. Rec.* 96:419-422.
- Binninger C.E. & Piper R.C. 1968. Hyperplastic dermatitis of the equine ear. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 153(1):69-75.
- Fadok V.A. 1995. Overview of equine papular and nodular dermatoses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 11(1):61-74.
- Fairley R.A. & Haines D.M. 1992. The electron microscopic and immunohistochemical demonstration of a papillomavirus in equine aural plaques. *Vet. Pathol.* 29:79-81.
- Fulton R.E., Doane F.W. & Macpherson L.W. 1970. The fine structure of equine papillomas and the equine papilloma virus. *J. Ultrastruct. Res.* 30:328-343.
- Ghim S.J., Rector A., Delius H., Sundberg J.P., Jenson A.B. & Ranst M.V. 2004. Equine papillomavirus type 1: complete nucleotide sequence and characterization of recombinant virus-like particles composed of the EcPV-1 L1 major capsid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 324:1108-1115.
- Jackson H.A. 2003. Papillomatosis (Warts), p.212-213. In: Robinson N.E. (ed.), *Current Therapy in Equine Medicine*. 5th ed. W.B. Saunders, St Louis.
- Johnson P.J. 1998. Dermatologic tumors (excluding sarcoids). *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 14(3):625-658.
- Lancaster W.D., Sundberg J.P. & Junge R.E. 1984. Papillomas and

- squamous cell carcinomas of horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185:656-659.
- Mayr A. & Guerreiro M.G. 1988. *Virologia Veterinária*. 3ª ed. Sulina, Porto Alegre, p.465-468.
- McMullan W.C. 1982. The skin, p.818-820. In: Mansmann R.A. & Mcallister E.S. (ed.), *Equine Medicine and Surgery*. American Veterinary Publications, Santa Barbara.
- O'Banion M.K., Reichmann M.E. & Sundberg J.P. 1986. Cloning and characterization of an equine cutaneous papilloma virus. *Virology* 152:100-109.
- Page E.H. 1972. Common skin diseases of the horse. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.* 18:385-399.
- Pascoe R.R. 1973. The nature and treatment of skin conditions observed in horses in Queensland. *Aust. Vet. J.* 49:35-40.
- Perris E.E. 1995. Parasitic dermatoses that cause pruritus in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 11(1):16-17.
- Postey R.C., Appleyard G.D. & Kidney B.A. 2007. Evaluation of equine papillomas, aural plaques, and sarcoids for the presence of *Equine papillomavirus* DNA and *Papillomavirus* antigen. *Can. J. Vet. Res.* 71:28-33.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. *Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1737p.
- Scott D.W. 1988. *Large Animal Dermatology*. W.B Saunders, Philadelphia. 487p.
- Scott D.W. & Miller W.H. 2003. Neoplastic and non-neoplastic tumors, p.698-795. In: ____ (ed.), *Equine Dermatology*. W.B. Saunders, St Louis.
- Smith B.P. 1993. *Tratado de Medicina Veterinária Interna de Grandes Animais: moléstias de eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos*. Manole, São Paulo, p.1261-1262.
- Stannard A.A. 2000. Miscellaneous. *Vet. Dermatol.* 11:217-23.
- Sundberg J.P., Burnstein T., Page E.H., Kirkham W.W. & Robinson F.R. 1977. Neoplams of Equidae. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 170(2):150-152.
- Thomsett L.R. 1979. Skin diseases of the horse. *Practice* 3:15-26.
- Thomsett L.R. 1984. Noninfectious skin diseases of horses. *Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.* 6(1):59-78.
- Valentine B.A. 2006. Survey of equine cutaneous neoplasia in the Pacific Northwest. *J. Vet. Diagn. Invest.* 18:123-126.
- Williams M.A. 1997. Papillomatosis: warts and aural plaques, p.389-90. In: Robinson N.E. (ed.), *Current Therapy in Equine Medicine*. 4th ed. W.B. Saunders, Philadelphia.