

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MARINA CARLA BEZERRA DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO EM HEMANGIOMAS E  
HEMANGIOSSARCOMAS CUTÂNEOS E VISCERAIS E ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA  
E RECIDIVA TUMORAL EM CÃES

UBERLÂNDIA - MG

2018

MARINA CARLA BEZERRA DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO EM HEMANGIOMAS E  
HEMANGIOSSARCOMAS CUTÂNEOS E VISCERAIS E ANÁLISE DE SOBREVIDA  
E RECIDIVA TUMORAL EM CÃES

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Médico Veterinário.

Área de concentração: Ciência veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Márcio de Barros Bandarra.

UBERLÂNDIA – MG

2018

CARACTERIZAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO EM HEMANGIOMAS E  
HEMANGIOSSARCOMAS CUTÂNEOS E VISCERAIS E ANÁLISE DE SOBREVIDA  
E RECIDIVA TUMORAL EM CÃES

Trabalho de conclusão de curso apresentado a  
coordenação do curso graduação em Medicina  
Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia,  
como requisito parcial à obtenção do título de Médico  
Veterinário.

Uberlândia, 12 de Dezembro de 2018

---

Prof. Dr. Márcio de Barros Bandarra, UFU/MG

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Aparecida Medeiros – Ronchi, UFU/MG

---

M.V. Érica Almeida Viscone, UFU/MG

UBERLÂNDIA-MG

2018

*“Matar o sonho é matarmo-nos. É mutilar a nossa alma. O sonho é o que temos de realmente nosso, de impenetravelmente e inexpugnavelmente nosso”.*

Fernando Pessoa

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e por todas as realizações e crescimento conquistados nesta maravilhosa jornada.

A minha mãe Rosineide, irmão Pedro e familiares, por sempre apoiar as minhas escolhas, pelo carinho e incentivo e por acreditarem em mim.

Agradeço aos meus amigos, da faculdade e da vida, por estarem comigo nos momentos alegres e difíceis.

Ao meu orientador Márcio, e toda a equipe do laboratório de patologia animal da UFU, como residentes, professores, estagiários e pós-graduandos, pela força de vontade, apoio e dedicação para comigo.

Aos técnicos dos laboratórios, em especial do laboratório de Patologia animal.

Agradeço as meninas da mesa rosa, por estarem sempre comigo nos momentos de estudos, ou seja, nos momentos difíceis.

Aos amigos das saídas noturnas, por me fazerem viver a vida de uma forma mais que especial.

As minhas companheiras de apartamento (Bethânia e Jéssica), por me aturarem por anos e todos os dias, desde o bom dia até a boa noite, e por suportar todos os meus defeitos.

Agradeço a família Santos Souza, por todo o carinho dedicado a mim nos momentos difíceis e por todos os momentos mais que felizes que passamos juntos.

## RESUMO

Os hemangiomas e hemangiossarcomas cutâneos e viscerais são proliferações de células do endotélio vascular, sendo o hemangioma classificado como benigno e o hemangiossarcoma maligno. De acordo com dados em outros tipos neoplásicos o infiltrado inflamatório do microambiente tumoral e outros fatores como citocinas, favorecem ou inibem a progressão tumoral. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi elucidar a participação do sistema imune frente a essas neoplasias, estabelecer incidências, parâmetros prognósticos e análise e estimativas de tempo e sobrevida. Foi realizado um levantamento dos casos de hemangioma e hemangiossarcoma em cães, dos arquivos do laboratório de patologia animal/HV-UFU compreendidos em dois anos (2016 – 2018) que totalizaram 84 casos, já para a análise de sobrevida e recidiva foram utilizados 35 casos. O hemangiossarcoma foi mais frequente que o hemangioma, e a forma cutânea em ambas as neoplasias foi a de maior incidência. O órgão mais acometido por esses neoplasmas foi o baço e a idade média dos hemangiomas foi de 10,12 anos e nos hemangiossarcomas 8,72 anos, e a pelagem preta foi a de maior ocorrência nos hemangiomas, enquanto que nos hemangiossarcomas foi a branca. A maior porcentagem encontrada de infiltrado inflamatório foi de células plasmocitárias em ambas as neoplasias, e o tipo de infiltrado e intensidade não tiveram correlação e não apresentaram diferenças estatísticas em relação a recidiva e sobrevida ( $p > 0,05$ ) e o tamanho tumoral de maior frequência foi o de T<sup>2</sup> (1-10 cm), que estatisticamente o tamanho do tumor também não teve relação com a recidiva e sobrevida ( $p > 0,05$ ). Na sobrevida 50% dos animais analisados tiveram morte em até aproximadamente 60 dias após o diagnóstico. No presente estudo os fatores estudados não tiveram correlação estatística com a sobrevida e recidiva demonstrando que para hemangioma e hemangiossarcoma esses padrões não podem ser considerados fatores prognósticos preditivos, mas o tempo e a estimativa de sobrevida foram baixos, evidenciando que de um modo geral, o prognóstico é desfavorável.

Palavras – chave: inflamação. neoplasia endotelial. resposta imune.

## ABSTRACT

Cutaneous and visceral hemangiomas and hemangiosarcomas are proliferations of vascular endothelial cells, with the hemangioma classified as benign and malignant hemangiosarcoma. According to data in other neoplastic types the inflammatory infiltrate of the tumor microenvironment and other factors like cytokines favor or inhibit the tumor progression. Therefore, the objective of this study was to elucidate the participation of the immune system in relation to these neoplasms, establish incidence, prognostic parameters and analysis, and estimates of time and survival. A survey of the cases of hemangioma and hemangiosarcoma in dogs from the animal pathology / HV - UFU laboratory files was carried out within two years (2016 - 2018), which in total gave 84 cases, but for the survival and relapse analysis were used 35 cases. Hemangiosarcoma was more frequent than hemangioma, and the cutaneous form in both neoplasms was the one with the highest incidence. The organ most affected by these neoplasms was the spleen and the mean age of the hemangiomas was 10.12 years and in the hemangiosarcomas 8.72 years, and the black coat was the one with the highest occurrence in the hemangiomas, while in the hemangiosarcomas it was the white one. The highest percentage of inflammatory infiltrate was found in plasma cells in both neoplasms, and the type of infiltrate and intensity had no correlation and statistical difference with relapse and survival ( $p > 0.05$ ), and the most frequent tumor size was of T2 (1-10 cm), that statistically the tumor size also had no relation with relapse and survival ( $p > 0.05$ ). In the survival, 50% of the animals analyzed died within 60 days after diagnosis. In the present study, the factors studied did not have a statistical correlation with survival and relapse, demonstrating that for hemangiomas and hemangiosarcoma, these patterns cannot be considered as predictive predictive factors, but the time and the survival estimate were low, evidencing that, in general, the prognosis is unfavorable.

Key- words: inflammation. endothelial neoplasia. immune response.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1. A e B</b> Aspecto macroscópico de hemangiossarcoma em fígado de cães (seta branca). <b>A)</b> nódulo de consistência macia, arredondado, delimitado, com uma área sem continuidade com bordas elevadas e centro depressivo, de coloração brancacenta. <b>B)</b> nódulos de consistência macias, irregulares, de coloração avermelhada e ao corte saindo fluído aquoso e avermelhado .....	<b>23</b>
<b>FIGURA 2.</b> Fotomicrografia de Hemangiossarcoma em pele de cão apresentando infiltrado inflamatório HE. Obj. 40x .....	<b>26</b>
<b>FIGURA 3.</b> Intensidade do infiltrado inflamatório em hemangioma e hemangiossarcoma .....	<b>28</b>
<b>FIGURA 4.</b> Tipo de infiltrado inflamatório correlacionado com o tamanho tumoral .....	<b>30</b>
<b>FIGURA 5.</b> Curvas de sobrevida. <b>A)</b> intervalo do tempo correlacionando com a frequência de indivíduos vivos. <b>B)</b> proporção da sobrevivência correlacionando com o intervalo de tempo. <b>C)</b> a chance de sobrevivência até o tempo t (527 dias). Análise de Kaplan Meier .....	<b>31</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1.</b> Dados de idade média, não apresentaram registro, animais adultos e animais idosos. Pelagem dos animais divida em não apresentaram registro, amarela, bege, branca, branca/preta, cinza, marrom, preta e tricolor de cães com hemangioma e hemangiossarcoma .....	<b>24</b>
<b>TABELA 2.</b> Dados dos tipos de infiltrado inflamatório tumoral em hemangioma e hemangiossarcoma correlacionado com as formas viscerais e cutâneas, Uberlândia – MG, 2016 – 2018.....	<b>27</b>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>11</b>
2.1. Neoplasia endotelial .....	11
2.2. Fatores Prognósticos .....	14
2.2.1. Graduação histológica .....	14
2.2.2. Tamanho tumoral .....	16
2.3. Sobrevida .....	16
2.4. Infiltrado inflamatório associado à neoplasia .....	16
2.5. Linfócitos e plasmócitos .....	17
2.6. Macrófagos .....	18
2.7. Mastócitos .....	18
<b>3. METODOLOGIA .....</b>	<b>19</b>
3.1. Amostras .....	19
3.2. Avaliação histopatológica e morfológica .....	20
3.3. Análise estatística .....	21
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>

### 1. INTRODUÇÃO

Com os avanços obtidos nos últimos anos pela Medicina Veterinária, a estimativa de vida dos animais aumentou, bem como o diagnóstico de doenças antes não frequentemente diagnosticadas. Frente a isso, o número de mortes decorrentes de neoplasias sofreu um aumento significativo nos animais domésticos.

Os hemangiomas (HAs) e hemangiossarcomas (HSAs) são neoplasias derivadas da proliferação desordenada das células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos. (MACEWEN, 2001). Os HSAs ou também chamados de angiossarcoma ou hemangioendotelioma maligno, apresentam uma alta malignidade, já os HAs são a forma benigna dessa proliferação (GOLDSCHMIDT, 2002).

Cerca de 150 anos já se especulava a conexão entre a inflamação e o cancro após observar a presença de leucócitos em tumores mamários humanos (MORRISON, 2012). A presença de leucócitos em carcinomas mamários em mulheres forneceu a ideia de uma ligação entre a inflamação e o cancro, contudo, só na última década surgiram evidências mais claras que a inflamação tem um papel importante no desenvolvimento neoplásico (GRIVENNIKOV et al., 2010).

São vários os fatores que colaboram para o desenvolvimento neoplásico, como: genética, agentes físicos, químicos e biológicos, e atualmente sabe-se que o sistema imune do animal e dos humanos também colabora para o desenvolvimento ou inibição tumoral. Existem várias pesquisas relacionadas com o infiltrado inflamatório tumoral em busca de aprimorar o conhecimento sobre as neoplasias, com o intuito de obter uma terapia mais eficaz que as quimioterapias e radioterapias que são os tratamentos atuais. Essas terapias têm como finalidade a morte das células tumorais por injúrias, que liberam sinais que são capazes de ativar as células inflamatórias presentes no microambiente tumoral, para ocorrer à apresentação de antígenos resultantes das células neoplásicas lesadas pelo tratamento e assim desencadear uma resposta imunológica frente ao cancro (BERGMAN, 2009)

Portanto o sucesso destes métodos atuais ou também chamados de convencionais dependem da capacidade das células imunes, sendo assim ter conhecimento do sistema imunológico pode proporcionar melhorias nos recentes tratamentos e contribuir para futuros. Além disso, avaliar o sistema imunológico nas neoplasias tem grande importância para compreender a multiplicação das células tumorais e também para entender a relação da manutenção desse crescimento

celular mesmo com ação do infiltrado inflamatório, e a composição do infiltrado é diferente para cada tipo neoplásico. (BERGMAN, 2009)

O sistema imunológico é dividido em resposta inata e adaptativa (adquirida). A resposta inata tem ação rápida e pouco específica, sendo composta pela pele, mucosas, células fagocitárias, sistema complemento e citocinas. Já a resposta adaptativa tem capacidade de memória antigênica, que distingue células antígenicamente normais (self) de antígenicamente estranhas (non-self), que compreendem as ações dos linfócitos T que são divididos em T helper (CD4+), T citotóxico (CD8+) (BERGMAN, 2009).

Os tipos tumorais envolvidos na presente pesquisa possuem predisposição para o processo de metástase, por estarem relacionados com vasos sanguíneos e com isso 80% dos animais no momento do diagnóstico, já apresentam metástases (SMITH, 2003).

Dessa maneira espera-se que as análises realizadas com hemangiomas e hemangiossarcomas em cães, proporcionem dados para compreender a ação da resposta imune, objetivando elucidar o tipo e intensidade do infiltrado inflamatório no microambiente tumoral, incidências de HAs e HSAs cutâneos e viscerais, pelagem, idade, tamanho tumoral, e com esses dados demonstrar a relação entre tipo de infiltrado inflamatório, intensidade e tamanho tumoral com recidiva e sobrevida, e análise de sobrevida desses tipos neoplásicos.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. NEOPLASIA ENDOTELIAL**

A incidência descrita na literatura do HSA na rotina veterinária é de 2% de todos os tumores em cães (MORRISON, 2002), segundo Ávila et al. (2011) em um estudo realizado entre 1999 e 2009 foram diagnosticados 62 casos de hemangiossarcoma de um total 1834 casos de neoplasias em cães no hospital veterinário da ULBRA, representando um percentual de 3,38%. Já Souza et al.

(2006) observaram em neoplasias cutâneas na Universidade Federal de Santa Maria com 761 casos, 6,6% de hemangioma e hemangiossarcoma.

Segundo Sabattini (2009) os estudos realizados com 29 tumores viscerais de HSA, o principal local de origem não foi determinado em sete casos decorrente à presença de lesões multicêntricas. Os outros 22 casos tiveram origem primeiramente no baço constituindo a principal neoplasia esplênica em cães, seguido por átrio direito, fígado, omento, área retroperitoneal e bexiga urinária e 24 HAs surgiram dentro da pele e cinco eram de origem do baço. No entanto Ávila et al. (2011) relataram que o local primário do HSA nos cães foi a pele, ocorrendo em 26 (41,94%) casos, de um total de 62. O baço foi o segundo local mais afetado, com 19 ocorrências (30,65%), em oito casos (12,91%) observou – se a forma multicêntrica (localização múltipla dos tumores) em que os cancros foram encontrados no baço, fígado, rim, saco pericárdio, átrio direito, miocárdio, pulmões, adrenais, linfonodos, pâncreas e no cérebro. No coração e átrio direito, foram três casos (4,84%). Outros locais como: mediastino, bexiga, região infraorbitária, ovário, omento e globo ocular registraram apenas um caso (1,61%) por local.

A forma cutânea do hemangioma apresenta-se clinicamente como nódulo da derme ou do subcutâneo variando muito em relação ao tamanho, mas frequentemente medem entre 0,5 cm e 4 cm de diâmetro, são firmes, normalmente solitários e raramente alopecicos, bem circunscritos, arredondados variando do vermelho a vermelho-escuro, a ulceração e hemorragia são alterações frequentes, e por suas apresentações macroscópicas dificulta a diferenciação clínica de outros tumores identificados como nódulos ou placas (MEDLEAU, 2003). Já o hemangiossarcoma a apresentação cutânea é pouco comum e tem baixa capacidade metastática possuindo menor agressividade comparada ao visceral (MOROZ, 2007). A sua causa é desconhecida, embora cães pouco pigmentados e expostos à radiação solar prolongada apresentam maior risco de desenvolver essa forma do tumor (GOLDSCHMIDT, 2002; THAMM, 2007), que aparece macroscopicamente em formato de placa elevada de aproximadamente 2,5 cm de diâmetro, superfície irregular, coloração vermelha escura, consistência friável, por vezes ulcerada e com aspecto hemorrágico (SANTOS et al., 2012).

De acordo com Ávila et al. (2011) o aspecto macroscópico dos hemangiossarcomas foram desde um único até vários nódulos, tendo variações de tamanhos de 0,5 cm a 20 cm de diâmetro, na superfície e ao corte apresentaram coloração castanha escura a avermelhada e áreas pardacentas, com consistências macia e aspecto hemorrágico, com rupturas ocasionais. A presença de cistos foi observada em dois casos, que ao corte tinham presença de líquido sanguinolento. Na pele, todos os nódulos estavam ulcerados e dois fistulados. A sua forma visceral possui uma alta agressividade, com elevado índice de metástase, isso é explicado devido à sua origem ser de células dos vasos sanguíneos, proporcionando uma rápida disseminação de células tumorais por via hematogêna (MACEWEN, 2001).

De acordo com o levantamento realizado nos Estados Unidos utilizando 2.000 necropsias, 45% dos cães que viveram até dez anos de idade tiveram morte relacionada a doenças neoplásicas, sendo que as neoplasias acometem principalmente animais entre oito e 13 anos, demonstrando que essa patologia é mais frequente em animais idosos (WITHROW, 2001) e segundo Sabbattini et al. (2009) os cães acometidos pelos HAs e HSAs tiveram em média 9,3 anos de idade. Os cães que são diagnosticados com HSA e apresentam um quadro mais avançado, morrem por hemorragia interna aguda secundária à ruptura do tumor.

Pulley & Stannard (1990) relataram que as neoplasias pareciam não haver predisposição sexual, enquanto Gross et al. (1992) citaram que as fêmeas seriam mais susceptíveis em desenvolver o tumor associado à exposição ao sol e PRYMAK et al. (1998), descreveram que os machos possuíam uma maior incidência de casos neoplásicos. Morrison (2002a) em estudo com 62 animais com hemangiossarcoma, observou que 30 (48,38%) eram machos e 32 fêmeas (51,61%), e Sabbattini (2009) constatou em 32 cães com hemangiossarcoma e hemangioma 67,6% desses animais eram do sexo masculino. De acordo com Pulley & Stannard (1990), o Pastor Alemão é a raça mais afetada, e segundo Morrison (2002a), as raças de maior risco são SRD (sem raça definida) com 22 casos (35,48%), Cocker Spaniel 7 (11,29%), Pastor Alemão 6 (9,67%), Poodle 5 (8,06%), Dogue Alemão, Rottweiler com 3 (4,83%) casos cada, Boxer com 2 (3,22%) e American Pitbull Terrier, Basset Hound, Collie, Dálmata, Fila Brasileiro, Fox Terrier, Labrador, São Bernardo, Schnauzer, Sharpei, West Highland Terrier com 1 (1,61%) caso cada. Sabbatin (2009) observou que em hemangiossarcomas e hemangiomas cães da raça pastor alemão eram os mais

afetados, enquanto Ávila et al. (2011) demonstrou que cães SRD foram os mais acometidos.

## 2.2. FATORES PROGNÓSTICOS

O fator prognóstico pode ser determinado com uma ou mais características clínicas, patológicas e biológicas dos indivíduos e de seus neoplasmas, que permitem prever a evolução clínica e o tempo de sobrevivência do paciente (CAVALCANTI; CASSALI, 2006).

O exame histopatológico objetiva determinar a identificação, classificação e prognóstico das neoplasias, promovendo uma correlação com o comportamento biológico da doença, baseado principalmente nas características morfológicas do tumor, incluindo o tamanho tumoral, status linfonodal, histologia e, mais recentemente, expressão de marcadores específicos associados ao curso clínico (NAMBIAR et al., 2005). Em humanos os fatores prognósticos mais empregados em angiossarcomas são o tamanho tumoral, localização, invasão das margens cirúrgicas, contagem mitótica, localização primária e idade do paciente (PENEL et al., 2010). A graduação histológica parece ser importante somente nos HSAs de mama humanos (BERTAZZOLO et al., 2005). Na medicina veterinária, os estudos referentes de fatores prognósticos específicos dos hemangiossarcomas são escassos.

Apesar da cirurgia e o tratamento quimioterápico, o tempo médio de sobrevivência para os animais que apresentam esse tipo neoplásico é pouco mais de seis meses (Sorenmo et al., 2000).

### 2.2.1. GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA

Na microscopia o hemangioma consiste na proliferação de células endoteliais moderadamente distendidas com pouco citoplasma e núcleos achatados, uniformes e escuros e o nucléolo e figuras mitóticas não são evidentes e a epiderme subjacente dos hemangiomas dérmicos e subcutâneos mostra frequentemente hiperplasia que varia de leve a acentuada (MEUTEN, 2017). Essa proliferação forma

canais vasculares, com um lúmen pequeno, mas sempre com a presença de alguns eritrócitos no seu interior, sendo que deve ser feita a sua diferenciação do hematoma vascular, hemangiossarcoma e linfangioma (GOLDSCHMIDT, 2002). Já o Hemangiossarcoma na microscopia é observado neoformações vasculares de diferentes tamanhos com eritrócitos no seu interior, camada de células neoplásicas endoteliais, na parede das formações vasculares e no estroma conjuntivo, caracterizando-se pelos formatos alongado ou ovais de diferentes tamanhos, com núcleo hiper cromático e figuras de mitose (SANTOS et al., 2012).

Segundo Ávila et al. (2011) os exames histopatológicos dos HSAs, apresentaram proliferação de células endoteliais imaturas formando espaços vasculares com presença ou ausência de células sanguíneas no interior, trombos, hemorragia, alto índice mitótico, pleomorfismo e invasividade. Quando localizado na pele, ainda observou-se ulceração com infiltração de células polimorfonucleares. Sabattini (2009) relataram a morfologia das células com alto índice de homogenicidade, variando de fusão, poligonal a ovoide, com padrões de crescimento vasoformativos a sólidos. Onze das 40 HSAs (27,5%) foram categorizadas como bem diferenciados, com numerosos canais vasculares irregulares e grandes áreas de hemorragia com poucas células, imitando hematomas. A maioria das amostras observadas eram do subtipo cavernoso, apresentando espaços vasculares grandes, regulares e bem definidos preenchidos com eritrócitos, completamente fechados por uma única camada de células endoteliais.

O diferencial entre hemangioma e HSA é baseado no grau de diferenciação histológica e extensão da invasão no tecido local. Esta distinção é importante no que se refere ao comportamento biológico do tumor, crescimento específico e taxa de recorrência. O grau de diferença histológica e de malignidade são critérios baseados em: grau de diferenciação celular, celularidade tumoral, quantidade de estroma, presença de necrose, alterações no estroma colagenoso e índice mitótico (MCSPORRAN, 2009). Estudos anteriores sobre os demais sarcomas de tecidos moles de cães têm mostrado uma forte correlação entre grau histológico (com base no índice mitótico, grau de diferenciação, e necrose) e prognóstico (BERTAZZOLO et al., 2005).

### 2.2.2. TAMANHO TUMORAL

O tamanho do tumor é um dos principais fatores prognósticos das neoplasias, sendo o mais importante na neoplasia mamária em mulheres e está sendo muito útil para a clínica em cadelas. Várias pesquisas indicam um pior prognóstico e menor tempo de sobrevida em cadelas que apresentam tumores maior que 5 cm e a maioria que apresentam esse valor são malignos, tumores com tamanhos menores que 3 cm apresentam um melhor prognóstico em cadelas (FERREIRA et al., 2017). Em HA e HSA ainda não está bem elucidado quais fatores prognóstico são confiáveis, mas acreditam que o tamanho tumoral também é um dado de grande importância. No entanto fatores prognósticos fidedignos ainda precisam ser estabelecidos em HSA caninos e felinos (DENNIS et al., 2010)

### 2.3. SOBREVIDA

A definição de sobrevida se dá pelo tempo decorrido entre o início do tratamento ou diagnóstico e a progressão da doença ou morte por diversas causas (MACHADO et al., 2010). Ela pode variar por diversos motivos com o curso clínico da doença e a outros fatores, como a idade do paciente no momento do diagnóstico entre outros. (MEDEIROS et al., 2016).

### 2.4. INFILTRADO INFLAMATÓRIO ASSOCIADO À NEOPLASIA

Atualmente sabe-se que a resposta imunológica estimula ou inibe o crescimento tumoral (MITTAL et al., 2014), tendo em visto que essa resposta é um trabalho conjunto das imunidades inata e adaptativa para a destruição das células neoplásicas. São várias as observações realizadas confirmando a atuação do sistema imunológico contra o surgimento das neoplasias, como a regressão espontânea dos tumores, aumento da incidência de neoplasias em indivíduos imunocomprometidos, e a associação entre as concentrações das células linfocitárias infiltrantes em alguns tumores levando a um melhor prognóstico (GIRALDO, BECHT et al., 2015). Porém, a pressão exercida pelo microambiente tumoral pode desencadear alterações no sistema imunológico, possibilitando a sobrevivência de células tumorais contribuindo para a progressão neoplásica (VESELY AND SCHREIBER, 2013).

Esse infiltrado de células imunes no microambiente tumoral é descrito em várias formas de neoplasias como carcinoma mamário em cadelas (MAGALHÃES, 2016; ESTRELA-LIMA et al., 2010), carcinoma espinocelular da língua e soalho oral (MANZANO, 2010), entre outras, no entanto trabalhos realizados nesse âmbito com hemangioma e hemangiossarcoma são escassos.

Segundo Estrela-Lima et al. (2010) afirmaram que em neoplasia mamária em cadelas, a intensidade do infiltrado inflamatório influencia o estadiamento clínico e o prognóstico do paciente. E Sheu et al. (2008) observaram que porcentagens elevadas de células linfocitárias no infiltrado tumoral têm valor prognóstico na progressão de tumores de mama em mulheres. Matkowski et al. (2009) concluíram que análises dos infiltrados tumorais de células inflamatórias, apresentam prognósticos como marcador para ocorrer o desenvolvimento de metástase.

A caracterização como tipo, densidade e localização do infiltrado inflamatório tumoral pode estabelecer uma melhor predição do resultado clínico do que outros parâmetros histopatológicos que são usados para tal fim (VAKKILA et al., 2004). As células que compõem esse infiltrado incluindo macrófagos, mastócitos, neutrófilos, linfócitos, células dendríticas, eosinófilos e plasmócitos podem promover uma modificação desse microambiente através da produção de citocinas, fatores de crescimento, fatores angiogênicos, mediadores citotóxicos, ILs, INFs e entre outros (DALTÓE et al., 2010).

## 2.5. LINFÓCITOS E PLASMÓCITOS

Em estudo realizado com adenocarcinoma mamário em mulheres, foi observada uma correlação positiva entre a infiltração de linfócitos T e o aumento do tamanho tumoral. Isso demonstrou que o crescimento tumoral tem um maior estímulo da infiltração de linfócitos T e que após o seu desenvolvimento, a resposta T auxiliar (CD4+) não apresenta efeitos na sua progressão, sendo que essa variação observada no infiltrado inflamatório linfocítico nesse tipo tumoral indicou uma resposta inflamatória inicial indefinida (SILVA et al., 2017). Em um estudo realizado em próstata canina utilizando marcadores imunohistoquímicos para identificar linfócitos T e B, macrófagos e plasmócitos no infiltrado inflamatório, observaram que

mais de 80% das células inflamatórias eram linfócitos T, os outros tipos celulares estavam presentes, mas representaram proporções menores no infiltrado (MAHAPOKAI et al., 2001).

Em tumores mamários caninos em cadelas, observaram alguns plasmócitos imunorreativos espalhados pelo tumor (SILVEIRA, 2009).

## 2.6. MACRÓFAGOS

Estudo realizado em glioma humano observou-se que o fator estimulador de colônias de macrófagos, que estimula o crescimento hematopoiético que promove a sobrevivência de macrófagos, é superexpresso nesse tipo neoplásico (PYONTECK et al., 2013).

Os macrófagos vêm sendo muito estudados como componentes do sistema imune que infiltram o tumor. Essas células são envolvidas em processos de inflamação crônica e parecem estar associados à progressão tumoral e metástase. Concentrações elevadas de macrófagos em tecido neoplásico humano foram relacionadas a mau prognóstico em mais de 80% de estudos publicados. (CONDEELIS, POLLARD 2006). No microambiente tumoral os macrófagos recebem o nome de “macrófagos associados ao tumor” (TAM – tumor-associated macrophages), essas células são recrutadas pelas células neoplásicas, que sofrem uma diminuição da função imune e uma exacerbação de sua função trófica. As principais características observadas que levam os macrófagos desenvolver à progressão tumoral são: inflamação, remodelação de matriz, angiogênese, disseminação, intravasamento, e invasão das células tumorais. (CONDEELIS, POLLARD 2006).

## 2.7. MASTÓCITOS

As células mastocitárias apresentam um papel importante na progressão tumoral e no processo de angiogênese em neoplasias humanas. Vários mediadores das células mastocitárias são conhecidos por desempenhar os processos angiogênicos e regular a proliferação de células endoteliais (HIROMATSU E TODA

2003). Há escassez de informações sobre o papel dos mastócitos em tumores animais, no entanto tem um estudo realizado correlacionando áreas de alta densidade vascular, contagem de mastócitos e densidade de microvasos em melanomas caninos e envolvimento de mastócitos na neovascularização em tumores venéreos transmissíveis caninos (MUKARATIRWA et al., 2006).

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 AMOSTRAS**

Foram avaliados os casos compreendidos entre o ano de 2016 a 2018 de neoplasias caninas de origem endotelial vascular, oriundas do banco de arquivo da rotina do setor de Patologia Animal da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). No total foram 84 casos desses tipos neoplásicos, no entanto para a análise de recidiva, evolução e sobrevida foi preciso realizar um questionário com os tutores dos cães e não foi possível localizar os tutores em todos os casos, sendo realizado apenas com 35 animais.

Todos os dados sobre recidiva, evolução e sobrevida foram passados para uma planilha no programa da Microsoft Excel® (2010), juntamente com as informações da ficha clínica e patológica de cada animal que foram levadas em consideração, como tamanho do tumor, raça, idade, consistência, tipo de infiltrado, intensidade, localização, distribuição, diagnóstico e pelagem.

Os cães foram agrupados de acordo com o diagnóstico histológico e a localização anatômica do hemangioma e hemangiossarcoma como visceral e cutâneo sendo que os órgãos que constituíram o grupo visceral foram: baço, fígado, rim, bexiga, testículo e encéfalo e os cutâneos foram: toda a pele e subcutâneo, pálpebras, pele que constitui o sistema reprodutor, cauda, dorso, mama e joelho conforme utilizado por Schultheiss (2004).

### 3.2. AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA E MACROSCÓPICA

As lâminas já preparadas foram encontradas nos arquivos do laboratório, sendo que a etapa de preparação se iniciou coletando os fragmentos de áreas com alterações macroscópicas provenientes de necropsias ou para biopsia e após foram acondicionados em frascos com formol 10%, tamponado com fosfatos e fixados por 24 horas, esses fragmentos foram reduzidos para tamanhos menores e colocados em cassetes e passaram por uma bateria de processamento para ocorrer a desidratação em soluções de concentração decrescente de álcool, diafanizados em xilol e incluídos em parafina que depois foram emblocados em parafina líquida, e os blocos cortados no micrótomo perfazendo cortes na espessura de 5µm. Após o procedimento ocorreu a desparafinação das lâminas dando dois banhos de xilol com permanência de cinco minutos cada um, dois banhos de álcool absoluto três minutos em cada, e dois banhos em álcool 95% três minutos em cada, depois foram lavados em água corrente por dez minutos (TIMM, 2005). Em seguida as lâminas foram coradas e montadas para posterior leitura, identificação e classificação das neoplasias em microscopia de luz do Laboratório de Patologia Animal (UFU), da marca Nikon®.

O diagnóstico histológico foi dado segundo os padrões de Goldschmidt et al. (2002). Para quantificar a intensidade do infiltrado inflamatório, foi analisado quatro campos de cada lâmina e cada campo foi dividido em quatro quadrantes na objetiva de 10X, quando as células inflamatórias ocupavam  $\frac{1}{4}$  foi classificado em discreto (1), ocupando  $\frac{2}{4}$  em moderada (2) e  $\frac{3}{4}$  ou  $\frac{4}{4}$  acentuada (3). O tipo de célula do microambiente tumoral foi dado de acordo com o seu predomínio.

O aspecto macroscópico dos HSAs e HAs foram classificados de acordo com Flores et al. (2012) em: T<sup>1</sup> (pápula: aumento de volume sólido, redondo e bem circunscrito com menos de 1 cm de diâmetro), T<sup>2</sup> (nódulo: aumento de volume sólido, redondo e bem circunscrito com 1 a 10 cm de diâmetro), T<sup>3</sup> (massa: aumento de volume sólido, irregular, não circunscrito e de qualquer tamanho ou aumento de volume sólido, redondo e bem circunscrito, porém, com mais de 10 cm de diâmetro), acrescentando o T<sup>0</sup> ( para aqueles que não tiveram os dados informados).

Os parâmetros para estabelecer as idades, foram de acordo com Moraillon et al. (2013), onde foram divididos; animais com média de idade (anos), não apresentaram registro, animais adultos (< 8 anos) e animais idosos (> 8 anos).

### 3.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as análises de prevalência utilizamos contagens para determinar as porcentagens. Foi utilizado o teste de Mann-Whitney para verificar se o tempo de vida dos animais que morreram a partir do diagnóstico era estatisticamente igual ao tempo dos animais que não vieram a óbito. Para analisar se existia relação entre tipo e intensidade do infiltrado inflamatório com a recidiva, utilizou o teste de qui-quadrado. Esse teste também foi utilizado para verificar se existia relação entre tipo de infiltrado inflamatório e sobrevida e também entre intensidade e sobrevida.

O teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado para verificar se existia diferença entre tipo ou entre intensidade para sobrevida e para a sobrevida foi utilizado a análise de Kaplan – Meier.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo encontrou-se uma prevalência de 59,52% (n=50) de hemangiossarcoma e 40,47% (n=34) de hemangioma, dados estes que corroboram com trabalhos realizados por SOARES et al. (2017) e Berselli (2011), onde em estudos retrospectivos também encontraram uma maior prevalência de hemangiossarcoma em cães, demonstrando 33,33% (n=64) de hemangioma e 66,67% (n=128) hemangiossarcoma e uma incidência de hemangioma 15,1% (n=8) e HSAs 84,9% (n=45) respectivamente.

Com relação as localizações dos hemangiossarcomas, no presente estudo observou-se que 68% dos casos foram cutâneos, estando de acordo com Soares et al. (2017) e Berselli (2011) que demonstraram 81,25% e 60% respectivamente. Enquanto que na forma visceral dos hemangiossarcomas os valores obtidos neste trabalho foi de 32%, concordando com os valores obtidos por Soares et al. (2017)

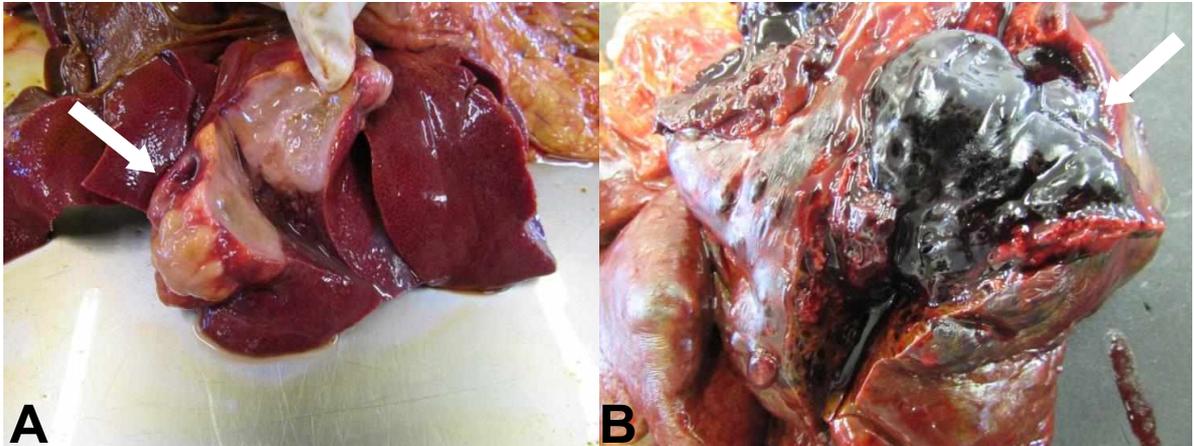
que encontrou 40% dos hemangiossarcomas na forma Visceral e Berselli (2011) que em seu estudo encontrou 17,97%.

Já o Hemangioma foi possível observar que 64,70% ocorreram das formas cutâneas e 35,3% viscerais, concordando com Berselli (2011), que em seu estudo encontrou 74% dos casos de hemangiomas ocorrendo na pele e 26% viscerais e também com Soares et al. (2017) que 10,94% apresentaram-se na forma visceral e 89,06% cutânea.

Em relação aos órgãos, no presente estudo em hemangioma observamos 70% (n=7) em baço, 10% (n=1) em fígado, 10% (n=1) bexiga e 10% (n=1) testículo. A proporção de maior acometimento do baço também foi observada por Soares et al. (2017) baço (n=4), fígado (n=1), peritônio (n=1) e linfonodo poplíteo (n=1), sendo que esse estudo não encontrou em bexiga e testículo. Já Berselli (2011) encontrou apenas 13% (n=1) no baço e 13% (n=1) na vagina, o restante em pele, não observando maior prevalência em baço.

Em hemangiossarcoma o baço foi o principal órgão acometido com 68,75% (n=11), seguido de fígado com 6,25% (n=1) (Figura 1), rim com 6,25% (n=1), linfonodo com 6,25% (n=1), encéfalo e íris com os mesmos 6,25% (n=1). Berselli (2011) encontrou 28,9% (n=13) em baço, 8,9% (n=4) em fígado, 2,2% (n=1) pulmão, 2,2% (n=1) mesentério, 2,2% (n=1) mama, 2,2% (n=1) cérebro, 2,2% (n=1) coração, 2,2% (n=1) mucosa nasal, 2,2% (n=1) parede abdominal e 2,2% (n=1) pâncreas. Já Soares et al (2017) observaram acometimento principalmente no baço (n=15), seguido dos rins (n=5), fígado (n=4), peritônio e pâncreas (n=2), pulmões e olho (n=1) e Flores et al (2012) observaram que o HSA afetou principalmente o baço 62,5%, pulmão 60%, fígado 52,5%, peritônio 42,5%, rim 37,5%, encéfalo 30%, pleura 25% e coração 22,5%, demonstrando alguns órgãos que não foram identificados na presente pesquisa.

**FIGURA 1. A e B** Aspecto macroscópico de hemangiossarcoma em fígado de cães (seta branca). **A)** nódulo de consistência macia, arredondado, delimitado, com uma área sem continuidade com bordas elevadas e centro depressivo, de coloração brancacenta. **B)** nódulos de consistência macias, irregulares, de coloração avermelhada e ao corte saindo fluido aquoso e avermelhado.



Fonte: A autora.

Com relação a idade na pesquisa variou de 4 a 17 anos em hemangiomas com média de 10,12 anos e nos HSAs variou de 11 meses a 18 anos com média de 8,72 anos (Tabela 1). A comparação de animais idosos foi maior em relação aos adultos nos hemangiomas, enquanto que no HSAs a diferença não foi significativa. De acordo com Berselli (2011) a variação da idade nos hemangiomas foi de 2 a 12 anos com média de 8 anos, para os HSAs variou de 6 a 15 anos anos com média de 8,4 anos demonstrando que os HSAs tiveram uma média maior de idade, sendo que no presente estudo a média dos hemangiomas apresentaram-se maiores que dos HSAs. Segundo Soares et al. (2017) os HSAs a média foi de 8,24 anos e hemangiomas tiveram média de 8,73 anos, mas não encontraram diferença estatística entre eles ( $p > 0,05$ ). Em comparação com as neoplasias mamárias, que são mais elucidadas, sabe-se que a média da idade é de 9 anos ao diagnóstico, sendo maior que dos hemangiomas e menor que dos HSAs encontrados no presente estudo (NUNES et al., 2017).

A pelagem preta foi a de maior ocorrência nos hemangiomas, enquanto que no hemangiossarcoma foi a branca, demonstrando assim que a coloração do pelame influencia na ocorrência da forma maligna de neoplasias endoteliais. No total a coloração branca teve maior ocorrência seguida da preta, no entanto teve mais casos de HSAs, podendo ter influenciado na proporção da pelagem branca (Tabela 1). Berselli (2011) encontrou nas neoplasias de forma cutânea uma porcentagem de

45,4% da coloração clara, indo de acordo com o encontrado no presente estudo de ter mais acometimento em pelagem branca, no entanto não foi realizado a mesma divisão de dados (cutâneo e visceral) para a pelagem. Hargis et al. (1992) realizou um estudo para avaliar a pelagem e pele coberta por pelos ou não, onde encontraram que menos de um terço dos cães de raças com pigmentação variável e com revestimento por pêlos 31% apresentaram hemangiomas e hemangiossarcomas cutâneos na derme e a maioria dos cães com pele não pigmentadas 75% apresentavam hemangiomas e hemangiossarcomas, concordando com os dados do estudo, que a não pigmentação (clara, branca) tem maior frequência nesses tipos neoplásicos.

**TABELA 1.** Dados de idade média, não apresentaram registro, animais adultos e animais idosos. Pelagem dos animais dividida em não apresentaram registro, amarela, bege, branca, branca/preta, cinza, marrom, preta e tricolor de cães com hemangioma e hemangiossarcoma.

IDADE	HEMAGIOMA	HEMANGIOSSARCOMA	TOTAL
Média da idade (anos)	10,12	8,72	-
Não apresentaram registro	2	6	8
Animais adultos	7	18	25
Animais idosos	25	26	51
<b>PELAGEM</b>			
Não apresentaram registro	7	9	16
Amarela	5	3	8
Bege	3	0	3
Branca	5	18	23
Branca/Preta	0	8	8
Cinza	1	2	3
Marrom	3	5	8
Preta	6	4	10
Tricolor	4	1	5

Fonte: A autora.

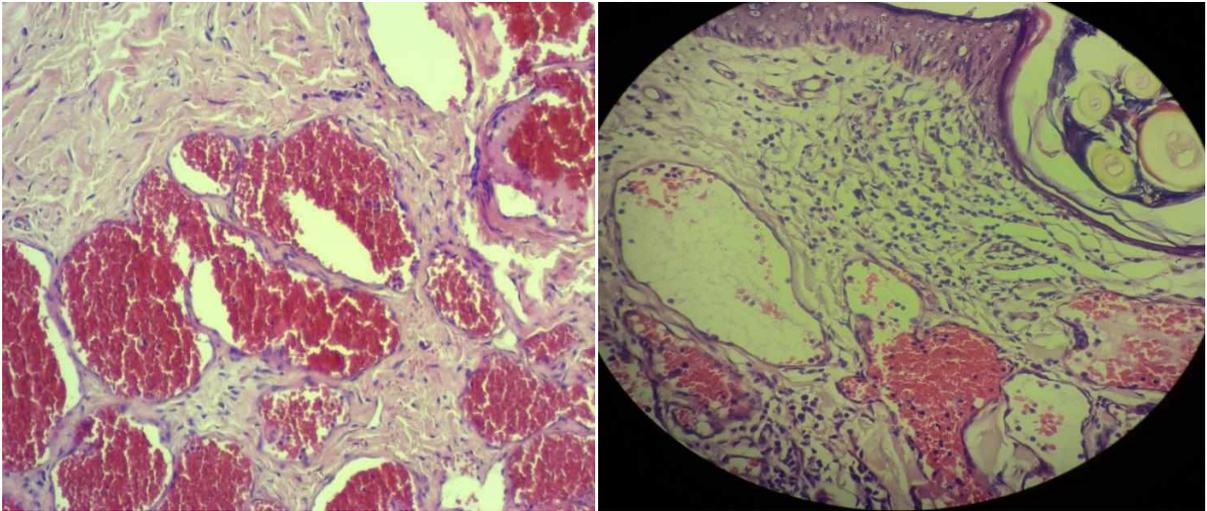
Em hemangioma parece não ter diferença de acordo com o sexo, sendo que 50% (n=17) foram fêmeas e 50% (n=17) foram machos, já nos hemangiossarcomas 68% (n=34) foram fêmeas e 32% (n=16) machos, sugerindo assim que a forma maligna tem predisposição por fêmeas.

De acordo com Soares et al. (2017) o hemangioma apresentou 57,81% (n=37) fêmeas e 42,19% (n=27) machos, não dando diferença entre sexo desse tipo neoplásico, já o hemangiossarcoma foi 59,38% (n=76) fêmeas, 35,15% (n=45) machos e 5,47% (n=7) animais sem registro, portanto as fêmeas foram mais acometidas que os machos, concordando com o presente estudo. Contudo, estes achados diferem dos resultados encontrados por Flores et al. (2012) onde a prevalência hemangiossarcomas foi de 53,5% em machos e 46,5% em fêmeas. No entanto alguns estudos apresentam maior número de machos afetados tanto para hemangioma como para hemangiossarcoma (SCHULTHEISS 2004), e outros demonstram que as fêmeas são mais acometidas por hemangiomas e hemangiossarcomas (HARGIS et al., 1992). Nesta pesquisa, a prevalência das fêmeas foi maior nos hemangiossarcomas, o que não ocorreu nos hemangiomas.

Em relação ao infiltrado inflamatório tumoral analisado em lâminas feitas com H.E (Figura 2), a maior concentração celular nas amostras foi de plasmócitos, com percentual de 59,52% (n=50), seguido por histiócito 16,66% (n=14), infiltrado misto de histiócito e plasmócito (histioplasmocitário) 15,47% (n=13), linfócito e plasmócito (linfoplasmocitário) 3,57% (n=3), linfocitário 3,57% (n=3) e mastocitário 1,19% (n=1).

De acordo com Arranja (2015) em um estudo realizado com neoplasias mamárias, das 41 amostras o infiltrado linfocitário apresentou maior concentração 51,22% (n=21), seguido de macrófagos, polimorfonucleares (neutrófilos), mastócitos e verificou-se a presença de infiltrado linfo-histio-plasmocitário numa lesão não neoplásica de hiperplasia fibroadenomatosa. No entanto na presente pesquisa a concentração de linfócitos foi a segunda menor e de plasmócitos foi a maior, mas em mama os plasmócitos foram identificados apenas em infiltrado misto de lesão não neoplásica.

**FIGURA 2.** Fotomicrografia de Hemangiossarcoma em pele de cão apresentando infiltrado inflamatório. HE, obj. 40x.



Fonte: A autora.

Dos 34 casos de hemangioma 52,94% (n=18) tiveram infiltrado inflamatório composto por plasmócitos, seguido por histiócitos, histioplasmocitário, linfoplasmocitário e mastocitário. Os infiltrados plasmocitário, histioplasmocitário, mastocitário e histiocitário em hemangiomas tiveram maior prevalência na forma cutânea, enquanto o infiltrado linfoplasmocitário apresentou-se apenas na forma visceral. Nos HSAs dos 50 casos, o infiltrado plasmocitário também teve maior prevalência 64,0% (n=32), seguido de histiocitário, histioplasmocitário, linfoplasmocitário e linfocitário. Os infiltrados plasmocitário, histioplasmocitário, histiocitário e linfoplasmocitário tiveram maior prevalência na forma cutânea, enquanto o infiltrado linfocitário teve maior ocorrência na forma visceral (Tabela 2).

Segundo Hargis et al. (1992) os hemangiomas frequentemente apresentam infiltrados de mastócitos, linfócitos e hemossiderose, no entanto não observamos infiltrado linfocitário nesse tipo neoplásico.

Em neoplasia mamária, na forma maligna observaram alguns plasmócitos imunorreativos, linfócitos circundando as células neoplásicas e macrófagos em pequena quantidade, mas sendo negativos em alguns casos e nos tumores benignos a concentração celular foi muito semelhante à encontrada nos malignos (SILVEIRA, 2009). No presente estudo as concentrações celulares também foram

muito semelhantes entre os HAs e HSAs, houve diferença em apresentar ou não algum tipo de infiltrado inflamatório, como por exemplo, o mastocítico que não foi observado em HSAs e o linfocitário em HAs.

De acordo com Berselli (2011) a maior parte dos hemangiomas apresentou infiltrado inflamatório linfoplasmocitário peritumoral 62,5% e apenas 25% do infiltrado não estavam associados ao tumor, já em HSAs 16,7% havia presença desse infiltrado inflamatório peritumoral e 24,1% desse infiltrado não estava associado ao tumor, no entanto, no presente estudo nos HAs e HSAs 94,12% e 98% respectivamente, não apresentaram associação com o infiltrado linfoplasmocítico.

Segundo Schultheiss (2004) um grande número de mastócitos foi observado no estroma da periferia tumoral em HA e HSA cutânea canina, mas não observaram diferença entre este infiltrado nos HAs e HSAs. De acordo com Sabbatini e Bettini (2009) em dez dos 40 casos de HSAs tinham um número baixo a moderado de mastócitos e em um tumor havia presença acentuada, nos HAs os mastócitos foram identificados em todas as amostras, exceto em baço. Nesse estudo observamos esse tipo de infiltrado apenas no HA cutâneo, estando de acordo com Sabbatini e Bettini (2009) que não encontraram em baço, porém em todos os casos cutâneos, mas tivemos apenas uma amostra com esse tipo celular que pode ser a causa da diferença entre HAs e HSAs e suas formas cutâneas e viscerais.

**TABELA 2.** Dados dos tipos de infiltrado inflamatório tumoral em hemangioma e hemangiossarcoma correlacionado com as formas viscerais e cutâneas.

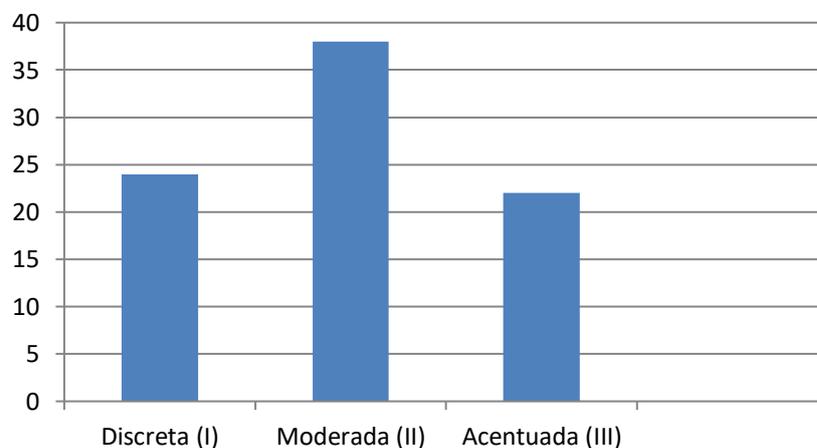
HEMANGIOMA				
INFILTRADO	VISCERAL	CUTÂNEO	Nº DE CASOS	%
Plasmocitário	3	15	18	52,94%
Histiocitário	4	3	7	20,58
Histioplasmocitário	1	5	6	17,64%
Linfoplasmocitário	2	0	2	5,88%
Linfocitário	0	0	0	0%
Mastocitário	0	1	1	2,94%
TOTAL	10	24	34	100%

HEMANGIOSSARCOMA				
Plasmocitário	10	22	32	64,0%
Histiocitário	2	5	7	14,0%
Histioplasmocitário	2	5	7	14,0%
Linfoplasmocitário	0	1	1	2,0%
Linfocitário	2	1	3	6,0%
Mastocitário	0	0	0	0%
TOTAL	16	34	50	100%

Fonte: A autora.

Notamos que na análise de intensidade de infiltrado inflamatório, 38 amostras tiveram intensidade moderada (II), 24 discreta (I) e 22 acentuada (III), sendo que a moderada teve uma maior porcentagem 45,23%. Os hemangiomas tiveram porcentagens iguais na intensidade discreta e moderada 41,14% e a acentuada teve menor porcentagem 17%, já nos HSAs a moderada e acentuada tiveram maior frequência, 46% e 34% respectivamente, enquanto a discreta teve 20% (Figura 3).

**FIGURA 3.** Intensidade do infiltrado inflamatório em hemangioma e hemangiossarcoma.



Fonte: A autora.

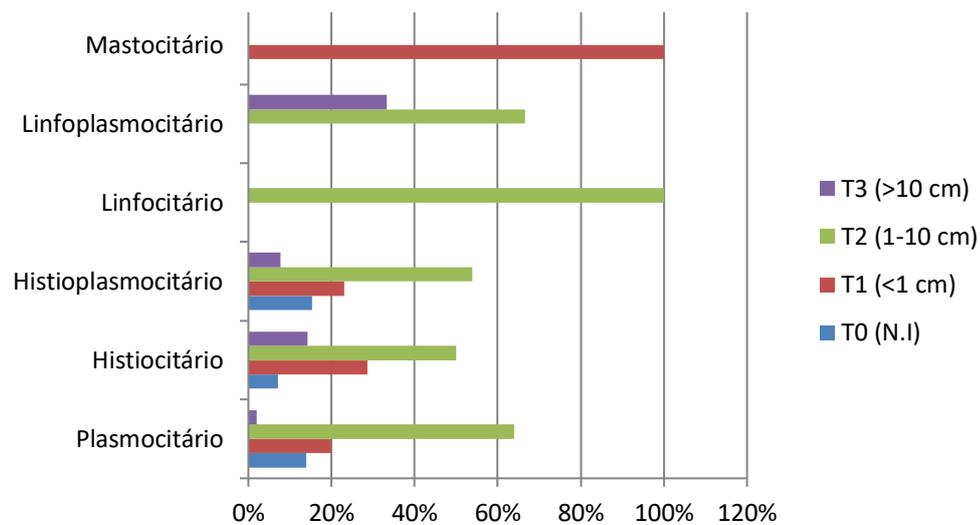
Em estudo com displasia prostática canina, observou-se uma interação entre o grau histológico e marcador imunohistoquímico, com oscilação na quantidade (intensidade) de células T e B em função da intensidade da displasia (CALDEIRA et al., 2010). De acordo com Estrela-Lima et al. (2010) em neoplasias mamárias, a

intensidade do infiltrado inflamatório influencia no estadiamento clínico e o prognóstico do paciente, o que Grivennikov et al. (2010) também afirmou dizendo que causa, mecanismo, resultado e intensidade, podem promover o desenvolvimento e a progressão do câncer. No entanto os resultados obtidos de intensidade mostraram que, a forma maligna desse tipo neoplásico apresenta intensidade mais acentuada, mas não podemos afirmar que a intensidade auxilia ou não a progressão tumoral.

Na correlação entre a intensidade e o tipo de infiltrado inflamatório, observamos que o infiltrado plasmocitário apresenta maior intensidade de forma moderada (II), seguido da forma discreta (I), já o histiocitário apresenta-se com maior frequência na forma discreta (I) seguida de moderada (II). O histioplasmocitário demonstra-se moderado (II) seguido de acentuado (III) e o linfocitário e linfoplasmocitário predominantemente a forma acentuada (III) seguida da discreta (I) e o mastocitário apenas moderado (II).

O tamanho tumoral em muitos tipos de neoplasias serve como fator de estadiamento, no entanto não está elucidado ainda nos hemangiomas e hemangiossarcomas e os dados do presente estudo foram baseados nas diretrizes de Flores et al. (2012). Observamos que os hemangiomas tiveram tamanho de T<sup>2</sup> (1 – 10 cm) ocorrendo em 52,94% dos animais e T<sup>1</sup> (< 1 cm) em 23,52% dos animais estudados. Já os HSAs também tiveram o T<sup>1</sup> e T<sup>2</sup> maiores, 66% e 20% respectivamente. Atualmente são reconhecidos como fatores de prognóstico nos tumores mamários malignos de cães o tamanho do tumor, estado do linfonodo, metástases distantes, tipo histológico, grau de malignidade histológica e grau de diferenciação celular (RUTTEMAN et al., 2001), mas em HA e HSA essa associação ainda não está bem elucidada. Estes resultados sugerem que com mais estudos sobre o tamanho tumoral, futuramente este poderá ser utilizado como fator de estadiamento clínico em neoplasmas de origem endotelial em cães.

Na análise de correlação do tipo de infiltrado tumoral com o tamanho tumoral, observamos que todos os tipos neoplásicos tiveram maior frequência no tamanho T<sup>2</sup> (1-10 cm), exceto o mastocitário que foi T<sup>1</sup> (<1 cm). Esse tipo de análise é escasso em literatura, principalmente em HA e HSA (Figura 3).

**FIGURA 4.** Tipo de infiltrado inflamatório correlacionado com o tamanho tumoral.

Fonte: A autora.

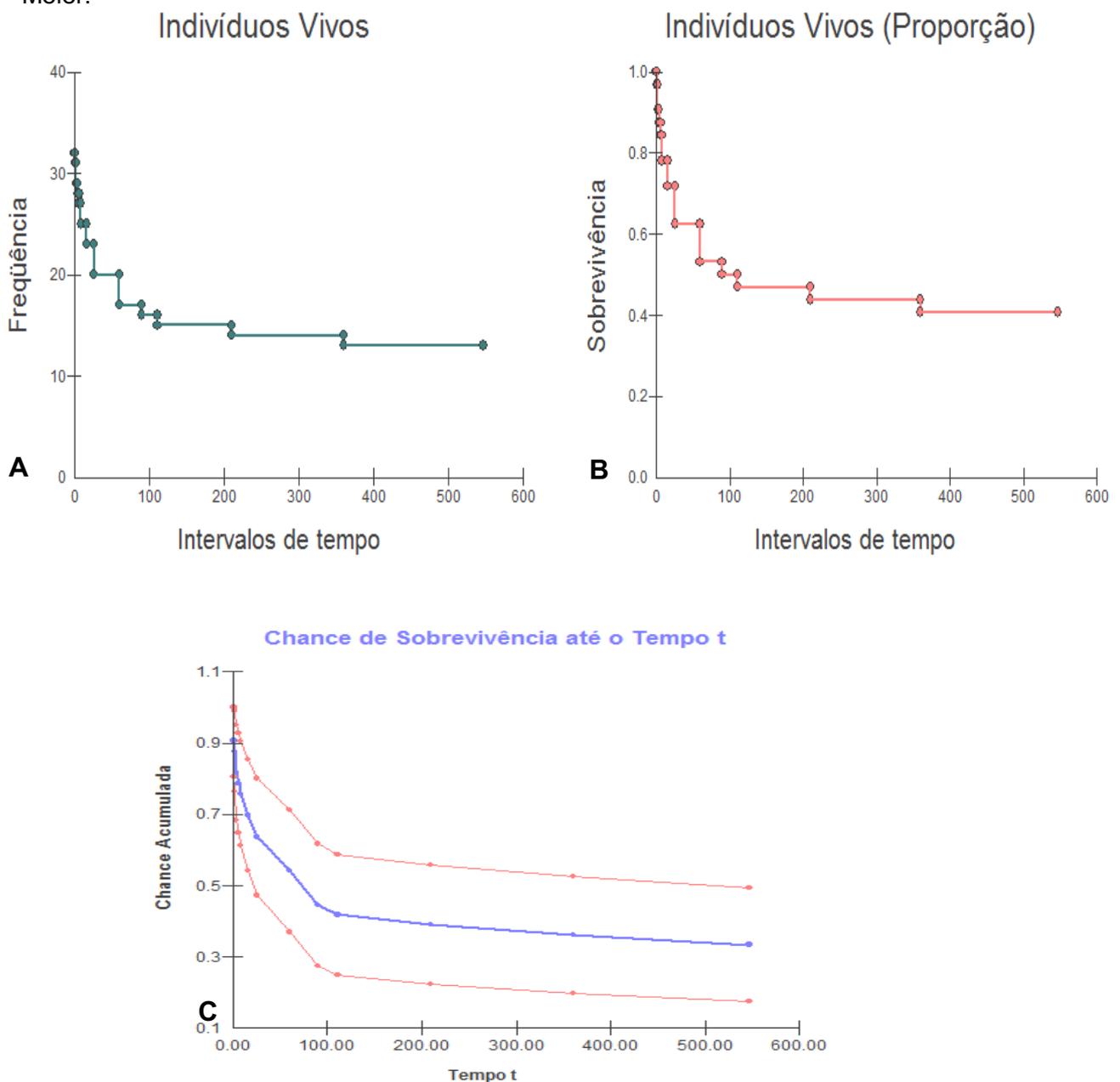
A recidiva das neoplasias ocorreu em 17,14 dos casos estudados, enquanto a não ocorrência de recidiva foi de 65,71%, e em 17,14% dos casos, os proprietários não souberam informar. A recidiva pode ter sido interferida por essa porcentagem que não obtivemos respostas, entretanto encontramos que nesses tipos neoplásicos as chances de não recidiva são maiores.

Em relação à análise de sobrevida observamos que variou de 1 a 547 dias e a média do tempo dos animais que vieram a óbito foi de 80,39 dias e houve um decréscimo de sobrevida com o tempo, e aproximadamente 50% dos animais morreram até os 60 dias após o diagnóstico (Figura 4).

De acordo com um estudo realizado em humanos, os fatores que tiveram relação adversa estatisticamente na sobrevida foram: presença de recidiva ( $p=0,03$ ) e tamanho tumoral maior que 13,5 cm ( $p=0,01$ ) (VALADÃO et al., 2006). No presente estudo a recidiva foi baixa e o tamanho tumoral observado de maior frequência foi de T<sup>2</sup> (1 – 10 cm) e obtivemos uma sobrevida relativamente alta em comparação com a neoplasia mamária, que segundo Conceição et al. (2017) a sobrevida das cadelas estudadas foi em média de 63,5 dias, concordando com Valadão et al. (2006), que recidiva e tamanho tumoral baixo, pode aumentar a sobrevida.

No entanto na análise estatística não encontramos diferenças em comparação do tamanho tumoral com a recidiva o p-valor foi de 0,13 ( $p > 0,05$ ), e também o tamanho tumoral e sobrevida o p-valor foi de 0,92 ( $p > 0,05$ ). A amostra da sobrevida e recidiva foi composta por apenas 35, fato este que pode ter influenciado nos dados estatísticos.

**FIGURA 5.** Curvas de sobrevida. **A)** intervalo do tempo correlacionando com a frequência de indivíduos vivos. **B)** proporção da sobrevivência correlacionando com o intervalo de tempo. **C)** a chance de sobrevivência até o tempo t (527 dias). Análise estatística de Kaplan Meier.



Fonte: A autora.

Na comparação da intensidade de infiltrado inflamatório tumoral com recidiva e sobrevida não encontramos correlação, pois o p-valor foi de 0,87 e 0,57 ( $p > 0,05$ ) respectivamente, e dessa forma não houve diferença estatística.

De acordo com Lage (2001) em tumores de língua e assoalho de boca em humanos, o processo inflamatório leve teve recidiva local em quatro pacientes (18,1%); nos processos inflamatórios moderados em três pacientes (13,6%), e nos casos intensos dois pacientes (40,0 %), ou seja, quando aumentou a intensidade inflamatória à recidiva diminuiu, mas no presente estudo a intensidade de maior frequência é a moderada que dessa forma deveríamos ter encontrado uma recidiva maior, porém na análise estatística de Lage (2001), não houve significância ( $p = 0,25$ ), indo de acordo com o resultado encontrado na presente pesquisa.

Para indivíduos com carcinoma epidermóide da cavidade oral, observou-se que também que a probabilidade de sobrevida em mais de 12 meses foi de 0,75 para indivíduos com o "processo inflamatório menor" e de 0,88 para indivíduos com "processo inflamatório maior", no entanto na comparação das curvas de sobrevida ambos os processos não apresentaram significância ( $p = 0,14$ ), concordando com o resultado do presente estudo. (AFFONSO et al., 2015).

Em análise para demonstrar se existia diferença entre os tipos de infiltrado inflamatório com a sobrevida e recidiva, o p-valor foi de 0,56 e 0,76 ( $p > 0,05$ ) respectivamente, demonstrando que não existe diferença estatística significativa. No entanto a presença dos linfócitos no tumor foi correlacionada com o tamanho tumoral, estágio do tumor e a principalmente sobrevida dos pacientes vários tipos de câncer em humanos, como os de cólon e reto, próstata e os carcinomas de estômago (SETALA et al., 1996; ROPPONEN et al., 1997).

## **5. CONCLUSÃO**

Conclui-se que o tipo e a intensidade do infiltrado inflamatório além do tamanho tumoral não interferiram significativamente na condição de sobrevida e

recidiva das neoplasias, com base nas amostras obtidas, que podem ter influenciados nos resultados estatísticos.

Concluimos ainda que nos HAs e HSAs o infiltrado inflamatório tumoral que predomina é o plasmocitário, diferindo dos outros tipos neoplásicos.

O infiltrado linfoplasmocitário só foi observado na forma visceral quando a classificação da neoplasia foi benigna. Enquanto o infiltrado inflamatório de mastócitos foi observado apenas na forma cutânea dos hemangiomas.

O infiltrado linfocitário ocorreu apenas em HSAs e com maior prevalência na forma visceral. A intensidade mais frequente foi a moderada e o tamanho do tumor de maior prevalência foi o T<sup>2</sup> (1-10 cm).

Nos animais deste estudo, foi observado que a ocorrência de hemangiomas e hemangiossarcomas cutâneos foi maior.

A ocorrência de hemangiomas foi maior na faixa etária de idosos, já os hemangiossarcomas não apresentaram diferenças significativas com relação a idade.

Em relação à pelagem, observou-se que os hemangiomas ocorreram com maior frequência em animais com coloração de pelames escuras, enquanto os hemangiossarcomas acometeram com maior frequência os animais de pelagem clara.

Com relação ao sexo, concluimos que o hemangiossarcoma acometeu mais fêmeas do que machos na população estudada.

## 6. REFERÊNCIAS

Affonso, V. R.; Montoro, J. R. M. C.; Freitas, L. C. C.; Saggiaro, F. P.; Souza, L.; Mamede, R. C. M. Peritumoral infiltrate in the prognosis of epidermoid carcinoma of the oral cavity. **Braz J Otorhinolaryngol.** 81:416-21, 2015.

Arranja, C. I. G. Estudo da resposta inflamatória em tumores mamários de cadela. **Dissertação de mestrado**, p. 1- 122, 2015.

Ávila, V. P. F; Esmeraldino, A. T; Witz, M. I. Aspectos clínicos e patológicos de hemangiossarcoma em cães: estudo de 62 casos. **Veterinária em Foco**, v.8, n.2, p.197-204, 2011.

Bergman, P.J. Cancer immunotherapy. **Topics in Companion Animal Medicine**, 24 (3), p. 130-136, 2009.

Berselli, M. Estudo da incidência, identificação e parâmetros prognósticos dos Hemangiomas e Hemangiossarcomas em animais de companhia. **Dissertação de mestrado**, p. 1 – 77, 2011.

Bertazzolo, W.; Dell’orco, M.; Bonfanti, U.; Ghisleni, G.; Caniatti, M.; Masserdotti, C.; Antoniazzi, E.; Crippa, L.; Roccabianca, P. Canine angiosarcoma: cytologic, histologic, and immunohistochemical correlations. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 1, 2005.

Caldeira, C. P.; Di Santis, G. W.; Balieiro, J. C. C.; Amorim, R. L.; Moura, V. M. B. D. Caracterização imunofenotípica e avaliação quantitativa do infiltrado linfocitário junto às áreas de displasia epitelial da próstata de cães adultos sexualmente intactos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.5, p.1148-1153, 2010.

Cavalcanti, M. F.; Cassali, G. D. Fatores prognósticos no diagnóstico clínico e histopatológico dos tumores de mama em cadelas – revisão. **Clínica Veterinária**, n.61, p.56-64, 2006.

Conceição, A. M. S.; Magnani, J.; Machado, M. C. A.; Ribeiro, L. G. R.; Estrela-Lima, A. Achados clínicos e sobrevida em cadelas portadoras de carcinoma inflamatório mamário. **Anais do 38º CBA**, p.0893, 2017.

Condeelis, J; Pollard, J. W. Macrophages: obligate 6. partners for tumour cell migration, invasion and metastasis. **Cell**; (124), p. 263-6, 2006.

Daltóe, R. D.; Paula, A. D.; Dasílio, K. L. A.; Madeira, K. P.; Silva, I. V.; Rangel, L. B. A. O papel paradoxal do sistema imune no câncer de ovário. *Arquivo Catarinense de Medicina*. V.39, n.2, 2010.

Dennis, M. M.; Mcsporrán, K. D.; Bacon, N. J.; Schulman, F. Y.; Foster, R. A.; AND Powers, B. E. Prognostic Factors for Cutaneous and Subcutaneous Soft Tissue Sarcomas **in Dogs Vet Pathol**, 2010.

Estrela-Lima, A.; Araújo, M. S. S.; Costa-Neto, J. M.; Teixeira-Carvalho, A.; Barrouin-Melo; S.,Cardoso, S.V.; Martins-Filho, O. A.; Serakides, R. & Cassali, G.D. Immunophenotypic features of tumor infiltrating lymphocytes from mammary carcinomas in female dogs associated with prognostic factors and survival rates. **BMC Cancer**, 10(256), p. 1-14, 2010.

Ferreira, E; Campos, M. R. A; Nakagaki, K. Y. R; Cassali, G. D. Marcadores Prognósticos e Preditivos no Câncer de Mama. **In: Patologia mamária canina do diagnóstico ao tratamento**, Medvet, (1th Ed.), 2017.

Flores, M. M.; Panziera, W.; Kommers, G. D.; Irigoyen, L. F.; Barros, C. S. L; e Figuera, R. A. Aspectos epidemiológicos e anatomopatológicos do hemangiossarcoma em cães: 40 casos (1965-2012). **Pesq. Vet. Bras.** 32(12), p. 1319-1328, 2012.

Giraldo, N. A.; E. Becht, et al. "The immune response in cancer: from immunology to pathology to immunotherapy." **Virchows Arch**; 467(2), p. 127-135, 2015.

Goldschmidt, M. H.; Hendrick, M. J. Tumors of the Skin and Soft Tissues. **In: MEUTEN, D. J. Tumors in domestic animals**. 4th ed. Ames: Iowa State Press, p. 45-118, 2002.

Grivennikov, S. I.; Greten, F. R.; Karin, M. Immunity, Inflammation, and Cancer. **Cell**, Elsevier BV, v. 140, n. 6, p.883-899, 2010.

Gross, T.L.; Ihrke, P.J.; Walder, E.J. A macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease. **Veterinary dermatopathology St. Louis: Mosby**; p.520, 1992.

Hargis, A. M.; Ihrke, P. J.; Spangler, W. L.; Stannard, A. A retrospective clinicopathologic study of 212 dogs with cutaneous hemangiomas and hemangiosarcomas. **Vet Pathol.** 29(4), p.316-28, 1992.

Hiromatsu, Y.; and Toda, S. Mast Cell and Angiogenesis. **Microsc. Res. Tech.** 60, p. 64–69, 2003.

Lage, H. T. Fatores prognósticos clínicos e anatomopatológicos em tumores de língua oral e assoalho de boca : análise de sobrevida e recidiva tumoral. **Dissertação de mestrado**, p. 1 – 121, 2001.

Macewen, E.G. Miscellaneous Tumors. In: WITHROW S. J.; MACEWEN E.G. **Small animal clinical oncology**, Philadelphia: WB Saunders; p. 639-646, 2001.

Machado, K. K; Katz, A.; Buyse, M.; Saad, E. D. Sobrevida Global e outros Desfechos Clínicos em Câncer de Mama: situação atual e controvérsias. **Rev Assoc Med Bras** , 56(5):514-16, 2010.

Magalhães, C. S.; Lima, W. C.; Lima, D. A. S. D.; Quessada, A. M.; Dornelles, D. E. M.; Costa Neto, J. M. Conhecimento de tutores de cães sobre tumor de mama em cadelas. **Acta veterinária brasílica**, v 10, n.2, p.186-189, 2016.

Mahapokai, W. et al. Immune response in hormonally induced prostatic hyperplasia in the dog. **Vet immunol Immunopathol**, v.78, p.297-303, 2001.

Manzano, A. C.; Altemani, A.; Martins, A. S.; Del Negro, A.; Tincani, A. J. Caracterização imuno-histoquímica do infiltrado linfocitário em biópsia de carcinoma espinocelular da língua e soalho oral e sua implicação prognóstica. **Rev Bras Cir Cabeça Pescoço.** 39:270-6, 2010.

Matkowski, R.; Gisterek, I.; Halon, A.; et al. The Prognostic Role of Tumor-infiltrating CD4 and CD8 T Lymphocytes in Breast Cancer. **Anticancer Research.** v. 29, p. 2445-2452, 2009.

Mcsporrán, K. D. Histologic Grade Predicts Recurrence for Marginally Excised Canine Subcutaneous Soft Tissue Sarcomas. **Vet Pathol**, 46:928–933, 2009.

Medeiros, J. M., Linhares, J. C., Hatschbach, S. B. B; Hubie, D. P; Rahman, S. A; Orlandi, D. et al. Epidemiological Profile and Study of Survival of Patients With Breast Câncer attended at Erasto Gaertner Hospital in Curitiba, PR. **Rev bras mastol**, 26(3):107-12, 2016.

Medleau, L.; Hnilica, K. A. Dermatologia de pequenos animais. **Atlas colorido e guia terapêutico**. São Paulo: Roca; 2003.

Meuten, J. D. Tumors in Domestic Animals. (5th Ed.). Ohn wiley & Sons inc; 27, p. 419-424, 2017.

Mittal, D.; Gubin, M. M.; Schreiber, R.D.; Smyth, M. J. New insights into cancer immunoediting and its three component phases – elimination, equilibrium and escape. **Current Opinion in Immunology**, 27, 16-25, 2014.

Morillon, R.; Legeay, Y.; Boussarie, D.; Sénécat, O. Manual Elsevier de Veterinária: Diagnóstico e tratamento de Cães, gatos e animais exóticos. 7ed. **Rio de Janeiro**: Elsevier, 2013.

Moroz, L. R; Schweigert, A. Hemangiossarcoma em cães. **Ars Veterinária**, 2, p. 50-55, 2007.

Morrison, W. B. Blood Vascular, Lymphatic, and Splenic Cancer. In: **MORRISON, W. B. Cancer in Dogs and Cats- Medical and Surgical Management**. 2ed. Jackson Hole: Teton New Media, 2002.

Morrison, W.B. Inflammation and cancer: a comparative view. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 26, p. 18-31, 2012.

Mukaratirwa; Chiwome, S. T.; Chitanga, S. and Bhebhe, E. Canine transmissible veneral tumor: Assessment of mast cell numbers as indicators of the growth phase. **Vet. Res. Comm.** 30, p. 613–621, 2006.

Nambiar, P. R.; Boutin, S. R.; Raja, R. AND Rosenberg D. W. Global Gene Expression Profiling: A Complement to Conventional Histopathologic Analysis of Neoplasia. **Vet Pathol** 42:735–752, 2005.

Nunes, F. C.; Campos, C. B.; e Bertagnolli, A. C. Aspectos Epidemiológicos das Neoplasias Mamárias Caninas. . In: **Patologia mamária canina do diagnóstico ao tratamento**, Medvet, (1th Ed.), 2017.

Penel, N.; Marréaud, S.; Robin, Y. M.; Hohenberger P. Angiosarcoma: State of the art and perspectives. **Crit Rev Oncol/Hematol**, 2010.

Prymak, C.; Mckee, L. J.; Goldschmidt, M. H. et al. Epidemiologic, clinical, pathologic, and prognostic characteristics of splenic hemangiosarcoma and splenic hematoma in dogs: 217 cases. **J. Am. Vet. Med. Assoc**, v.193, p.706-712, 1998.

Pulley, L. T.; Stannard, A. A. In: Tumors in domestic animals. Tumors of the skin and soft tissues. **University of California**: Berkeley; 3 ed, p.23-87, 1990.

Pyonteck, S. M.; Akkari, L.; Schuhmacher, A. J.; Bowman, R. L.; Sevenich, L.; Quail, D. F.; et al. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression. **Nat Med**;(19), p. 1264–72, 2013.

Ropponen, K. M.; Eskelinen, M. J.; Lipponen, P. K.; Alhava, E.; Kosma, V. M. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in colorectal cancer. **Journal of Pathology**, v. 182, p. 318-324, 1997.

Rutteman, G. R.; Withrow, S. J.; Macewen, E. G. Tumors of the mammary gland. In: **Small animal clinical oncology**. 3 ed. Philadephia: Saunders, p. 455- 467, 2001.

Sabattini, S; Bettini, G. An Immunohistochemical Analysis of Canine Haemangioma and Haemangiosarcoma. **J. Comp. Path**, V. 140, p. 158-168, 2009.

Santos, I. F. C.; Marujo, R. B. Hemangiossarcoma cutâneo canino com metástase esplênica – relato de caso. **Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária**; 2(4), p.198-202, 2012.

Schultheiss, P. C.; A retrospective study of visceral and nonvisceral hemangiosarcoma and hemangiomas in domestic animals. **J Vet Diagn Invest**, 16:522–526, 2004.

Setala, L. P.; Kosma, V. M.; Marin, S.; Lipponen, P. K.; Eskelinen, M. J.; Syrjänen, K. J.; Alhava, E. M. Prognostic factors in gastric cancer: the value of vascular invasion

mitotic rate and lymphoplasmacytic infiltration. **British Journal of Cancer**, v. 74, p. 766-772, 1996.

Sheu, B. C.; Kuo, W. H.; Chen, R. J.; et al. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in neoplastic progression and lymph node metastasis of human breast cancer. **The Breast**, v. 17, p. 604-610, 2008.

Silva, I. L. D. Expressão de qa-2 e sua relação com o infiltrado linfocítico e a diferenciação celular em dois modelos murinos de adenocarcinoma mamário. **Tese de doutorado**, p. 1 – 167, 2017.

Silveira, A. C. T. Caracterização do infiltrado inflamatório e avaliação dos marcadores de prognóstico ki-67, p53, receptor de estrogênio e progesterona no tumor mamário maligno de cadelas. **Tese de doutorado**, p. 1-113, 2009.

Smith, A. N. Hemangiosarcoma in dog and cats. **Vet Clin North Am: Small Anim Pract**; 33, p.534-547, 2003.

Soares, N. P.; Medeiros, A. A.; Szabó, M. P. J.; Guimarães, E. C.; Fernandes, L. G.; Santos, T. R. Hemangiomas e hemangiossarcomas em cães: estudo retrospectivo de 192 casos (2002-2014), **Ciência animal brasileira**, v.18, 2017.

Sorenmo, K.; Duda, L.; Barber, L.; Cronin, K.; Sammarco, C.; Osborne, A.; Goldschmidt, M. and Shofer, F. Canine hemangiosarcoma treated with standard chemotherapy and minocycline. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 14, p. 395-398, 2000.

Souza, T. M; Fighera, R. A; Irigoyen, L. F; Barros, C. S. L. Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. **Ciência Rural**, 36(2), p. 555-560, 2006.

Thamm, D. H. Miscellaneous tumors - Hemangiosarcoma. **Small animal clinical oncology**. Saunders: Philadelphia; 4ed p.785-795, 2007.

Timm, L. L. Técnicas rotineiras de preparação e análise de lâminas histológicas. **Caderno La Salle XI**, Canoas, v.2, nº 1, 231 - 239, 2005.

Vakkila, J.; Lotze, M. T. Inflammation and necrosis promote tumour growth. **Nat Rev Immunol**. V. 4, p. 641-648, 2004.

Valadão, M.; Lourenço, L. G.; Linhares, E.; Romano, S.; Kesley, R.; Siqueira, D. **Fatores Prognósticos Clínicos e Anatomopatológicos do GIST Gástrico**. v. 33, 5, 2006.

Vesely, M. D. and R. D. Schreiber. "Cancer immunoediting: antigens, mechanisms, and implications to cancer immunotherapy." **Ann N Y Acad Sci**, 1284, p. 1-5, 2013.

Withrow, S.J. Why Worry About Cancer in Pets. **In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. Small animal clinical oncology**, Philadelphia: WB Saunders, p. 1-3, 2001.