STÉFANIE VANESSA SANTOS

**Classificação morfológica, imunoistoquímica e
prognóstica dos hemangiopericitomas caninos**

São Paulo

2005

STÉFANIE VANESSA SANTOS

Classificação morfológica, imunoistoquímica e prognóstica dos hemangiopericitomas caninos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:
Patologia

Área de concentração:
Patologia Experimental e Comparada

Orientador:
Prof^a. Dr^a. Maria Lucia Zaidan Dagli

São Paulo
2005

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 1475 Santos, Stéfanie Vanessa
FMVZ Classificação morfológica, imunoistoquímica e prognóstica dos hemangiopericitomas caninos / Stéfanie Vanessa Santos. – São Paulo : S. V. Santos, 2005.
227 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, 2005.

Programa de Pós-graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Maria Lucia Zaidan Dagli.

1. Hemangiopericitoma. 2. Cães. 3. Schwanoma.
4. Prognóstico. 5. Imunoistoquímica. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Caracterização morfológica, imunoistoquímica e ultraestrutural dos hemangiopericitomas em animais da espécie canina. Diagnóstico diferencial com os neurofibromas e neurofibrossarcomas.", Protocolo nº 70/2002, sob a responsabilidade da Profª Drª Maria Lucia Zaidan Dagli, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum" pela referida Comissão.

(We certify that the Research "Morphological, immunohistochemical and ultrastructural characterization of canine haemangiopericytomas. Differential diagnosis with neurofibromas and neurofibrosarcomas" protocol number 70/2002, under the responsibility of Profª Drª Maria Lucia Zaidan Dagli, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum" meeting.)

São Paulo, 05 de abril de 2002

Profª Drª Julia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: SANTOS, Stéfanie

Título: Classificação morfológica, imunoistoquímica e prognóstica dos hemangiopericitomas caninos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

*Dedico com todo amor,
carinho e reconhecimento:*

*À “minha estrela guia” avó-mã Soledade pela confiança oferecida, apoio,
dedicação, carinho e amor sempre presentes em minha vida, a qual sem sua
presença explícita e ativa não poderia, não conseguiria e não almejaria,
tentar simplesmente viver!*

As minhas mães SEL E SAN,

Ao meu pai BÃ e Tabajara

por tudo que tento ser e alcançar...

Em se tratando de fidelidade, devoção, amor, muitos homens estão aquém do cão ou do cavalo. Que maravilhoso seria se pudessem ao menos antes do julgamento final, afirmar: 'Eu tenho amado tão verdadeiramente ou sido tão decente quanto o meu cão.'

E ainda assim os chamam de 'apenas animais!' "

Henry Ward Beecher

Aos ANIMAIS, seres de luz

que me instigam a lutar, aprender e vencer sempre...

Por sermos enormemente mais poderosos do que as demais espécies, é preciso que tenhamos alguma responsabilidade para com elas, num esforço por minorar de alguma maneira essa assimetria".

SIDARTA GATAUMA

Aos cães e proprietários que tornaram acessíveis os Resultados aqui apresentados.

*"... Desconfie do destino e acredite em você. Gaste mais horas realizando que sonhando, fazendo que planejando, vivendo que esperando porque, embora quem quase morre esteja vivo, quem quase vive já morreu".
(Luiz Fernando Veríssimo)*

A minha orientadora Maria Lucia Zaidam Dagli por me garantir a oportunidade de desfrutar de seus ensinamentos e companhia, refletindo sempre a persistência em percorrer um caminho sempre sensato, disciplinado e aplicado ao engrandecimento da oncologia veterinária.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Idécio L. Sinhorini, do Departamento de Patologia da FMVZ-USP, pelo seu respeito, incentivo e dicas sempre disponíveis que influenciaram de forma positiva minha formação como pós graduanda.

Ao Prof. Dr. José Luis Guerra, do Departamento de Patologia da FMVZ-USP, pelo convívio, incentivo e sugestões oportunas oferecidas durante toda minha conclusão de mestrado.

Ao Prof. Alexandre Hataka, do Departamento de Patologia Da FMVZ-UNIMAR, Prof. Dr. Danísio do Departamento de Genética da FMVZ-UNESP/Jaboticabal, e Profa. Neide Mariko Tanaka do Departamento de Cirurgia da Universidade de Tuiuti Paraná, pelo aprendizado contínuo e incentivo durante toda a graduação e formação profissional, além do carinho e amizade sincera sempre disponíveis.

À Profa. Júlia Matera do Departamento de Cirurgia da Universidade de São Paulo/USP/HOVET pelo apoio na liberação de prontuários clínicos e seus pacientes, atenção e gentileza.

Ao pós graduando Genilson pelo oferecimento de dados importantes para conclusão do trabalho, atenção e companheirismo.

Às amigas pacientes, presentes e atenciosas Tereza e Patrícia Matsuzaki pelo contribuição determinante e fundamental na realização deste trabalho.

Aos médicos veterinários Kátia, Luciana, Daniel, Emerson, Marcelo e Ana pela contribuição no levantamento de casos aqui relatados.

Aos amigos Kátia Kimura, Daniel Sanches, Luciana Torres, Eduardo Lipparelli, André Soares, André A., Albert, Bárbara, Aralina, Rômulo Lot, Stéfano Farias e Sandra Bassani pelos momentos de lazer, alegrias e palavras de incentivos sempre presentes.

A amiga Fabiana Xavier pela amizade sincera, apoio emocional, e experiência acadêmica sempre disponível através de dicas e sugestões oportunas.

À técnica Ivone Fonseca do Laboratório de Oncologia Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária-USP/2003, pelo auxílio na realização de técnicas laboratoriais, empenho, amizade e capricho.

Aos amigos e médicos veterinários Íris, Roberto, Satiko, Antônio Carlos, Sônia, Alice pela experiência profissional e incentivo sempre oferecidas

A Maurício Marques por me encaminhar na área de pesquisa e auxílio durante todo período de inserção na pós-graduação.

A Júlio César W. Martins pelo apoio emocional e ajuda fundamental na realização, organização e elaboração deste projeto.

Ao querido Rodrigo A.B.Freire pela dedicação e colaboração profissional fundamental para a conclusão deste trabalho. Através de seu convívio me trouxe equilíbrio, paz, conforto, carinho, permitindo que meus dias se tornassem inesquecíveis e alegres.

Aos colegas de laboratório José, Heidge, Silvia, Márcia, pela atenção, convívio e/ou sugestões na realização deste trabalho.

À Cynthia, pela atenção dedicada ao laboratório.

À Dona Rô pelo carinho, apoio e prestatividade.

A Marguiti, Raymundo e Edson pelo companheirismo e auxílio.

À Sílvia, da Secretaria de pós-graduação do Departamento de Patologia da FMVZ-USP, pela extrema gentileza e atenção oferecida a todos.

À Helena e Ana, funcionárias da biblioteca desta faculdade, pela competência e cordialidade que sempre dispensaram às nossas requisições.

Ao Luciano e Cláudio, funcionários do Laboratório de Histologia do Departamento de Patologia da FMVZ-USP, pela confecção das lâminas histológicas.

Ao patrocínio concedido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

RESUMO

SANTOS, S.V. **Classificação morfológica, imunoistoquímica e prognóstica dos hemangiopericitomas caninos.** [Morphologic spectrum, immunohistochemical characterization and prognosis of the canine haemangiopericytoma (CHP)]. 2005. 227 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Hemangiopericitomas (CHP) assim como schwannomas são neoplasias cutâneas de origem mesenquimal, sendo os hemangiopericitomas freqüentemente relatados em cães, ao contrário dos neurofibromas que são mais raros nos mesmos. Relata-se que o CHP origina-se de pericitos, ou células que se localizam ao redor de vasos sanguíneos. São observadas mais freqüentemente nos membros, como massas, bem circunscritas, firmes e grandes. Os hemangiopericitomas têm características histológicas comuns aos schwannomas (neurofibromas), sugerindo uma possível semelhante histogênese. Na realidade, na experiência deste Serviço de Anatomia Patológica, o diagnóstico diferencial entre hemangiopericitomas e neurofibromas apenas com base na morfologia é bastante difícil. O aspecto histopatológico do hemangiopericitoma e schwanoma correspondem à presença de agrupamentos celulares na forma de espiral pericapilar ou não respectivamente. Na tentativa de melhor caracterizar os hemangiopericitomas e distinguí-los de outros tumores mesenquimais, principalmente dos neurofibromas, propõe-se a caracterização histológica, epidemiológica e imunoistoquímica, dos hemangiopericitomas em animais da espécie canina.

Com este, espera-se refinar o diagnóstico diferencial destes tumores, por tratar-se de neoplasias pouco e mal diagnosticadas devido à dificuldade de caracterizá-las morfológicamente. Procura-se estudar também, a proliferação celular nos três subtipos histológicos dos CHP e contagem dos critérios morfológicos de malignidade, correlacionando com o prognóstico clínico. Para isto, o presente estudo propôs realizar um levantamento criterioso dos casos de hemangiopericitomas e neurofibromas e/ou neurofibrossarcomas em cães nos Arquivos do Serviço de Necropsia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) durante o período de 1990 a 2003, reclassificando histologicamente estas neoplasias e graduando os subtipos dos CHP. Os resultados apontaram um total de 77 casos de CHP dos quais o subtipo perivascular correspondeu (35/77casos); o estoriforme (20/77) e o epitelióide (22/77).As conclusões da imunoistoquímica para tipo perivascular (HPV) revelam positividade de 100% para F8; 60% para S100; 100% para vimentina; 7% para GFAP e 0% para CD34 e citoqueratina. O tipo estoriforme (HES) revelou 70% de positividade para F8; 50% para S100; 100% para vimentina; 0% para citoqueratina e GFAP; 10% para CD34. Destaca-se para o epitelióide (HEP) 70% de positividade para o F8; 40 % para o S100; 90% para vimentina; 0% para citoqueratina; GFAP e CD34. A contagem estatística dos critérios de malignidade como PCNA (CL3); índice mitótico (CL1); índice apoptótico (CL4); células multinucleadas (CL0) revelaram nos subseqüentes (HPV, HE, HEP) subtipos de CHP, respectivamente: CL0 (6.135±4.038; 5.067±3.019; 11.217±5.729); CL1 (6.155±2.380; 7.545±1.941; 12.540±8.629); CL3 (30.042±10.824; 39.1.22±11.158; 41.945±9.705); CL4 (1.153±1.1443;

1.888±1.988; 2.400±1.648). O prognóstico clínico revelou 59% de taxa de recidiva para o tipo epitelióide. Assim, o presente estudo mostrou que os hemangiopericitomas devem ser graduados histologicamente por três subtipos dos quais o epitelióide parece ser o mais agressivo e o perivascular o mais incidente (45,5%) (35/77 casos) e que a imunoistoquímica pode ter papel importante na diferenciação entre os hemangiopericitomas e neurofibromas, devido à positividade e negatividade do Fator 8 respectivamente; no entanto não auxilia para distinção entre os subtipos dos CHP. Contudo o estabelecimento de critérios para diferenciar, graduar e caracterizar os CHP poderão ter implicações epidemiológicas, terapêuticas e prognósticas importantes como mostra o presente estudo.

Palavras-chave: Hemangiopericitoma. Cães. Pericito. Schwanoma. Célula de Schwann. Neurofibroma. PCNA. Prognóstico. Imunoistoquímica. Morfologia. Mitose. Apoptose. Graduação histológica.

ABSTRACT

SANTOS, S.V. **Morphologic spectrum, immunohistochemical characterization and prognosis of the canine haemangiopericytoma CHP** [Classificação morfológica, imunoistoquímica e prognóstica dos hemangiopericitomas caninos CHP]. 2005. 227 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Haemangiopericytomas CHP like Schwannomas are cutaneous neoplasms of mesenchymal origin, frequently appearing in dogs, unlike neurofibromas, which are rare on the species. There are cases reported that CHP originates from pericytes, or cells located around blood vessels. They are observed more in limbs such as tissues, they are well defined, big and firm. Haemangiopericytomas have histologic characteristics common to schwannomas (neurofibromas), suggesting a possible similarity in histogenesis. In fact, at this service of Animal Pathology experience, the distinguishing final diagnosis between Haemangiopericytomas and neurofibromas, based only on morphology offers great difficulty. The hispathological aspects of the haemangiopericytons and of the schwannomas correspond to the presence or not (respectively) of spiral pericilar shape cell forms. Attempting to better identify and distinguish the haemangiopericytons from other mesenquimal tumors, mainly neurofiberns, the study indicates the histological, epidemiological and immunohistochemical characterization of Haemangiopericytomas in canine species. With this, it is expected to refine the

distinguishing diagnosis of such tumors, for they are known to be neoplasms rarely and wrongly diagnosed due to difficulties to identify them morphologically. The work also studies cell proliferation at the three histological subtypes of CHP and the count for morphological malignity, correlating with the clinic prospect. In order to accomplish it, the work proposes a thoroughly case study of Haemangiopericytomas and neurofibromas and/or neurofibrosarcomas in dogs; investigating on the archives of the Necrology Department of Pathology at the Veterinary Medical and Zoology at São Paulo University; from 1990 to 2003, to reclassify histologically these neoplasms and scale the subtypes of CHP. The results indicated a sum of 77 cases of CHP from which the subtype perivascular accounted for (35/77) cases; the storiform (20/77) and the epithelioid (22/77). The conclusions of immunohistochemical to perivascular type (HPV) reveal positiveness of 100% to F8; 60% to S100; 100% to vimentin; 7% to GFAP and 0% to CD34 and cytokeratin. The type estoriform (HES) revealed 70% positiveness to F8; 50% to S100; 100% to vimentin; 0% to cytokeratin and GFAP; 10% to CD34. Note that to epithelioid (HEP) 70% positiveness to F8; 40% to S100; 90% to vimentin; 0% to cytokeratin; GFAP and CD34. Statistical count of malignity criteria such as PCNA (CL3); mitotic level (CL1); apoptotic level (CL4); multinucleous cells (CLO) reveal on subsequent (HPV, HE, HEP) subtypes of CHP, respectively: CLO (6.135 (6.135±4.038; 5.067±3.019; 11.217±5.729); CL1 (6.155±2.380; 7.545±1.941; 12.540±8.629); CL3 (30.042±10.824; 39.122±11.158; 41.945±9.705); CL4 (1.153±1.1443; 1.888±1.988; 2.400±1.648). The clinical prognostic revealed 59% receding rate to epithelioid. Therefore the study showed that Haemangiopericytomas must be histologically scaled by three subtypes of which the epithelioid appears to be

the most AGGRESSIVE =INVASIVE) and perivascular the most incidental (45,5%) (35/77cases); immunohistochemical may have an important role on distinguishing between Haemangiopericytomas and neurofibrossarcomas due to positiveness and negativeness of Factor 8 respectively; notwithstanding it does not aid to distinguish between subtypes from CHP. Nevertheless, a criteria definition that enables to distinguish, scale and define CHP may have relevant epidemiologic, therapeutical and prognostical connotations as shown by the present study.

Keywords: Haemangiopericytomas. Dogs. Pericytes. Schwanoma. Schwanoma cell. Neurofibroma. PCNA. Prognostic. Immohistochemical. Morphology. Mythosis. Apoptosis. Histological Scale.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 Histórico dos sarcomas humanos	24
2.1.1 Considerações Clínicas.....	26
2.1.2 Etiologia e Anatomia Patológica	28
2.1.3 Diagnóstico, Estadiamento e Fatores Prognósticos.....	31
2.1.4 Tratamento.....	34
2.1.5 Avaliação dos Critérios de Malignidade nos Sarcomas de Partes Moles.....	36
2.1.6 Epidemiologia dos sarcomas.....	42
2.2 Neoplasias Cutâneas na Medicina Veterinária	46
2.2.1 Tumores em Pele e de Parte mole em Cães.....	51
2.3 Hemangiopericitoma canino (aspectos clínicos e diagnóstico diferencial).....	54
2.4 Schwanoma.....	68
2.5 Controvérsias de nomenclatura	74
2.6 Pericitos	75
2.7 Células de Schwann.....	78
2.8 Imunoistoquímica (generalidades)	82
2.8.1 Principais indicações da imunoistoquímica.....	84
2.8.2 A relação custo-benefício da imunoistoquímica no conjunto de ações de avaliação diagnóstica e prognóstica	86
2.8.3 Garantia de qualidade em imunoistoquímica	88
2.8.4 Tumores em partes moles - abordagem imunoistoquímica	93
2.8.5 Neoplasias malignas de pequenas células	96
2.8.6 Tumores de células fusiformes	102
2.9 Marcadores de proliferação celular	105
2.10 Fatores prognósticos	110
3 OBJETIVOS	119
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	122
4.1 Estudo histopatológico hemangiopericitomas e schwanomas em cães	122

4.2 Estudos retrospectivo-sistemático dos casos de hemangiopericitomas, neurofibromas e neurosarcomas em cães.....	124
4.3 Imunoistoquímica	124
4.4 Estudo da proliferação celular.	131
4.5 Quantificação da proliferação celular.....	133
4.6 Análise Estatística	133
5 RESULTADOS	134
5.1 Classificação histopatológica dos CHP	134
5.2 Casuística e epidemiologia dos três subtipos de CHP (HPV,HES, HEP) respectivamente	135
Gráfico 18 - Distribuição Macroscópica (tamanho) do HEP5.3 Casuística e epidemiologia dos sarcomas inconclusivos	143
5.3 Casuística e epidemiologia dos sarcomas inconclusivos.....	144
5.4 Análise do painel imunoistoquímico nos sarcomas inconclusivos, HPV, HES, HEP, neurofibromas e neurofibrossarcoma.....	147
5.4.1 Análise do imunomarcção em cada subtipo histopatológico do CHP:.....	150
5.4.2 Casuística prognóstica	151
5.4.3 Casuística terapêutica instituída em cada subtipo dos CHP devidamente descritos na (Tabela 6), (Tabela 7), (Tabela 8) respectivamente:	153
5.4.4 Casuísticas das neoplasias associadas com cada subtipo dos CHP respectivamente (Tabela 8), (Tabela 9), (Tabela 10).....	155
5.4.5 Resultados da avaliação dos critérios de malignidade considerados nos três subtipos de CHP (PCNA,celularidade, mitose e apoptose).....	157
5.5 Análise estatística	161
5.6 Resultados das entrevistas dos proprietários referentes aos prognósticos.....	163
6 DISCUSSÃO	166
7 CONCLUSÃO.....	171
REFERÊNCIAS.....	173
APÊNDICE.....	198

1 INTRODUÇÃO

Um largo grupo de tumores cutâneos e de tecido moles subjacentes com histotipo comum (aspecto histológico comum) de formações concêntricas celulares (spindle cell), representam um desafio na classificação por duas razões:- a primeira, é que o limite da microscopia de luz não permite a separação destes tumores, dentro de subtipos que exatamente reflitam o tecido de origem; - a segunda, e fundamental é que a maioria destes tumores surgiu provavelmente de um grupo de células mesenquimais pluripotentes (stem cells) e, portanto capazes de se diferenciarem em diferentes direções, tendo uma origem celular (histogenesis) comum. É neste grupo que se deve considerar os hemangiopericitomas, neurofibromas e neurofibrossarcomas (BOSTOCK; DYE, 1980; GROSS; IHRKE; WALDER, 1992; MAZZEI et al, 2002).

Os hemangiopericitomas são neoplasmas subcutâneos relativamente comuns em cães. Clinicamente, são massas solitárias, multilobulares, bem circunscritas, de consistência firme ou gordurosa, com tamanho variando entre 5 a 10 cm e ocorrem mais freqüentemente nos membros (especialmente no joelho e cotovelo). Seu aspecto histopatológico consiste da proliferação de células alongadas ou poligonais, que caracteristicamente se arranjam em feixes ou originam formações concêntricas em proporções variadas. Muitas dessas formações concêntricas possuem um pequeno capilar no centro (GROSS; IHRKE; WALDER, 1992; MAZZEI et al.; 2002).

A causa dos hemangiopericitomas é desconhecida; um estudo citogenético relata-se a trissomia 2 (três cópias do cromossomo 2) em três casos de hemangiopericitoma canino (MAYR et al., 1992).

Dados epidemiológicos referentes ao hemangiopericitoma são encontrados na literatura internacional, mas não em nosso meio. Os hemangiopericitomas ocorrem em cães com média de 7 a 10 anos de idade, destacando-se como raças pré-disponentes o Boxer, Pastor Alemão, Cocker Spaniel, Setter Irlandês, Fox Terrier, Collie e Beagle, não havendo predileção sexual. Como características semiológicas tem-se a alopecia, hiperpigmentação e ulceração (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1995; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1995).

Relata-se que os hemangiopericitomas originam-se de pericitos, ou células que se localizam ao redor de vasos sanguíneos. Os pericitos são células de origem mesodérmica (ETCHEVERS et al., 2001) com capacidade contrátil, o que lhes confere a função de controlar o fluxo sanguíneo capilar. Pericitos presentes nas meninges são originários das cristas neurais (ETCHEVERS et al., 2001), enquanto que os presentes em outras localizações dentro do organismo são de origem mesodérmica. Relata-se que essas células expressam actina de musculatura lisa do tipo alfa, que pode ser marcada por imunoistoquímica. (BANDOPADHYAY et al., 2001).

Em relação a seu comportamento clínico, Gross, Ihrke e Walder (1992), classificam os hemangiopericitoma como um neoplasma de baixo grau de malignidade; esse tumor recidiva freqüentemente após a excisão cirúrgica, e a capacidade de invasão aumenta após cirurgias sucessivas.

Hendrick et al. (1998), afirmam que o hemangiopericitoma é um neoplasma maligno que ocorre exclusivamente em cães, e cuja histogênese é ainda

incerta. Os hemangiopericitomas têm características histológicas comuns com os tumores da bainha nervosa periférica, ou os neurofibromas, sugerindo uma possível origem neural desses tumores. Na realidade, na experiência deste Serviço de Anatomia Patológica, o diagnóstico diferencial entre hemangiopericitomas e os neurofibromas ou neurofibrossarcomas apenas com base na morfologia é bastante difícil.

Os neurofibromas (também denominados schwannomas, neurilenoma, neurinoma, fibroblastoma perineural ou tumores de bainha nervosa) são neoplasias cutâneas originárias das células de Schwann dérmicas ou subcutâneas (bainha nervosa), sendo a etiologia desconhecida (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996). Na literatura internacional, relata-se que os neurofibromas ocorrem em cães mais velhos, sem predileção por sexo, existindo predileção racial em cães como Fox terrier. Esses tumores são geralmente solitários, ocorrendo mais comumente nos membros, na cabeça e na cauda, nos cães. Os neurofibromas são firmes, bem ou mal circunscritos, freqüentemente lobulados, de tamanho variável e de localização dérmica (em gatos) e subcutâneos (especialmente em cães). Freqüentemente são alopecicos, sendo algumas lesões dolorosas e pruriginosas podendo ser complicadas por dermatite por lambedura; raramente são multinodulares, podendo haver envolvimento nervoso com ou sem déficit neurológico (GROSS; IHRKE; WALDER, 1992; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996; STOICA; TASCA; KIM, 2001).

Os neurofibrossarcomas são neoplasmas raros da derme e subcutâneo de cães, sendo provavelmente menos diagnosticados devido a sua semelhança

com o hemangiopericitoma e o fibrossarcoma (GROSS; IHRKE; WALDER, 1992; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996; STOICA; TASCA; KIM, 2001).

Macroscopicamente consistem de massas solitárias lobuladas, pouco delimitadas, de consistência variável. Histologicamente são caracterizados por feixes concêntricos de células alongadas, onduladas, ocasionalmente apresentando paliçadas. Em contraste com o hemangiopericitoma, no neurofibrossarcoma os feixes concêntricos são principalmente observados ao redor de feixes colagênicos do que ao redor de capilares (BOSTOCK; DYE, 1980).

Segundo Hendrick et al. (1998), há dificuldade em se definir se os hemangiopericitomas e os neurofibrossarcomas têm origem histogenética diferente, ou se representam diferentes variantes do mesmo neoplasma.

Existem variações entre os critérios histológicos utilizados entre os patologistas para determinar o diagnóstico diferencial entre os tumores cutâneos “spindle cells” e quando usados, tais critérios são bastante subjetivos (BOSTOCK; DYE, 1980).

Tentativas de distinguir os hemangiopericitomas dos neurofibromas ou neurofibrossarcomas foram feitas por vários autores. Gross, Ihrke e Walder, (1992), verificaram que os hemangiopericitomas são neoplasmas multilobulares não encapsulados, referindo que a presença de cápsula é mais consistentemente relacionada ao neurofibroma.

Na tentativa de melhor caracterizar os hemangiopericitomas e distinguí-los de outros tumores mesenquimais compostos por células alongadas, principalmente dos neurofibromas, Perez et al. (1996), utilizaram marcações por imunoistoquímica. A maior parte dos hemangiopericitomas revelou-se

positivos para vimentina; alguns hemangiopericitomas revelaram-se positivos para a proteína S-100, lisozima e actina muscular. Esses resultados suportam a hipótese de uma origem pericítica dos hemangiopericitomas e sugerem que a actina muscular, desmina, vimentina e proteína S-100 poderiam ser úteis no diagnóstico diferencial de tumores em feixes concêntricos em cães. Porém os autores comentam que nem todos os neoplasmas desse tipo histológico podem ser caracterizados utilizando-se apenas esses marcadores.

Gross, Ihrke e Walder, (1992), sugerem o uso de anticorpos anti-enolase neurônio específica e proteínas de neurofilamentos para distinguir os neurofibrossarcomas pouco diferenciados de outros tumores mesenquimais malignos. Através também da utilização de marcações por imunoistoquímica os neurofibromas revelaram-se positivos para proteína S-100 (SCOTT, 1996).

O uso dos marcadores de imunoistoquímica confirmam uma linhagem vascular dos hemangiopericitomas e auxiliam na exclusão de outros tumores mesenquimais (MAZZEI et al., 2002).

Martin et al. (1999) estudaram a proliferação celular (contagem de figuras de mitose) em diversos neoplasmas cutâneos em cães e determinaram que os neurofibromas apresentam elevado índice apoptótico (morte celular programada) e baixa porcentagem de contagem mitótica, enquanto os hemangiopericitomas têm maior expressão apoptótica e menor expressão mitótica. Esta classificação de tumores de acordo com o grau de apoptose e mitose reflete no comportamento clínico de alguns tipos de tumor, com a conseqüente implicação terapêutica e prognóstica.

Recente estudo dos CHP revelou o subtipo perivascular como o mais incidente (6 4.5%) seguido do estoriforme (25.8%) e epitelióide (9.7%), sendo

este último o mais agressivo a partir de avaliação clínica (metástase e taxa de recidiva) (MAZZEI, 2002).

Estudos em microscopia eletrônica de transmissão também foram realizados na tentativa de definir o padrão ultra-estrutural dos hemangiopericitomas Madewell, Griffey e Munn (1992) e Xu (1986), e este método pode ser útil na diferenciação dos hemangiopericitomas e neurofibromas ou neurofibrossarcomas.

O diagnóstico diferencial entre os hemangiopericitomas e os neurofibromas ou neurofibrossarcomas, bem como a determinação do grau de malignidade entre os subtipos de CHP, faz-se imprescindível para o estabelecimento de um diagnóstico preciso da origem dos tumores mesenquimais, mesmo porque estes podem apresentar comportamentos distintos, refletindo diretamente no sucesso do tratamento, seja com a cirurgia excisional e/ou a associação entre a quimioterapia e radioterapia, bem como no estabelecimento de um específico e seguro prognóstico clínico (RICHARDS, 2001; RICHARDSON, 1985).

2 REVISÃO DE LITERATURA

Seguem dados de revisão de literatura referente ao histórico dos sarcomas e seu parâmetro na medicina humana; hemangiopericitomas e schwannomas caninos; pericito e célula de schwann; epidemiologia, imunoistoquímica; critérios de malignidade.

2.1 Histórico dos sarcomas humanos

O termo sarcoma, muito antigo, deriva do grego, *sarc-* carnosos e *oma-* tumor referindo-se a uma tumoração macia e interna. As descrições dos sarcomas e cânceres, com sua característica de crescimento invasivo, nos levam ao antigo Egito quando foi escrito o "Papiro de Smith", basicamente um tratado cirúrgico datado de 3000 a.C., o qual contém referência a essa doença ABBAS, HOLYOKE, MOORE, KARAKOUSIS. The surgical treatment of soft-tissue sarcoma. (ALLEN; PRASSE, 1986; ALVERARAGARD; BERG, 1990; AMERICANJOINT et al., 1978)

Segundo Dugeon e Patrick (1927) Galen (131-203 DC) descreveu muitos tumores, poucos, porém acrescentando à sua compreensão. Escreveu sobre os sarcomas pensando tratar-se de uma doença sistêmica, além de cura com qualquer procedimento cirúrgico, devido o edema local, persistindo esta tese até século XVIII. Com o surgimento do microscópio acromático em Paris, no

ano de 1824, pequenas seções teciduais puderam ser estudadas permitindo avanços significativos na área. Estudos desse autor, identificaram os tumores como sendo resultado de uma alteração nos tecidos dos quais eles surgiam, o que foi um grande impulso na classificação e estudo dos sarcomas.

Engzell et al. (1971) descreveu e classificou os principais tipos de sarcomas, baseados na sua estrutura microscópica. O tratamento então era exclusivamente cirúrgico, com ressecções locais, limitadas pelos recursos da época. Com melhora da classificação sua subdivisão passou a ser feita de acordo com o padrão de diferenciação histológica e presumivelmente com seu tecido de origem. Aumentou o reconhecimento de que apenas a excisão local dos sarcomas era inadequada.

Chegado o final do século XIX, tem início a ciência das radiações com a descoberta dos raios x pelo físico alemão Wilhemm Konrad Röntgen no ano de 1895, seguindo-se pela observação da radioatividade natural por Henri Becquerel em 1896 e pela descoberta de fontes naturais emissoras de radiação, com o rádio e o polônio por Pierre e Marie em 1898 (ENNELING; SAPARRIER; MALAWER, 1981; RUSSEL et al.; 1977).

Apenas cinco anos após a descoberta do rádio, se tem a primeira braquiterapia, na qual o material radiativo era colocado diretamente em contato com os tecidos tumorais, realizada com sucesso em São Petersburgo, em 1903, desse modo então os sarcomas são estudados desde então até os dias de hoje com base na terapêutica ineficaz e difícil (ENZINGER; WEISS, 1995; HADJU, 1979).

2.1.1 Considerações Clínicas

Sarcomas de partes moles (SPM) é a denominação dada ao conjunto de tumores sólidos, com características anatômicas e morfológicas diversas, com origem no tecido mesenquimal de suporte, que consiste de estruturas musculares, gordura, vasos sanguíneos, tecidos fibrosos e outros com função de sustentação. Sua subdivisão é feita de acordo com o seu padrão de diferenciação e presumivelmente com seu tecido de origem, podendo surgir de qualquer parte do organismo (GEER; WOODRUFF, 1992; HADJU, 1979).

Gorman (1996) refere que os SPM são neoplasias relativamente raras, com incidência de cerca de 6400 novos casos diagnosticados por ano nos Estados Unidos da América, segundo dados do Registro Nacional de Câncer da América do Norte, correspondendo cerca de 1% do total de neoplasias, resultando em cerca de 3400 mortes por ano. No Brasil o Ministério de Saúde e Instituto Nacional do Câncer não tem dados específicos para doença, porém, em 1997 a incidência ajustada através de dados coletados em Goiânia-GO, Belém-PA e Porto Alegre - RS foi de 2.8 casos por 100.000 habitantes. Para o município de São Paulo, no período de 1969 e 1978, o coeficiente de incidência padronizado esteve por volta de 1.7 por 100.000 habitantes.

A incidência dos SPM é provavelmente subestimada, pois os sarcomas originados em órgãos parenquimatosos são em geral atribuídos ao órgão de origem ao invés dos tecidos de sustentação (MIETTINEN; VIRTANEN, 1984).

Muitos estudos têm sido realizados para estabelecer o tratamento ideal dos diversos tipos e sítios de origem dos sarcomas de partes moles (SPM). Em todos os pacientes, com exceção daqueles dos quais a doença metastática

coexiste, a excisão local do tumor é desejável, sendo que a excisão simples leva à recorrência e a ressecção extremamente radical de todos os músculos de um determinado compartimento anatômico, desde sua origem até a inserção, tem menor índice de recorrência, porém com grande impacto no aspecto funcional final (OSBORN; WEBER, 1983; PHILIPS; GOODMAN, 1987; GORMAN, 1996)

Segundo Russel et al. (1977) o tratamento dos sarcomas é um desafio, requerendo uma atuação multidisciplinar, com a finalidade de erradicação completa do tumor e permanência de uma boa função orgânica, principalmente nas lesões localizadas em extremidades.

Em muitas situações, a radioterapia exclusiva pode não ser capaz de levar ao controle tumoral, podendo isto decorrer de inúmeros fatores como: elevado número de células tumorais matrizes, relativa radiorresistência de algumas células ou baixa resistência à radiação dos tecidos peritumorais. Estas situações necessitam de terapêutica combinada, incluindo ressecção cirúrgica além de radioterapia. A experiência clínica com tratamento associado tem resultados ainda relativamente recentes, porém a cirurgia associada à radioterapia substituiu a ressecção radical com controle local comparável e melhores resultados cosméticos e funcionais. À associação de teleterapia (TEL) e da braquiterapia do SPM, porém, a taxa de falhas locais permanece em 10 a 20% (RUSSEL et al. 1977; SOUDERSTROM, 1958; WEISS, 1947; ZINKI, 1981) .

2.1.2 Etiologia e Anatomia Patológica

Não existe um fator único determinante no surgimento dos SPM, também não existindo uma predileção por determinada localização anatômica, assim como não se observa predominância em relação à raça ou distribuição demográfica da população. Homens e mulheres são igualmente afetados.

A radioterapia está estabelecida como um fator promotor do surgimento dos SPM. Numerosos estudos de pacientes tratados com radiação ionizante mostraram um risco aumentado no surgimento do SPM. Em uma série de 53 pacientes previamente irradiados e analisados pelo Instituto de Patologia das Forças Armadas dos Estados Unidos da América, verificaram que locais previamente irradiados ou expostos à radiação com altas doses mostraram uma maior incidência no surgimento do SPM e que o período de latência variou de 2 a 40 anos para o seu surgimento com uma média de 10 anos.

Hidaka (1985) documenta a relação dos SPM com uso de determinadas medicações como o uso excessivo de anabólicos androgênicos e esteróides.

Os fatores genéticos parecem ter alguma influência na gênese dos SPM, por sua associação a determinadas síndromes, como a síndrome de Li-Fraumeni, manifestada por uma susceptibilidade ao surgimento de sarcomas, dentre outras neoplasias; a neurofibromatose tipo 1 ou neurofibromatose de von Recklinghausen ou Síndrome de von Recklinghausen, nas quais os pacientes exibem uma incidência aumentada de gliomas de sistema nervoso e neurofibrossarcomas periféricos; a síndrome de Gardner, em que a polipose familiar do cólon se associa um amplo espectro de lesões mesenquimais como os tumores desmóides, fibromatoses e eventualmente fibrossarcomas; a

síndrome de Werner, patologia recessiva, com curta expectativa de vida decorrente de arteriosclerose precoce e vários cânceres, sendo os mais comuns os sarcomas; e, finalmente, tríade de Carney, em que a associação de leiomiossarcoma, condroma pulmonar e paranganglioma extra-adrenal ocorre em mulheres jovens (GORMAN, 1966; KOSS, 1992).

Wellman (1984) mostraram evidências de alterações do gene *ras* relacionado ao surgimento do fibrossarcoma alveolar. Alterações no gene *Rb* (retinoblastoma) são freqüentes em sarcomas GIII.

Observou também que o gene *MDM2* está freqüentemente amplificado, inibindo a atividade de transcrição da proteína *p53*, que se encontra alterada em SPM. O gene *SAS* também pode estar amplificado em alguns casos de SPM (BARRIOS, 1994).

A imunossupressão decorrente da terapêutica ou da síndrome de imunodeficiência adquirida mostra uma incidência de SPM aumentada em até sete vezes, assim como áreas sujeitas a edema crônico tem uma incidência aumentada de linfangiossarcomas (WEISS; LANGLOSS; ENZINGER, 1983).

Estudaram a correlação entre o surgimento de SPM em indivíduos que tiveram contato prolongado com agentes tóxicos como o vinil-clorido, o arsênio e o ácido fenoxiacético, utilizado em herbicidas, porém, com resultados não confirmados em outros estudos (BEAHR; HENSON; HUTTER, MYERS, 1988)

A origem de todos os SPM é o mesoderma, o schwanoma maligno, apesar de ter origem ectodérmica, também está incluído nesta categoria de tumores. A determinação do diagnóstico histológico deve ser realizada através de biópsia a céu aberto, pois a aspiração por agulha em geral não permite a definição do subtipo histológico (BARTON, 1987).

A classificação proposta pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 1994 subdivide os sarcomas de partes moles em quinze categorias.

1. fibrosos
2. fibro-histiocíticos
3. lipomatosos
4. provenientes de músculos esqueléticos e de musculatura lisa,
5. provenientes de vasos sanguíneos e linfáticos
6. perivasculares
7. sinoviais
8. mesoteliais
9. neurais
10. paragangliônicos
11. condróides extra-esqueléticos
12. ósseos
13. pluripotenciais
14. miscelâneas
15. não classificáveis

O grau de diferenciação tumoral baseia-se em critérios que incluem: o grau de diferenciação celular, a celularidade tumoral, a quantidade de estroma, a presença de necrose, a quantidade de substância intercelular, o colágeno e material mucóide, a vascularidade e, com ênfase, ao número de mitoses por campo microscópico, magnificado em 430 vezes. Os SPM são classificados em bem diferenciados ou de baixo grau de malignidade (G1), aqueles que apresentem menos de uma mitose a cada dez campos magnificados e padrão celular bem diferenciado; os poucos diferenciados ou de alto grau de

malignidade (GIII), que apresentam geralmente 5 ou mais figuras mitóticas a cada dez campos magnificados e padrão celular pouco diferenciado, ficando entre GI e o GIII os tumores moderadamente diferenciados ou de grau intermediário de malignidade (GII) (BROOKS.; KOBOS, 1993; DU BOULAY, 1985)

Segundo Campbell (1990) dentre os subtipos histológicos de GI podemos observar: lipossarcoma mixóide ou bem diferenciado, dermatofibrossarcoma protuberans; leiomiossarcoma, hemangiopericitoma, schwanoma maligno GII: fibrohistiocitoma mixóide; GIII: lipossarcoma pleomórfico, condrossarcoma mesenquimal extra-esquelético, sarcoma alveolar, rabdomiossarcoma.

Há ainda os que podem ser GII ou GIII: sarcoma sinovial, fibrohistiocitoma maligno, angiossarcoma, sarcoma epitelióide.

A histologia convencional vem sendo suplementada pelas culturas teciduais e análises de imunoistoquímica, na determinação dos padrões de diferenciação. A maior dificuldade nas pesquisas de imunoistoquímica resulta da absoluta ausência de expressão de qualquer dos marcadores utilizados, ficando esta técnica em geral reservada para diagnósticos diferenciais (BUSSOLATI; et al., 1980).

Análises citogenéticas têm identificado aberrações cromossomais características em determinados grupos portadores de SPM. Para determinados subtipos de sarcomas, existem rearranjos e estes são em geral translocações, sendo que o reconhecimento destas aberrações vem se expandido rapidamente (EL-JABBOUR; et al., 1990).

2.1.3 Diagnóstico, Estadiamento e Fatores Prognósticos

O exame físico metuculoso tem vital importância na determinação do volume tumoral e sua eventual extensão ou fixação a ossos ou feixes vâsculos-nervosos, além da avaliação linfonodal locorregional, que apesar de pouco freqüentemente acometida, tem incidência aumentada de ate 30% em alguns subtipos histológicos, como rabdiomiossarcoma e leiomiossarcoma (EL-JABBOUR; et al., 1990).

A avaliação pré-operatória deve ser realizada através de métodos de imagens, como raios-X, para se descartar presença de lesões metastáticas. Metástases hematogênicas ocorrem em geral nos pacientes em tumores de alto grau de malignidade, em geral nos dois primeiros anos do diagnóstico, necessitando uma avaliação rigorosa. Tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética são úteis tanto para definição da localização como da extensão do tumor primário assim como para a determinação da presença de possíveis metástases a distancia. Os sítios de disseminação mais freqüentes são os ossos e o fígado, com cerca de 15 a 25% de chance de serem acometidos (DUDGEON; PATRICK, 1927; EICH; WHITEHAIR; MOROF; HEEB, 2000).

Cerca de 20% dos pacientes apresentam metástases ao diagnóstico. O desenvolvimento de metástases a distância tem relação multifatorial, sendo a histologia, o grau de diferenciação, o tamanho e a localização das lesões os mais importantes. Lesões da região retroperitoneal estão mais freqüentemente associadas à disseminação metastática, devido provavelmente à sua maior vascularização e ao maior volume tumoral à época do diagnóstico (ENZIGER; LATTES; TORLONI, 1969).

Estudos complementares de Lever, Trott e Webb (1985) são eventualmente necessários de acordo com a localização da lesão, podendo incluir: cintilografia óssea, em casos com suspeita de invasão óssea, arteriografia pré-operatória, linfangiografia e ultra-sonografia entre outros.

O estadiamento tumoral dos SPM é feito de acordo com o 'American Joint Committee' (AJCC) e pela União Internacional Do Combate ao Câncer (UICC), que até o ano de 1997 eram idênticos, porém com a atualização no ano de 1997 o, AJCC passou a levar em conta a relação anatômica do tumor com a fáscia superficial, sendo subclassificado em (a) se a lesão encontra-se inteiramente acima desta ou (b), se infiltra além dela (OSBORN; ALLMANNBERGER; SHAW; SCHAUER, 1984).

Múltiplos fatores influenciam na recorrência local, tendo especial importância o grau de diferenciação tumoral, que é o melhor indicador prognóstico isolado da eventual recidiva. O envolvimento de linfonodos e invasão vâsculo-nervosa ou óssea, também são fatores de maior risco, principalmente nos pacientes tratados com cirurgia conservadora (KINDBLOM; LODDING; ANGERVALL, 1983).

As alterações genéticas, com análise do conteúdo do DNA e o índice proliferativo têm sido investigados como fatores prognósticos potenciais, onde se encontram principalmente as expressões do *p53* e do *MDM2*. A aneuploidia do DNA também demonstrou ser um fator de pior prognóstico (MIDDLETON; DURAY; MERINO, 1998)

Outros fatores são ainda relacionados à recorrência como relatado:- idade maior que 50 anos; - margens cirúrgicas inadequadas; tratamento de lesões já recidivadas; -alguns subtipos histológicos com maior propensão a recorrer

(fibrossarcoma, lipossarcoma e fibrohistiocitoma maligno); - lesões maiores que 10 cm; -localização mais próxima (LEIBEL; et al., 1982).

2.1.4 Tratamento

O tratamento dos SPM é cirúrgico, podendo ser utilizada radioterapia com intenção pré ou pós-operatória. Em alguns casos quando da impossibilidade de tratamento cirúrgico, pode estar indicada a radioterapia exclusiva (SMITH; KETTERER; GORNEY, 1994).

A conduta é diferente em relação às lesões de extremidade e as de retroperitônio, tendo havido grande evolução nas últimas décadas, passando as lesões de extremidade a serem tratadas de maneira conservadora (TAO; et al., 1980).

Inicialmente, o método primário de ressecção e controle local era a amputação. Na década de cinquenta iniciou-se a aplicação de tratamentos com combinação de cirurgia e radioterapia. A partir de então as cirurgias com conservação das articulações passaram a ser amplamente realizadas associadas à radioterapia externa. A taxa de recorrência local caiu de 20-25% com conservação da articulação em cerca de 80% dos casos, como observado (LEIBEL; et al., 1982).

Genericamente pode-se afirmar que na radioterapia pré-operatória um volume menor de tecido normal é incluído no campo de irradiação, pois o tumor ainda mantém suas relações espaciais com os tecidos adjacentes, resultando num volume alvo menor. Na radioterapia pós-operatória deve-se atingir não só

o tumor inicial e seu compartimento, mas também as possíveis áreas de contaminação resultantes do procedimento cirúrgico assim sendo toda a incisão cirúrgica e todos os planos de dissecação têm necessariamente que ser incluídos no campo de irradiação (ANDREASEN; MAHAFFEY; DUNCAN, 1988).

Numerosos estudos foram realizados utilizando uma droga ou esquemas com varias drogas para os tratamentos adjuvantes e para pacientes com metástases. As drogas isoladas mais ativas para sarcomas de partes moles avançados são a adriamicina e ifosfamida com taxas de respostas objetivas de 15 a 30%. Outras drogas ativas para SPM são: ciclofosfamida, dacarbazina (DTIC), cisplatina, carboplatina e epirrubicina, com taxas de respostas de 10-20%. Esquemas com várias drogas como o CYVADIC (ciclofosfamida, vincristina, adriamicina e DTIC); o MAID (mesna, adriamicina, ifosfamida e DTIC), o MAP (mitomicina, adriamicina e cisplatina) foram comparados com quimioterapia drogas isoladas, como a adriamicina ou a combinação desta com ifosfamida, aparentemente sem grandes diferenças em termos de sobrevida global (ALVERGARD; BERG, 1990).

Novos agentes vêm sendo investigados dos quais paclitaxel, docetaxel, edatrexate, topotecan, gencitabine, gene terapia intralesional com interleucina e adriamicina liposomo-encapsulada que parece ter menor cardiotoxicidade.

Porém questiona-se ainda apesar de resultados promissores um consenso quanto à sua indicação na adjuvância (AMERICANJOINT, 1978).

2.1.5 Avaliação dos Critérios de Malignidade nos Sarcomas de Partes Moles

Os sarcomas de partes moles, ou simplesmente sarcomas constituem uma ampla variedade de tumores malignos que guardam entre si origem histogenética comum que tem algumas semelhanças clínicas, patológicas e de comportamentos biológico. Acometem órgãos e tecidos provenientes do mesoderme primitivo e do mesênquima. São tumores raros e representam cerca de 1% dos cânceres dos adultos. Podem estar em qualquer local do corpo, mas a maioria se desenvolve nas extremidades, na parede torácica, no mediastino e no retroperitônio. Ocorrem em qualquer faixa etária, embora estejam mais comuns em pacientes com idade superior a 55 anos (40%). Sua incidência é maior no sexo masculino e parece não haver relação com as raças. O seu tratamento primário é primordialmente cirúrgico, havendo, porém, um consenso quanto a sua abordagem e condução multidisciplinar (ENZIGUER et al., 1988).

Dizer que determinado sarcoma é bem diferenciado, moderadamente ou pouco diferenciado, ou mais precisamente quanto seu padrão histológico este mais próximo ou mais distante do padrão normal do tecido ao qual ele se assemelha, reflete um aspecto qualitativo, de interpretação subjetiva; estas questões impedem muitas vezes que informações precisas sejam transferidas do patologista para outros especialistas (cirurgiões, oncologistas, clínicos, radioterapêuticos) tornando-se importante classificá-los por meio de critérios

mais objetivos. O grau de malignidade resulta da combinação de fatores histológicos conhecidos: 1- intensidade de necrose; 2- atividade mitótica; 3- pleomorfismo celular ou anaplasia; 4- celularidade; 5- crescimento infiltrativo e invasivo (BROOKS, 1993; CORSON et al., 1984; KOBOS, 1993).

Pelo fato de estarem intimamente relacionados as suas combinações poderão fornecer informações úteis para a sua caracterização. O seu número varia e foram descritos sistemas com 2, 3 e até 4 graus de malignidade. Vários estudos salientam a importância do grau histológico como variável para estratificar modalidades terapêuticas, bem como para prognosticar com maior exatidão quanto à recorrência e à sobrevida (EICH; et al., 2000).

Enneking, Sparrier e Malawer (1981) sugere a necrose tumoral, mitose, anaplasia e celularidade como fatores histológicos que tem apresentado correlações com o prognóstico nos sarcomas. Estudos utilizando análise multivariada tem mostrado que a necrose, isoladamente, e a que mais se correlaciona com o prognóstico. É capaz de separar os sarcomas mais indiferenciados, de alto grau (G3), daqueles com comportamento menos agressivo, mais diferenciado, onde a probabilidade de metastatização e recorrência diminuem, ou é quase nula (G1).

Também Morrison, Rosai e Hallaway (1989) mostraram que a necrose foi a base para a separação dos sarcomas de grau intermediário do alto grau (< 15% de necrose=Grau 2; > 15% de necrose =Grau 3) Nesta análise o grau histológico foi a variável prognóstica mais importante, altamente associada ao risco de metástases e óbito. Koss (1989) na sua casuística encontraram uma associação estatística significativa entre níveis maiores de 15% de necrose tumoral e óbito; este resultado mostrou-se independente da histologia, do local

e do estadiamento destes tumores. Concluíram que a necrose é um critério prognóstico importante e auxilia na separação dos sarcomas de grau I dos graus 2 e 3. Desta maneira, com base nestes relatos, os autores consideram que de uma forma geral a necrose relaciona-se negativamente com o prognóstico, a sua intensidade indicando provavelmente uma indiferenciação maior do tumor.

Outro fator que isoladamente apresenta relação com o prognóstico é a contagem mitótica. Geralmente ela é expressa em número de figuras de mitose contadas em cada 10 campos microscópicos de grande aumento (CMGA), tomados sucessivamente na área tumoral mais representativa ampliada 400 vezes. A mitose seria o fator que mais se aproximaria da realidade do ambiente tumoral, refletindo aspectos mais objetivos da atividade celular proliferativa (STORM, 1994).

Alvergard, Baldetorp e Berg (1989), com o objetivo de identificar variáveis prognósticas variáveis prognósticas, baseados em um estudo de 300 pacientes com sarcomas, mostraram que a contagem mitótica foi um dos fatores independentes correlacionados à sobrevida, embora com um nível de significância menor do que o grau de malignidade. Jensen et al. (1991) mostrou que no grupo de sarcoma de alto grau com 5 a 20 mitoses/10CMGA, resultou numa sobrevida de 5 anos em 64% dos pacientes, enquanto os sarcomas com mais de 20 mitoses/10CMGA, apresentaram 41% dos pacientes com sobrevida de 5 anos.

A anaplasia celular e a celularidade são fatores com importância na caracterização de diferenciação tumoral que participam de alguns sistemas de graduação, porém são critérios qualitativos, de interpretação subjetiva e que

isoladamente não são suficientes para fornecerem informações prognósticas. A celularidade assume importância particularmente nos fibrohistiocitoma, onde discrimina os de grau intermediário (G2) com baixa celularidade, dos de alto grau (G3) com celularidade elevada (ANDREASEN; MAHAFFEY; DUNCAN, 1988).

São descritivos por Welman (1996) outros achados microscópicos considerados de risco apresentados em algumas séries como tendo importância prognóstica isoladamente ou associados, porém não sendo considerados para o estabelecimento do grau histológico. Entre estes citamos:

*Reação desmoplásica: quando presente nas margens cirúrgicas identifica a ressecção como sendo marginal;

*Invasão vascular: quando está presente é considerada para alguns autores fator de risco, interferindo independente do prognóstico;

* Invasão da pele pelo tumor: foi descrita em associação com outras variáveis como fator de importância na sobrevida.

*Número de mastócitos: apontado por UEDA et al. (1998) como fator prognóstico em uma série de 44 pacientes, onde o número (> 20 mastócitos/10CGA) está associado a uma sobrevida em cinco anos maior do que aqueles cujo número de mastócitos era (<20 mastócitos/10CGA (85.9% $\times$ 30.5%); $p < 0.01$) (ZAHM, 1989).

A apoptose é uma forma de morte celular a qual apresenta aspecto histológico específico através dos corpos apoptóticos, os quais se manifestam como estruturas eosinofílicas densas, algumas fracionadas na cromatina, com halo vacuolar ao redor, resultado da contração nuclear. Alguns corpos

apoptóticos podem ser fagocitados, sendo assim passam a ser estruturas acidófilas, renomados como corpos Councilman (WYLLIE, 1980).

Em estudos de 39 neoplasias cutâneas em cães quantificou-se através do método (TÚNEL) “labelling” a porcentagem de células positivas para morte celular apoptótica (AI) em contagem de 1000 células e correlacionaram com a contagem mitótica (MC) em 10 campos amplificados 400 vezes. Tais dados foram analisados através do teste Spearman não paramétrico. Obteve-se uma correlação inversa entre AI e MC nos tumores benignos, enquanto nenhuma correlação foi encontrada nas neoplasias malignas e invasivas. Especificamente foi obtido na avaliação dos hemangiopericitomas ($>AI$ e $<MC$), já os schwannomas apresentaram ($>AI$ e $<MC$). A classificação de acordo com AI ($>15.8\%$ alto e $<15.8\%$ abaixo) e MC (>9 alto e <9 baixo) não refletiram no comportamento clínico de alguns tipos tumorais (CURRIE, 1980).

Storm (1994) relata como uma forma de perda celular fisiológica em desenvolvimento embrionário e estruturas de regressão. Ocorre através de indução hormonal induzindo bem como a involução tecidual, bem como uma indução de glicocorticóide destruindo estruturas linfóides.

Estudos demonstram aumento de apoptoses no desenvolvimento de neoplasias hepáticas (STORM, 1994).

Segundo, Hadju (1979) os corpúsculos apoptóticos morfológicamente identificados podem ser confirmados através da fluorescência da eosina presente nos mesmos através da transmissão de luz pelo microscópico.

Podemos considerar parâmetros morfológicos da apoptose a condensação nuclear e está em contraste com a fase de transcrição nuclear ou na necrose (GORMAN, 1996). Foi encontrado que a expressão da oncoproteína *bcl-2* com

a inibição da apoptose, podendo estar associado com a redução da sobrevivência dos melanomas malignos humanos.

No entanto, um aumento tem sido notado paralelamente com a diminuição do crescimento tumoral e angiogênese nos pacientes humanos com melanomas.

Finalmente Gorman (1996) investigou o papel da apoptose na regressão do melanoma suíno, mostrando que a linhagem celular do melanoma suínos são inteiramente mais sensíveis para morte celular durante regressão tumoral e que a apoptose é indicadora da regressão e crescimento. No fato, o fenômeno da regressão espontânea de tumores malignos e benignos foram documentados na literatura e é atribuído comumente na indução de apoptose e ativação do sistema imunológico. Estudos comprovam a presença da apoptose em grupos malignos e ausência em tumores benignos melanocíticos. Comprovam também que em lesões melanocíticas humanas sobre a presença da proteína *bcl-2* um oncogene guardião da apoptose; proteína pró apoptótica e *cd95* um ligante potente da indução de apoptose indicaram que a apoptose pode ser bloqueada nas lesões melanocíticas independente do comportamento biológico deles.

Wyllie (1980) mostrou que uma mutação de *p53* contendo linhagens celulares não respondem com apoptose, portanto fazendo deles resistentes à quimioterapia. Autores procuram não correlacionar significativamente o tempo de sobrevivência com *p53* e nem com AI (índice apoptótico).

Como conclusão, bem como nos melanomas humanos, mutações no *p53* são pouco frequentes em melanomas caninos e felinos e não mostram correlação clínica como consequência para estes tumores (STORM, 1994).

Mudanças moleculares, índices proliferativos reportados em qualquer outro lugar sugerem também mecanismos similares para ser envolvido na evolução tumoral e estes acompanham animais e humanos (CURRIE, 1980).

2.1.6 Epidemiologia dos arcomas

Os estudos epidemiológicos são grandes auxiliares na luta contra um câncer, pois descrevem a ocorrência das neoplasias malignas, fazendo comparações geográficas e análises da tendência ao longo do tempo. Da mesma maneira, através dos estudos epidemiológicos observacionais, pode-se estudar seus fatores de riscos e os prognósticos fornecendo subsídios para atuar em três níveis de preservação. No primeiro deles, através da eliminação ou redução dos fatores de risco, propriamente dito. No segundo, com a detecção precoce poder-se ia exercer influencia no desenvolvimento do tumor em sua fase inicial. E por último a atuação seria no sentido não só de prolongar a sobrevida do paciente, mas sua qualidade de vida (PARKIN, 1992; ZAHM, 1989).

Neste trabalho Rothman (1986) são apresentados os coeficientes de incidência, segundo sexo, para neoplasias de ossos, neoplasias malignas do tecido conjuntivo e partes moles como um todo e para tipos específicos como rabdmiossarcoma, osteossarcoma e sarcoma de Ewing. Além disso, foi feita uma revisão dos principais fatores de risco e fatores prognósticos, bem como as taxas de sobrevida para pacientes acometidos por esses tumores.

Embora os coeficientes de incidência tenham declinado, principalmente na Europa, nos últimos anos a taxa de sobrevivência tem melhorado consideravelmente, ainda permanecem obscuros quais seriam os grupos de risco que mereceriam atenção especial dos profissionais da área de saúde. O principal tipo de problema nessa área é a raridade de cada um dos tipos de câncer, que fazem com que os estudos tenham amostras pequenas, o que dificulta a identificação de fatores de risco significativos e os custos de estudos multicêntricos, acredita-se que se deva incentivar estudos nessa natureza, com metodologias padronizadas, sejam eles do tipo coorte ou caso-controle. Isso propiciará medidas de prevenção ao se identificar grupos de riscos, principalmente no que diz respeito às diversas categorias profissionais e à exposição a vários agentes carcinogênicos (ZAHM, 1989).

Análises estatísticas razoavelmente sofisticadas passaram a ser muito empregadas e são comuns em artigos de da literatura médica, porém muitas vezes a sua utilização se faz discutível. Enfatizando assim, a necessidade das escolas de graduação na área da saúde, em geral, se dediquem, também ao treinamento em relação às técnicas estatísticas empregadas à Epidemiologia.

Além disso, os avanços na biologia molecular, durante os últimos dez a quinze anos muito têm auxiliado na pesquisa em câncer, tanto de fatores de risco quanto de prognósticos. A detecção de conjugados DNA-carcinógenos, de anomalias em oncogenes e da presença, no tumor, de DNA de origem viral, apresenta novos horizontes na explicação da história natural do câncer em geral (PARKIN, 1992; STORM, 1994; ZAHM, 1989).

Através dos estudos epidemiológicos é possível, pois, descrever como as neoplasias malignas ocorrem e sua distribuição pelo mundo. Da mesma

maneira pode-se estudar seus fatores de risco e os prognósticos, fornecendo subsídios para se atuar em três níveis de prevenção. No primeiro deles, através da eliminação ou redução de fatores de risco, propriamente dito. No segundo, com a detecção precoce poder-se-ia exercer influencia no desenvolvimento do tumor, em sua fase inicial. E, por último, a atuação seria no sentido não só de prolongar a sobrevida do paciente mas a sua qualidade de vida. Os inúmeros estudos epidemiológicos muito contribuíram para o atual conhecimento dos sarcomas, enfatizando a importante participação dos estudos multicêntricos que utilizam metodologias de coleta e análise de dados padronizados (PARKIN, 1992).

Os sarcomas de osso e de tecido conjuntivo e partes mole representam cerca de 1% de todos os cânceres em adultos porem essa proporção aumenta para quase 10% em crianças com menos de 15 anos. Esses tumores representam um grupo heterogêneo de neoplasias cuja etiologia ainda é pouco conhecida. Raramente as publicações existentes fornecem informações segundo cada um dos tipos de sarcoma separadamente. Somente em nível de registro populacional e não em publicações é que se consegue a informação para cada um dos tipos de sarcoma (ROTHMAN, 1986).

Desses estudos informações importantes podem despontar como (PARKIN, 1992; STORM, 1994; ZAHM, 1989):

*A sobrevida de pacientes com sarcomas é de 5% cinco anos após o início do tratamento e tumores de extremidade tem prognóstico mais favorável do que outras localizações;

*Os tumores de partes moles são mais comuns na cabeça e pescoço;

*Os tipos de sarcomas de tecidos moles mais freqüentes são leiomiomas; lipossarcoma, fibrossarcoma e o rabdomiossarcoma;

*Caso-controle com adultos acima de 21 anos encontraram como fatores de risco tabagismo e a utilização de cloranfenicol (antibiótico)

*Não existe evidências de diferenças significativas de rabdomiossarcoma em meninos e meninas;

Enfim os estudos epidemiológicos são grandes auxiliares na luta contra o câncer, especialmente em relação aos sarcomas, devido seu mal diagnóstico muito pouco se tem avançado em termo de compreensão dos fatores etiológicos. Bem como permanece não esclarecido qual dos grupos de risco que mereceriam atenção especial dos profissionais da área da saúde, possibilitando detecção precoce e terapias mais agressivas (PARKIN, 1992; STORM, 1994; ZAHM, 1989).

Porem muito se tem conseguido em termos de melhora das taxas de sobrevivência e das condições de vida dos pacientes, graças a protocolos clínicos que procuram definir a terapia mais efetiva, com mínimo de efeito colateral (ROTHAMAN, 1986).

Novas perspectivas se abrem com o estudo da epidemiologia molecular na pesquisa em relação à importância dos oncogenes, da utilidade de marcadores biológicos e outros 'dosímetros' moleculares de exposição a agentes ambientais (ZAHM, 1989).

É de se esperar que os avanços nessa área venham a ampliar os horizontes da epidemiologia como disciplina maior, na busca incessante de vias de prevenção dos sarcomas em nosso meio (STORM, 1994).

2.2 Neoplasias Cutâneas na Medicina Veterinária

Dorn et al. (1968) realizaram estudo na Califórnia sobre a incidência de neoplasias em cães e gatos. Concluíram que a taxa de incidência de neoplasias derivadas da pele e tecido conjuntivo foi de 67,6% em cães e 44,8% em gatos.

Priester (1973) e Priester e Mantel (1971), realizaram estudo de 8.634 casos de neoplasias avaliadas histologicamente sendo que 2.397 eram derivadas da pele e tecido subcutâneo. As proporções de neoplasias da pele em relação a outros tipos de neoplasias foram de 28% e 18% em cães e gatos, respectivamente, excluindo as neoplasias perianais ou as neoplasias epiteliais de pênis e vulva.

Bostock (1986) sugere que a incidência de neoplasias cutâneas na Grã Bretanha seja de aproximadamente de 450 casos novos / 100 mil cães ao ano e 120 casos novos / 100mil gatos ao ano. Isso representa um terço de todas as neoplasias no cão e um quarto de todas as neoplasias no gato.

Em pesquisa conduzida por Goldschmidt e Shofer (1992) foram obtidos dados que provavelmente refletem a incidência de neoplasias cutâneas na população de cães e gatos em geral. Durante o período de 1985 a 1990, um total de 65.000 amostras obtidas de cães e 13.250 obtidas de gato, enviada por clínicos de Estados norte-americanos, foram submetidas ao exame histopatológico. As taxas de incidência de neoplasias cutâneas e lesões cutâneas não neoplásicas foram de 45% para cães e 24% para gatos. Entre as neoplasias cutâneas de cães as epiteliais representaram 35% dos casos,

sendo 27% de adenomas de glândulas perianais, 12% de adenomas sebáceos, 12% tricoepiteliomas, 11% neoplasias de células basais, 9% de adenomas de glândulas de Meibomian, 5% carcinomas epidermóides, 5% de adenomas de glândulas apócrinas e 5% de epiteliomas intracutâneos corneificantes.

As neoplasias mesenquimais representaram 50% das amostras, sendo 24% de histiocitomas, 20% de mastocitomas, 16% de lipomas, 14% de hemangiopericitomas e 9% de hemangiomas. As neoplasias melanocíticas representaram 4% das amostras e as lesões não neoplásicas, 11%. Entre as neoplasias cutâneas de gatos as epiteliais representaram 43% das amostras, sendo 34% de neoplasias de células basais e 23% de carcinomas epidermóides. Já as neoplasias mesenquimais foram 47% das amostras sendo 27% mastocitomas, 36% fibrossarcomas e 12% lipomas. As neoplasias melanocíticas representaram 1% dos casos e as lesões não neoplásicas 9%.

Segundo Santos e Lot (2004) A frequência da origem neoplásica do Serviço de Patologia Animal da Universidade de São Paulo no ano de 200 foi : 52% neoplasias epiteliais, 15% mesenquimais; 12% células redondas, em 515 casos de neoplasias cutâneas em animais domésticos. Levantamentos da mesma autoria no ano de 2003 sugere-se; 63% neoplasias epiteliais, 30% neoplasia mesenquimais, e 11% neoplasias redondas num total de 554 casos de neoplasias cutâneas em animais domésticos .

A seguir os dados (em número de casos) das neoplasias diagnosticadas no Serviço de Patologia Animal da Universidade de São Paulo/Usf nos anos de 2000, num total de 515 casos:

Adenocarcinoma (86 casos); adenoma (29); carcinoma (78); cisto adenocarcinoma (13); cistoadenoma (4); condrossarcoma (1); digestinoma

(1);ependinoma (1); fibroma (150); fibrossarcoma (23); hemangioma (18); hemangiopericitoma (3); hemangioossarcoma (25); histiocitoma (9); leiomioma (4); leiomiossarcoma (2); leidygoma (21); linfangioossarcoma (1); linfoma (12); lipoma (22); lipossarcoma (1); mastocitoma (40); melanoma (17); meningioma (1); mesenquimoma (2); mesotelioma (3); mixossarcoma (1); neurofibroma (2); neurofibrossarcoma (15); nevus fibromatosos (1); osteocondroma (1); osteoma (1); osteossarcoma (18); papiloma (2), pilomatricoma (6); quemodectoma (2); queratoancantoma (4); rabdomiossarcoma (4); sarcoma inconclusivo (3); seminoma (14); sertolioma (3); tricoblastoma (1); tricoepitelioma (10); tumor de células da granulosa (2); TVT (2);

A seguir os dados (em número de casos) das neoplasias diagnosticadas no Serviço de Patologia Animal da Universidade de São Paulo/USP nos anos de 2003, num total de 554 casos (SANTOS, LOT, 2004):

- adenocarcinoma (17); adenoma (62); carcinoma (103); citoadenocarcinoma (1); cistoadenoma (9); condrossarcoma (3); émulis fibroso (8); fibroma (7); fibrossarcoma (17); hamartoma (7); hemangioma (21); hemangiopericitoma (9); hemangioossarcoma (11); histiocitoma (3); leiomioma (6); leidygoma (12); linfoma (6); lipoma (28); lipossarcoma (3); mastocitoma (36); melanoma (27); meningioma (1); mixossarcoma (1); neurofibroma (7); neurofibrossarcoma (15); nevus (3); osteoma (2); osteossarcoma (8); papiloma (4); pilomatricoma (6); plamocitoma (9); pólipó (21); quemodectoma (1); queratoacantoma (17); seminoma (19); sertolioma (12); tricoblastoma (11); tricoepitelioma (1); tricolenoma (1); tumor de células de granulosa (4); TVT (3); sarcoma inconclusivo (12).

WALDER e GROSS (1992) descrevem os aspectos gerais de alguns tipos de neoplasias cutâneas:

Mastocitoma – É uma neoplasia comum no cão. Em geral é um nódulo alopécico e eritematoso, podendo estar ulcerado. Pode surgir em qualquer parte do corpo, envolvendo tanto a derme como o subcutâneo. É classificado em três graus: grau 1 ou bem diferenciado; grau 2, intermediário; grau 3 ou pouco diferenciado. Aproximadamente 10% dos cães com grau 1 morrem devido à metástase ou recidiva (este índice é de 45% para o grau 2 e de 85% para o grau 3).

Schwanoma – Apresenta-se como massa circunscrita, firme ou macia, lobulada, medindo entre 2 e 5cm de diâmetro. Localizam-se comumente nas porções distais dos membros e tende a recidivar após excisão cirúrgica, mas não ocorre metástase.

Hemangiopericitoma – É uma massa solitária, multilobulada, bem circunscrita de consistência firme ou macia. Pode medir de 1 a 25cm de diâmetro. Surge freqüentemente nos membros, região de cotovelo ou joelho. Apresenta alta taxa de recidiva, podendo em alguns casos formar metástase.

Dermatofibrossarcoma *protuberans* - É uma formação firme solitária o pouco circunscrita. Acomete região de ombros e membros. É localmente agressiva recidivando freqüentemente após excisão cirúrgica; metástases não são documentadas.

Fibrossarcoma – É uma neoplasia maligna originada de fibroblastos. Apresenta-se como massa firme, pouco circunscrita, multilobulada, variando de 1 a 15cm de diâmetro. Alopecia e ulceração são comumente observadas a

maioria surge em tronco e regiões proximais dos membros dos cães. Recidivas são freqüentes e os índices de metástase são baixos.

Carcinoma espinocelular – Surge como massa semelhante à placa, papila ou nódulo. Alopecia, eritema, ulceração e crostas estão presentes. Nos cães as áreas mais afetadas são abdome e joelho, podendo também surgir no cotovelo. Formas pouco diferenciadas apresentam maior taxa de metástase geralmente limitada aos linfonodos regionais.

Adenoma/adenocarcinoma de células hepatóides – As células hepatóides localizam-se na região perianal, terço proximal da calda, região lombossacra, lateralmente ao prepúcio e ao longo da linha media ventral. A lesão possui aspecto nodular, podendo ser múltipla e ulcerada os carcinomas ocorrem exclusivamente na região perianal, a cometem machos mais velhos e podem metastatizar atingindo linfonodos regionais.

Adenoma de glândulas sebáceas – É uma neoplasia benigna comum no cão, apresentando-se como um formação papilar, solitária ou múltipla, alopécica e ulcerada, podendo surgir em qualquer parte do corpo.

Lipoma – É uma neoplasia benigna do tecido adiposo. A forma infiltrativa é menos freqüente e surge como uma grande massa intramuscular ou subcutânea, pouco definida e ligeiramente mais firme que o lipoma comum. Ocorre no tronco e membros. Não possui potencial metastático ou malignidade, mas requer excisão cirúrgica radical para evitar recidiva local.

2.2.1 Tumores em Pele e de Parte mole em Cães

Estudo por Matera (2004) realizado no período de 1998 a dezembro 1999 213 cães (estado de São Paulo/Universidade de São Paulo/Departamento de cirurgia) Os tumores foram representados por lesões foram avaliados clinicamente e o material coletado das lesões com agulha fina sem aspiração através do método de Rosenfeld. Dos quais 75% dos casos estavam > de 10 anos de idade; 44% eram do sexo masculino; e cães sem raça definida predominaram .

Os tumores foram representados por lesões não neoplásicas (19%), neoplasia epitelial (36%); neoplasia mesenquimal (30%); neoplasia de célula redonda (13) e neoplasia melanocíticas (2%).

Dentre as neoplasias benignas o lipoma (n=14) e o tricoblastoma (10) e dentre as malignas, o mastocitoma (n=14) e o hemangiopericitoma (n=9) foram os mais freqüentes.

Chalita (2001) Estudou a eficácia do diagnóstico citológico se comparado ao histológico para neoplasias cutâneas e de partes moles. Tal estudo demonstrou o método citológico bastante eficiente e eficaz com sensibilidade de 89%; especificidade 100%; valor preditivo positivo de 100%; valor preditivo negativo de 96%; eficiência de 97% quando comparado ao exame histológico.

Os tumores na pele e partes moles estão entre os mais freqüentes encontrados na espécie canina, representando aproximadamente 1/3 de todos aqueles que acometem esta espécie (BOSTOCK, 1986; DOBSON; GORMAN, 1988; GORMAN, 1996). As raças mais acometidas variam de acordo com a popularidade delas nos diversos países, embora os cães das raças Boxer

estejam sempre bem representados nos diferentes levantamentos (MORIELO; ROSENTHAL,1990). Animais adultos (6-14anos) são mais susceptíveis com exceção neoplasias que afetam cães jovens como papilomavírus e histiocitoma.Equivalem as incidências entre machos e fêmeas (CONDROY, 1983; WITHROW, 1996) principalmente se for desconsiderar os tumores de mama nas fêmeas e os de glândula hepatóide nos machos.

As neoplasias cutâneas podem ser localizadas na epiderme e/ou derme, acometendo as diversas estruturas que compõem a pele (BARTON,1987). As neoplasias de partes moles (músculo, gordura, tecido fibroso, vasos e nervos) são definidas como proliferação mesenquimal originárias de tecido extra-esquelético e não epitelial, além de excluir aqueles em vísceras, cérebro e sistema linfo-reticular (ENZINGER, 1995).

O diagnóstico freqüente das neoplasias em pele e partes moles representa reflexo de maior probabilidade de observação precoce dessas lesões pelos proprietários e médicos veterinários. Isso implica a maior eficácia no controle e tratamento dessas afecções, já que o diagnóstico precoce está intimamente relacionado ao prognóstico do paciente (BOSTOCK; OWEN, 1975; RUAUX, 1993).

A histogênese indefere na manifestação clínica, podendo muitas vezes apresentarem aspecto similar, outras vezes o mesmo tumor pode se manifestar de variadas formas. Refletindo desse modo, na impossibilidade de se obter um diagnóstico preciso somente com informações alcançadas na anamnese e exame físico, sendo portanto necessário examinar o tumor cito e histologicamente, ou seja : “um tumor é apenas um tumor até que o mesmo seja avaliado microscopicamente”.

O diagnóstico histológico das neoplasias refere-se à caracterização microscópicas de células coletadas de formações tumorais ou efusões (WELLMAN, 1990). É um procedimento muito utilizado nos casos de tumores de pele e nos tecidos moles, sua eficiência implica em ser simples, barato, rápido oferecendo pouco risco ao paciente (ELSE, 1989; MIRALES et al., 1986; PHILIPS; GOODMAN, 1987; TYLER et al., 1999).

A interpretação citológica auxilia não apenas no estabelecimento do diagnóstico, na identificação de processos inflamatórios ou neoplásicos, caracterização do tipo de inflamação e de agentes infecciosos; classificação histogenética das neoplasias, além de avaliar a presença ou não de malignidade (SEYBOLD; GOLDSTON; WILKES, 1982; BARTON, 1983; ALLEN; PRASSE, 1986; VALLI, 1988).

O diagnóstico citológico pode direcionar o tipo de tratamento pré-cirúrgico, cirúrgico, radioterápico ou quimioterápico evitando também procedimentos às vezes mais invasivos tornando-se arriscados e desnecessários. (BOTTLES et al., BARTON, 1987).

Como uso da citologia guiada ou não com o auxílio do ultra-som abdominal, também se pode identificar metástase, além do monitoramento de possíveis recidivas .

Faz importante ressaltar contudo que a impossibilidade de definir a extensão exata de uma lesão e obter o diagnóstico definitivo em algumas delas faz com que a citologia seja utilizada conjuntamente e não como método substituto ao histológico (URBACH; BURCKE, 1957).

O mesmo permite avaliar o grau de malignidade e invasão, além de verificar a presença ou não de resquício de células neoplásicas nas bordas da ferida cirúrgica (WITHRON, 1986)

A vantagem principal de seu uso é a preservação da arquitetura tecidual, necessária para a correlação do tipo neoplásico com o seu comportamento biológico e resposta à terapia (JACOBS, 1988)

No entanto o sucesso da mesma depende da coleta de amostra adequada, do seu preparo e coloração correto, além do exame microscópio minucioso e cuidadoso, estando estas etapas inadequadas tem-se um resultado final comprometido. (REPPAS; COWELL, 1989)

2.3 Hemangiopericitoma canino (aspectos clínicos e diagnóstico diferencial)

O hemangiopericitoma canino é uma neoplasia relativamente comum correspondendo a 14% das neoplasias de origem mesenquimal em levantamento realizado por GOLDSHIMIDT e SHOFER, (1992) e 3.8% das neoplasias de pele e subcutâneo.

Destaca-se como origem os pericitos, os quais a histogênese ainda é incerta.

Esta denominação não deve ser confundida com peritelioma, o qual é tido como um carcinoma indiferenciado (ANDERSON, 1997).

O hemangiopericitoma é uma neoplasia que ocorre somente em cães, bem como não reportado em outras espécies (BRODEY, 1970; MOULTON, 2000).

Entretanto, Marques (2005) histologicamente hemangiopericitoma epitelióide em parede abdominal de um felino de 13 anos.

Pertencem ao grupo dos 'spindle cells' tumores de pele e tecidos adjacentes que desafiam uma classificação por dois motivos:

- *a limitação do microscópio de luz não permite a separação desses tumores em subtipos que exatamente reflitam o tecido de origem;

- *O mais fundamental é que a maioria desses tumores são prováveis 'stem cells' pluripotentes mesenquimais, com capacidade de se diferenciar em diferentes direções .

Geralmente apresenta-se como uma massa solitária, multilobular, de consistência firme ou macia, medindo de 1 a 25cm, aderidas ao tecido subjacente. A pele geralmente apresenta-se alopecica, hiperpigmentada e ulcerada. Os locais preferenciais para o surgimento das formações são os membros, em regiões do cotovelo e joelho (WALDER; GROSS, 1992).

O CHP é mais comumente encontrado nas articulações dos membros torácicos e pélvicos, não havendo associação com a bolsa sinovial desses lugares. Outras predileções topográficas destacam-se a região torácica e abdominal ventral (estudos de 1817 animais mostram acometimento em: .3% cabeça; 37.8% membro torácico; 30.5% membro pélvico; 2% pescoço; 2.3% costal; 13.9% tórax; 7.8% abdômen; 1.1% períneo; 0.9% cauda; 0.1% escroto, múltiplos 0.6%)

As fêmeas são tidas como predispostas para o desenvolvimento desse tumor correspondendo 66% num total de 1939 animais avaliados. As fêmeas são mais afetadas do que os machos. (MOULTON, 2000; LOWELL, 2001).

A distribuição etária em uma avaliação de n=1879, obteve-se como significância de 10.2 ± 2.8 anos.

Quanto a distribuição racial tem-se : Husky Siberiano (76 pacientes); Sem raça definida (854); Setter Irlandês (54); Shepherd German (133) num total de 1117 pacientes.

O desenvolvimento de tumores múltiplos em cães mostra-se incomum. O tumor se manifesta como uma massa nodular cutânea e subcutânea, crescem rapidamente e freqüentemente traumatizam resultando em ulceração, hemorragia e infecção secundária (MARTINEZ, 2004).

Na palpação clínica pode-se apresentar de aspecto firme, devido depósito de colágeno ou de maneira flutuante imitando um lipoma, com margens dificilmente palpadas. Ao corte esta neoplasia apresenta-se multinucleada com áreas de tumor esbranquiçado sólido separado por uma zona mais mixomatosa (MELEO, 1997).

A caracterização citogênica dos CHP proposta por MAYR et al. mostrou o número 74 de cromossomo (n=78) com deleção do cromossomo 1 com fusão cêntrica: 5/6;5/14;7/15;7/19.

A caracterização morfológica dos CHP não exhibe uma específica aparência histológica, sendo compatível com outras neoplasias de origem neural (schwanoma) e histiocitoma fibroso maligno.

A seguir as três variações morfológicas dos CHP:

*Padrão espiralado perivascular: mostra camada de células fusiformes arranjadas de forma concêntrica ao redor de um lúmen central, o qual pode ou não conter eritrócito.

*Padrão estoriforme: células tumorais arranjadas em pequenos fascículos multidirecionais, quase formando os 'redemoinhos' típicos dessas neoplasias entremeando ou não por colágeno intercelular.

*Padrão epitelióide: podem ser ocasionalmente observados em casos recorrentes. Estas células apresentam grande núcleo vesicular com citoplasma eosinofílico e bordos celulares indistintos; Podem estar associados aos padrões anteriormente descritos, manifestando também áreas extensas de colágeno intercelular. O tipo epitelióide pode apresentar maior número de mitoses quando comparado aos demais tipos.

Ainda quanto à microscopia dos CHP podemos ressaltar presença de células multinucleadas além de áreas mixomatosas, onde as células apresentam extensivos citoplasmas eosinofílicos e núcleo de tamanho uniforme, Predominando células produtoras de uma matriz colagenosa (BOSTOCK; OWEN 1999).

(veterinary, neuropathology) Em contraste com os schwannomas apresentam mais 'vessels', capilares e menos colágeno., visto que os schwannomas apresentam uma matriz intercelular mais fibrilar que os hemangiopericitomas.

Agregados de células linfóides perivasculares podem ser encontrados. O autor estima que aproximadamente 10% dos casos tem infiltração linfóide, localizados principalmente na periferia dos tumores.

Necroses também podem ser observadas, e foi sugerido num estudo por PASTORINO et al. (1997), que altas taxas de necrose está significativamente relacionada com a taxa de recorrência.

Apresentam grande predileção topográfica nos joelhos caninos, podendo tal dado auxiliar no diagnóstico diferencial (STEVEN, 1995).

Exame de microscopia eletrônica das células dos CHP, mostram que elas tem aspecto de pericito associados a capilares, processos citoplasmáticos, junções intercelulares; filamentos citoplasmáticos e picnóticos vesiculares. A lamina basal é pobremente desenvolvida e uma variável quantidade de colágeno pode estar presente entre as células tumorais.

Quanto ao comportamento clínico nota-se freqüente recorrência após remoção cirúrgica. Uma primeira razão é a dificuldade de se estabelecer margem de segurança a partir da excisão cirúrgica devido à localização anatômica desses tumores.

A atividade mitótica e pleomorfismo é relativamente baixo neste tumores, mas com cada recorrência o número de células em atipia e multinucleadas, aumentam. Relatos sugerem que o potencial metastático eleva-se com o aumento das recidivas e presença de necrose.

Estudos retrospectivos mostram que a maior incidência de recorrência ocorre mais nas neoplasias localizadas em joelhos do que tórax e abdômen. Provavelmente devido à dificuldade de se obter margem de acordo com o tamanho da lesão, não persistindo muitas vezes pele disponível para o fechamento da ferida cirúrgica.

Descreve-se o período de 2 anos de intervalo entre a manifestação da recidiva, entretanto doenças metastáticas não são comuns sendo registradas em 1% dos casos de estudo retrospectivo. Sendo a maioria dos cães eutanasiados pelos altas taxas de recorrência do que do que pelas metástases.

Recidivas em membros podem ser tratadas com sucesso através da amputação do mesmo. Outros modos de terapêuticas podem ser primariamente aplicados com a terapia por radiação nos locais a serem previamente

removidos ou tumores recorrentes. EVANS, 1987, usando terapia por ortovoltagem Raios-X com dose total de superfície 45 para 50 Gy, encontrando o paciente livre de tumor num intervalo de 1.5 a 55 meses.

Contudo o tamanho e a localização do tumor representam fatores clínicos significantes para a resposta da terapia; visto tumores pequenos e não presentes em membros apresentam uma sobrevida maior que os demais.

Os hemangiopericitomas são neoplasmas subcutâneos relativamente comuns em cães e raras em gatos (MORIELLO; MASONI, 1997). Clinicamente, são massas solitárias, multilobulares, bem circunscritas, de consistência firme ou gordurosa, com tamanho variando entre 5 a 10 cm e ocorrem mais freqüentemente nos membros (especialmente no joelho e cotovelo). Seu aspecto histopatológico consiste da proliferação de células alongadas ou poligonais, que caracteristicamente se arranjam em feixes ou originam formações concêntricas em proporções variadas. Muitas dessas formações concêntricas possuem um pequeno capilar no centro (GROSS et al., 1992).

A causa dos hemangiopericitomas é desconhecida; um estudo citogenético relata-se a trissomia 2 (três cópias do cromossomo 2) em três casos de hemangiopericitoma canino (MAYR et al., 1992).

Dados epidemiológicos referentes ao hemangiopericitoma são encontrados na literatura internacional, mas não em nosso meio. Os hemangiopericitomas ocorrem em cães com média de 7 a 10 anos de idade, destacando-se como raças pré-disponentes o Boxer, Pastor Alemão, Cocker Spaniel, Setter Irlandês, Fox Terrier, Collie e Beagle, não havendo predileção sexual. Como características semiológicas tem-se a alopecia, hiperpigmentação e ulceração (SCOTT, 1996).

Relata-se que os hemangiopericitomas originam-se de pericitos, ou células que se localizam ao redor de vasos sanguíneos. Os pericitos são células de origem mesodérmica (ETCHEVERS et al., 2001) com capacidade contrátil, o que lhes confere a função de controlar o fluxo sanguíneo capilar. Pericitos presentes nas meninges são originários das cristas neurais (Etchevers et al., 2001), enquanto que os presentes em outras localizações dentro do organismo são de origem mesodérmica. Relata-se que essas células expressam actina de musculatura lisa do tipo alfa, que pode ser marcada por imunoistoquímica. (BANDOPADHYAY et al., 2001).

Em relação a seu comportamento clínico, Gross et al. (1992) classificam os hemangiopericitoma como um neoplasma de baixo grau de malignidade; esse tumor recidiva freqüentemente após a excisão cirúrgica, e a capacidade de invasão aumenta após cirurgias sucessivas.

Hendricks et al. (1998), afirmam que o hemangiopericitoma é um neoplasma maligno que ocorre exclusivamente em cães, e cuja histogênese é ainda incerta. Os hemangiopericitomas têm características histológicas comuns com os tumores da bainha nervosa periférica, ou os neurofibromas, sugerindo uma possível origem neural desses tumores. Na realidade, na experiência deste Serviço de Anatomia Patológica, o diagnóstico diferencial entre hemangiopericitomas e os neurofibromas ou neurofibrossarcomas apenas com base na morfologia é bastante difícil.

Os neurofibromas (também denominados schwannomas, neurilenoma, neurinoma, fibroblastoma perineural ou tumores de bainha nervosa) são neoplasias cutâneas originárias das células de Schwann dérmicas ou subcutâneas (bainha nervosa), sendo a etiologia desconhecida (Scott, 1996).

Na literatura internacional, relata-se que os neurofibromas ocorrem em cães mais velhos, sem predileção por sexo, existindo predileção racial em cães como Fox terrier. Esses tumores são geralmente solitários, ocorrendo mais comumente nos membros, na cabeça e na cauda, nos cães. Os neurofibromas são firmes, bem ou mal circunscritos, freqüentemente lobulados, de tamanho variável e de localização dérmica (em gatos) e subcutâneos (especialmente em cães). freqüentemente são alopecicos, sendo algumas lesões dolorosas e pruriginosas podendo ser complicadas por dermatite por lambedura; raramente são multinodulares, podendo haver envolvimento nervoso com ou sem déficit neurológico (GROSS et al., 1992).

Os neurofibrossarcomas são neoplasmas raros da derme e subcutâneo de cães, sendo provavelmente menos diagnosticados devido a sua semelhança com o hemangiopericitoma e o fibrossarcoma (GROSS et al., 1992). Macroscopicamente consistem de massas solitárias lobuladas, pouco delimitadas, de consistência variável. Histologicamente, são caracterizados por feixes concêntricos de células alongadas, onduladas, ocasionalmente apresentando paliçadas. Em contraste com o hemangiopericitoma, no neurofibrossarcoma os feixes concêntricos são principalmente observados ao redor de feixes colagênicos do que ao redor de capilares.

Segundo Hendricks et al. (1998), há dificuldade em se definir se os hemangiopericitomas e os neurofibrossarcomas têm origem histogenética diferente, ou se representam diferentes variantes do mesmo neoplasma.

Existem variações entre os critérios histológicos utilizados entre os patologistas para determinar o diagnóstico diferencial entre os tumores

cutâneos “spindle cells” e quando usados, tais critérios são bastantes subjetivos (BOSTOCK et al., 1980).

Tentativas de distinguir os hemangiopericitomas dos neurofibromas ou neurofibrossarcomas foram feitas por vários autores. Gross et al. (1992), verificaram que os hemangiopericitomas são neoplasmas multilobulares não encapsulados, referindo que a presença de cápsula é mais consistentemente relacionada ao neurofibroma.

Na tentativa de melhor caracterizar os hemangiopericitomas e distinguí-los de outros tumores mesenquimais compostos por células alongadas, principalmente dos neurofibromas, Perez et al. (1996), utilizaram marcações por imunoistoquímica. A maior parte dos hemangiopericitomas revelaram-se positivos para vimentina; alguns hemangiopericitomas revelaram-se positivos para a proteína S-100, lisozima e actina muscular. Esses resultados suportam a hipótese de uma origem pericítica dos hemangiopericitomas e sugerem que a actina muscular, desmina, vimentina e proteína S-100 poderiam ser úteis no diagnóstico diferencial de tumores em feixes concêntricos em cães. Porém os autores comentam que nem todos os neoplasmas desse tipo histológico podem ser caracterizados utilizando-se apenas esses marcadores.

Gross et al. (1992), sugerem o uso de anticorpos anti-enolase neurônio específica e proteínas de neurofilamentos para distinguir os neurofibrossarcomas pouco diferenciados de outros tumores mesenquimais malignos. Através também da utilização de marcações por imunoistoquímica os neurofibromas revelaram-se positivos para proteína S-100.

O uso dos marcadores de imunoistoquímica confirmam uma linhagem vascular dos hemangiopericitomas e auxiliam na exclusão de outros tumores mesenquimais (MAZZEI et al., 2002).

Martin, et al. (1999) estudaram a proliferação celular (contagem de figuras de mitose) em diversos neoplasmas cutâneos em cães e determinaram que os neurofibromas apresentam elevado índice apoptótico (morte celular programada) e baixa porcentagem de contagem mitótica, enquanto os hemangiopericitomas têm maior expressão apoptótica e menor expressão mitótica. Esta classificação de tumores de acordo com o grau de apoptose e mitose reflete no comportamento clínico de alguns tipos de tumor, com a conseqüente implicação terapêutica e prognóstica.

Estudos em microscopia eletrônica de transmissão também foram realizados na tentativa de definir o padrão ultra-estrutural dos hemangiopericitomas (MADEWELLI et al., 1992; XU 1986), e este método pode ser útil na diferenciação dos hemangiopericitomas e neurofibromas ou neurofibrossarcomas.

O diagnóstico diferencial entre os hemangiopericitomas e os neurofibromas ou neurofibrossarcomas faz-se imprescindível para o estabelecimento de um diagnóstico preciso da origem dos tumores mesenquimais, mesmo porque estes apresentam comportamentos distintos, refletindo diretamente no sucesso do tratamento, seja com a cirurgia excisional e/ou a associação entre a quimioterapia e radioterapia, bem como no estabelecimento de um específico e seguro prognóstico clínico (RICHARDS, 2001; RICHARDSON, 1985).

Segundo relato de Obwolo (1986), o qual descreveu em um Shepherd German Dog de 11 anos um hemangiopericitoma primário esplênico, sem

manifestação dérmica. O mesmo manteve-se clinicamente normal após seis meses da esplenectomia.

Richardson et al. (1984), relatou o uso da irradiação X por ortovoltagem seguida de hipertermia resultando em 91% de resposta.

Mayr et al. (1999), a avaliação citogenética de neoplasias mesenquimais revelou trissomia 2 e fusão cêntrica 19; 21 em um caso de hemangiopericitoma. Outro caso de hemangiopericitoma de mesma autoria em uma cadela de 15 anos da raça dachshund mostrou ausência do cromossomo, severa fusão cêntrica e trissomia 2.

A aplicação de diferentes terapêuticas foram testadas em alguns casos de sarcomas de parte moles (STS), concluindo a cirurgia como método soberano; quimioterapia sistêmicas mostra-se considerada em tumores com alto grau e potencial metastático moderado. Fatores são apontados pelo autor como altamente relacionados como prognóstico dos quais: ressecção, margem cirúrgica, tamanho, topografia e tipo histológico (WITHROW et al.; 1998)

Estudo através da microscopia eletrônica usando 20 neoplasias espontâneas de hemangiossarcomas e hemangiopericitoma, sugerem ambas neoplasias auxiliares como modelos para estudos de morfogênese e neoplasias de vasos, servindo também como protótipo para tumores humanos (MADEWELL; GRIFFEY; MUNN, 1992) .

Bostock e Dye (1983) avaliando 187 cães com sarcomas excisados foram acompanhados até três anos após a remoção dos mesmos. Cães com fibrossarcoma apresentavam uma sobrevida em torno de 80 semanas após a cirurgia, se comparados com 140 semanas nos casos de hemangiopericitomas. Entretanto esta diferença de sobrevida entre os dois tipos histológicos

desapareceram quando o índice mitótico forma comparados (cães com índice mitótico acima de 9 ou mais tinham um tempo de sobrevida de 49 semanas, os com menos de 9% tinham um tempo de sobrevida de 118 semanas) independente da morfologia do tumor. Taxas de recorrência de 62% e 25 % respectivamente para ambos grupos foram significativamente diferentes.

Recentes estudos avaliando a morfologia e imunomarcacão dos CHP concluiu-se que:

- *Constam de um grupo complexo de tumores de parte mole que podem ser controlados efetivamente por excisão cirúrgica em 70% dos casos;

- *As variações e diversidades resultantes da imunoistoquímica refletem a capacidade dos pericitos de seguirem diversos caminhos de diferenciação caracterizando contudo células pluripotentes 'stem cells';

- *Os aspectos imunoistoquímicos das células neoplásicas dos CHP não ajudam a identificar o subtipo mais agressivo;

- *Já a avaliação morfológica pode contribuir com o estabelecimento de um prognóstico;

- *O uso do painel imunoistoquímico tem confirmado a linhagem vascular dos CHP através principalmente da positividade do anticorpo anti-CD34, podendo desse modo ajudar na exclusão de outros sarcomas de parte mole.

Macroscopicamente podem ser encapsulados, contudo podem aderir fáscias e músculos em planos profundos. Apresentam uma taxa de metástase pouco menor que 10% (MACEWN; WITHROW, 2001). Em contradição BOSTOCK e OWEN (1999), confirmam neoplasias circunscritas e não encapsuladas, aderido planos profundos maioria das vezes.

No cão as terapias mais comumente indicadas são ressecção local e a amputação do membro (FOSSUM et al., 1988). O hemangiopericitoma freqüentemente recidiva após a excisão cirúrgica. As principais razões são a dificuldade em se identificar as margens da neoplasia durante a excisão cirúrgica e a localização desses tumores, muitas vezes ocorrendo em regiões de membros, onde o cirurgião encontra maior dificuldade em obter amplas margens de segurança e ainda conseguir uma síntese adequada da pele (GOLDSCHIMD; SHOFR, 1992).

Evans (1987) revisou os registros de 22 cães submetidos à radiografia após excisão cirúrgica de hemangiopericitomas. A idade dos animais variou de 3 a 14 anos com média de 10,2 anos. Dentre as 22 formações, 4 (18,2%) localizavam-se no tronco, cabeça e pescoço e 18 (81,8%) localizavam-se nos membros. A radioterapia foi iniciada entre 7 e 21 dias após a cirurgia. Houve recidiva da neoplasia em 36,4% dos cães.

Postorino et al. (1988), analisaram 42 casos de hemangiopericitoma. A maior parte dos tumores localizava-se em membros (39 formações ou 78%). A remoção cirúrgica da neoplasia foi o único tratamento em 34 casos, com 21% de recidivas. Em 8 cães, além da cirurgia utilizaram também a radioterapia, e as recidivas ocorreram em 50% dos casos.

Em outra revisão realizada por (GRAVES et al., 1988), foram analisados 23 casos de hemangiopericitoma, num total de 27 formações cutâneas. A idade média dos cães foi de 9 anos. Em 74% dos casos as formações surgiram nos membros e 19% no tórax e flanco. Os 16 cães tratados somente com excisão cirúrgica apresentaram recidiva em 5 cães (31%). O intervalo entre a cirurgia e a recidiva variou de 2 a 20 meses, com média de 8,3 meses. Cinco cães foram

submetidos à cirurgia e radioterapia. Houve recidiva em 3 cães (60%); esta taxa não foi considerada significativa diferente dos cães tratados somente com cirurgia.

Richadson et al. (1983), relataram um caso de hemangiopericitoma recidivante, tratado com excisão cirúrgica, radiação e hipertermia, não tendo sido bem sucedido. Fossum et al. (1988), descreveram um caso de hemangiopericitoma localizado no carpo de um cão que foi submetido com sucesso à excisão cirúrgica, radiação e finalmente com um retalho pediculado simples em bolsa torácica.

Susaneck e Withrow (1989) consideraram a excisão cirúrgica, o tratamento de escolha para a maioria das neoplasias cutâneas, devendo-se levar em conta, margens suficientes ao redor de toda formação para a segurar a sua remoção completa.

A remoção cirúrgica de formações neoplásicas muitas vezes é necessária nos cães e gatos. Entretanto o fechamento do defeito cutâneo criado com a excisão do tumor poder tornar-se parte mais difícil da cirurgia. A familiaridade com técnicas de retalhos cutâneos permite ao cirurgião a excisão com margens de segurança adequadas ao redor de toda a formação cutânea, sem o temor de não conseguir fechar o defeito cutâneo (SWAIN; HENDSON, 1990; GIBSON; DEAN, 1991)

Os retalhos locais são o método mais pratico para o fechamento de feridas que não podem ser suturadas primariamente. Os retalhos por avanço pediculados simples são criados fazendo-se duas incisões na pele com a mesma largura do defeito e tendo como borda distal, uma das margens do mesmo. O retalho é tão deslocado sobre o defeito cutâneo, cobrindo-o. A H-

plastia consiste no uso de dois retalhos por avanço pediculados simples em lados opostos do defeito, de forma que as linhas de sutura formem um H. Os retalhos por transposição os retalhos pediculados criados dentro de 90 graus do eixo longo do defeito. Uma extremidade do defeito forma uma porção da borda do retalho. O retalho é elevado e rotacionado sobre o defeito cutâneo (PAVLETIC, 1990). A W-plastia consiste numa incisão cutânea num padrão em ziguezague sem rotação de tecidos. Ao se aproximar as bordas da ferida, os retalhos triangulares encaixam-se nos do lado oposto. O padrão em ziguezague torna a tensão das bordas mais favorável em relação às linhas de tensão da pele (SWAIN, 1980).

2.4 Schwanoma

Os schwannomas (neurofibroma, neurilenoma, neurinoma ou fibroblastoma perineural) são neoplasias raras do cão e do gato emergindo das células de schwann dérmicas ou subcutâneas (bainha nervosa), tendo a causa desconhecida (SCOTT, 1995).

Existe muita confusão acerca da terminologia concerne a essas neoplasias na literatura veterinária. Em humanos, há no mínimo dois tipos clínicos histológicos e ultra-estruturais distintos de schwannomas, neurofibroma e neurilenoma (ANDREASEN; MAHAFFEY; DUNCAN, 1988).

Existe evidencia ultra-estrutural de que os mesmos dois tipos correm em cães e gatos. Infelizmente a maioria dos relatos não faz esta distinção e simplesmente refere-se a eles como schwannomas ou tumores de bainha

nervosa, conseqüentemente, dados clínico-patológicos compreensíveis sobre os dois tipos não existem (BOSTOCK, OWEN, 1975).

Ocorrem geralmente em cães e gatos mais velhos sem predileção por sexo. Nos gatos inexistente predileção racial, mas nos cães o Fox Terrier pode ser predisposto. Os schwannomas geralmente são solitários. Ocorrem mais comumente nos membros, na cabeça e no pescoço nos gatos, já o cão mais comumente nos membros, cabeça e cauda (BREGMAN, et al., 1987).

São neoplasias firmes, bem a mal circunscritos, freqüentemente lobulados, de tamanho variável e de localização dérmica (especialmente em gatos) a subcutâneos (especialmente em cães). Raramente os schwannomas podem ser multinodulares, podendo ter envolvimento com ou sem déficit neurológico. Algumas lesões podem ser pruriginosa e dolorosas complicando o quadro para dermatite por lambedura acral (BACARENSE; FARIA DOS REIS; 1997).

A maioria dos schwannomas são malignos e recidivam freqüentemente após cirurgia (COWELL; TYLER, 1989).

Histologicamente os schwannomas se manifestam por dois padrões (WITHROW, 1996; ENZIGUER; WEISS, 1995; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1995)

*Antoni Tipo A :áreas de células fusiformes apresentando faixas ou filas de paliçadas e torceduras nucleares;

*Antoni Tipo B: estroma edematoso contendo poucas células arranjadas ao acaso. Tem sido proposto também que correspondem áreas de degeneração dentro da neoplasia (vet, neuropia).

*Identificação dos corpos de Verocay ('verocay bodies'): no qual duas séries de núcleos são arranjados até a margem da massa citoplasmática

central, no entanto sua identificação na avaliação morfológica se torna importante para humanos, visto que são de rara visualização em animais domésticos.

Em geral compreendem áreas pouco eosinofílicas, finas, fibras onduladas, ficando em elementos frouxamente texturados que se estendem em várias direções com células em forma de fuso, podendo apresentar formação paliçada nuclear (ER; SUTTON, 1989).

São vistos variações benignas e malignas. Quanto às expressões de imunomarcadores tem-se positividade para vimentina e S100 (FINNIE; BOSTOCK, 1979).

O tratamento de escolha é a excisão cirúrgica. A amputação ocasionalmente pode ser necessária. A instituição de quimioterapia, radioterapia, imunoterapia e criocirurgia parecem ser de benefício mínimo, no entanto trabalhos atuais não comprovam tal afirmação (QUEIROZ; et al., 2004), mas recidivam freqüentemente após a cirurgia, raramente metastizam.

Sarcomas localizados em extremidade impossibilitam a utilização de técnicas especiais de fechamento e/ou são removidos por meio da amputação do membro. Com o objetivo de avaliar a eficácia da criocirurgia no tratamento de sarcomas de tecidos moles de extremidades em cães utilizou-se 08 animais de ambos os sexos, raça e idades variadas encaminhados ao Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Os animais foram pré-medicados com acepromazina e dolantina, induzidos com propofol e mantidos em plano anestésico com o uso de isoflurano. Realizou-se anti-sepsia, em seguida realizou-se excisão cirúrgica das formações sem margem de segurança

divulsionando e ligando todos os vasos, a partir daí procedeu-se o congelamento do leito da ferida. Todas as formações foram enviadas para exame histopatológico. A criocirurgia foi realizada por meio da técnica do spray com o aparelho CRY-AC-3. O número de ciclos de congelamento-descongelamento variou de 2 a 3 e o tempo de congelamento de 30 a 60 segundos. Os tumores localizavam-se em membros torácicos (50%) e membros pélvicos (50%). Os tipos histológicos tratados pela criocirurgia consistiram de hemangioma (n=1), tumor benigno da bainha dos nervos periféricos (n=2) e tumor maligno da bainha dos nervos periféricos (n=5). Os animais foram acompanhados por um período médio de 08 meses de pós-operatório sem evidência de recidiva. A criocirurgia mostrou-se como uma técnica rápida, fácil e eficaz no tratamento de sarcomas de tecidos moles de extremidades em cães.

Células de schwann são originadas da crista neural, bem como os melanócitos. Através do microscópio de luz não se consegue distinguí-las dos fibroblastos e ambas células são capazes de sintetizar colágeno. Já através da microscopia eletrônica são identificadas através de suas íntimas relação como axônio. (GROSS, 1975)

Estudos dos tumores cutâneos de bainha nervosa benignos mostrou acometimento de faixa etária variando de 7.3 à $\pm$ 3.2 anos num total de 27 animais; dos quais 51.9% machos e 48.1% fêmeas; Quanto à topografia destacou-se num total de 27 animais: cabeça 18.6%; membro torácico 22.2%; membro pélvico: 11.1%; pescoço: 11.1%, abdômen: 14.8%, cauda: 22.2% (HENDRICK; et al., 1998).

Literatura refere-se chamar schwannoma como neurolenoma correspondente a fibroblastoma periférico em homem. Os caracterizam como neoplasias raras em cães e gatos, sendo o estabelecimento do diagnóstico baseado na presença de dois aspectos histológicos : componente mais celular mencionado acima tipo Antoni A e o componente mais frouxo (estromal) tipo Antoni B (GROSS, 1975).

Estudos dos tumores cutâneos de bainha nervosa malignos mostrou acometimento de faixa etária variando de 11.2 ± 4.1 anos num total de 44 animais; dos quais 44.3% eram machos e 55.7% fêmeas; Quanto à topografia destacou-se num total de 44 animais: cabeça 27.1%; membro torácico 34.8%; membro pélvico: 16.3%; pescoço: 3.3%, abdômen: 6.5%, tórax: 12%. (JACOBS; 1988)

Em humanos estes tumores apresentam-se dentro da bainha nervosas, entretanto sempre correlacionado com associação de um nervo periférico o que em nossos pacientes não é conhecido (KOSS, 1992).

No homem os neurolinomas mostram intensa imunomarcagem positiva por S100 o que funciona como um valioso instrumento de diferenciação entre os fibrossarcomas e leiomiossarcomas (LARKIN, 1994).

No quando histologicamente não detectamos efetivamente os tipos Antoni A e B e persistente os 'redemoinhos' or worls sobre eles mesmos e ao redor de vasos, torna-se impossível estabelecer um diagnóstico diferencial entre hemangiopericitomas e schwannomas (JACOBS; 1988)

Os neurofibromas são incomuns em cães e gatos, sendo o mais comum tumor neural no homem, podem ser múltiplos e tratam-se de herança autossômica dominante caracterizada como Von Recklinghausen's. Kalat et al.,

em estudo da evolução citogenética de um neurofibromas felino, encontrando alta proporção de células trissômicas envolvendo o cromossomo número D2 (MILLS; NIELSEM, 1967) microscopicamente apresentam-se semelhante aos schwannoma, persistindo uma matriz extracelular mucinosa com colágeno.

O tumor de bainha nervosa periférica cutânea maligno (neurofibrossarcoma, schwannoma maligno e sarcoma neurogênica) sendo seu diagnóstico diferencial difícil entre caracterização de CS, células neurais fibroblásticas e bainha nervosa (PRIESTER; 1973)

Estão presentes na pele e subcutâneo, aspecto firme e ao corte coloração cinza a esbranquiçado. Quanto à caracterização microscópica semelhante aos demais descritas anteriormente acrescido apenas de critérios expressivos de malignidade como: alto pleomorfismo e hipercromatismo e figuras de mitoses típicas e atípicas (OLGIVIE; MOORE, 1996).

A recidiva está freqüentemente presente após excisão no entanto ainda prevalece a cirurgia como terapêutica mais efetiva que a quimioterapia ou mesmo a radioterapia (PANTEKOEK, 1975; HENDRICK ; et al., 1998).

Mirra, Wang, Bhuta (1984) relatou schwannoma maligno em medula espinhal em dois cães com dois anos de idade, onde 'spindle cells' continham áreas intracitoplasmáticas com melanina, tal diagnóstico foi confirmado ultraestruturalmente visualizando os melanossomas e a CS.

Panteokoek e Schifer (1975) relatou uma caso schwannoma maligno confirmado histologicamente, comprometendo o plexo braquial em um cão labrador de 4 anos o qual manifestava atrofia muscular e claudicação do membro torácico esquerdo. A palpação notou-se massa firme e dolorosa medial a articulação escápulo-umeral. Radiográficas locais demonstraram

mineralização da massa . Exploração cirúrgica revelou envolvimento do nervo radial, axilar e tronco medial do nervo ulnar.

2.5 Controvérsias de nomenclatura

Tem-se quanto nomenclatura e definição do tumor de bainha periférica benigno da pele e subcutâneo:

Tumores dermais ou subcutâneos bem circunscritos compostos por onduladas 'spindle cells' arranjados em bandas, paliçadas e 'worts' originando de CS, fibroblastos perineurais ou ambos (PATNAIK; EHLER; MACEWEN; 1984).

A confusão e controvérsia sobre a nomenclatura desses tumores continue ainda hoje, com relatos conflitando esporadicamente na literatura certificada a origem dessas células (OSBORN; WEBER, 1983).

Classificamente o termo schwanoma é usado quando as células tumorais são somente originadas das células de Schwan. E neurofibroma quando o tumor é composto de CS e células perineurais . (PULLEY; SRANNARD, 1990).

Esta distinção pode ser ocasionalmente feita através da imunomarcacão com S100 e GFAP, outros marcadores neurais, leu 7, mas não são completamente específicos para alguns desses marcadores, definitivamente a diferenciação entre neurofibromas e CS é ainda difícil (MCCOLL; WILLIAMSON; MIDDELETON, 1998).

2.6 Pericitos

Figura 1 Micrografia eletrônica de um capilar envolto pelo pericito. (www.hjaldanamarcos.bravepages.com/unidade/unidade4/pericito.htm)

Figura 2 Microscopia eletrônica observa-se pericito envolvendo células endotelial.

São células com origem do mesoderma, associadas com a microvasculatura. Numerosos estudos intensificando a relação entre pericito e endotélio empregando técnicas ultraestrutural e imunomarcadoras. 14% das membranas celulares subendotelial são cobertas por pequenos processos citoplasmáticos. Estes contatos são identificáveis através do uso de

marcadores anti-laminina. Uma pequena fração destes contatos tem sido identificado como junções “tight” semelhantes àqueles presentes entre as células endoteliais de capilares e de algum tecido (BANDOPADHYAY et al., 2001).

Está definido que os processos pericíticos localizam-se preferencialmente nas junções entre células endoteliais. Sugerem-se em trabalhos que a alta frequência de junções de membrana entre pericito (figura 1) e endotélio e uma localização preferencial próximo às fendas paracelulares pode Ter significado funcional. Descritos pela primeira vez Anos atrás como células originárias do mesoderma o qual estão associados com a microvasculatura (figura 2) por SIMSS, 1986; e TILTON, 1991. Em vertebrados os pericitos são encontrados em capilares fenestrados e contínuos (BATTIFORA, 1973).

Avaliações fisiológicas, ultraestruturais e bioquímicas inúmeras estudando o pericito, contudo pouco se conhecem sobre suas funções. (ROUGET, 1879), sugere que os pericitos sejam responsáveis pela contração e modulação microvascular do fluxo sanguíneo através da evidencia imunoistoquímica de proteínas contráteis específicas musculares no pericito.

De acordo com Tilton (1991) pericitos são restos de “Stem cells” (células pluripotentes, com alta capacidade de diferenciação) podendo portanto se diferenciarem em células musculares e outros tipos desempenhando diversas e específicas funções.

O mesmo autor sugere a partir de tal proposta que eles desempenham funções como: atividade fagocítica, síntese de material extracelular; sustentação e resistência da parede microvascular; modulação da permeabilidade capilar ou regulação da regularização capilar

Tais funções não são exclusivamente desempenhadas pelos pericitos mas também por outras células endoteliais.

Os pericitos são células alongados e achatadas das quais encaixadas na membrana subendotelial. Eles tipicamente apresentam numerosos processos os quais envolvem a parede vascular (LARSSON, 1996).

A presença de junções do tipo GAP entre a célula endotelial e o pericito tem sido reportado. As do tipo oclusiva estão presentes principalmente nas regiões marginais dos processo dos pericitos, além das junções membranosas de aposição. Outro contato sugerido é a função aderente onde os microfilamentos e mácula densa se organizam ao longo da membrana pericitária e fibronectina que está especialmente localizada no interstício endotelial pericítico (MADEWELL, 1992; MARTINEZ, 2004).

Através de estudos imunoistoquímicos revela-se a imunorreatividade para anti-laminina e negatividade para colágeno tanto nas células endoteliais como pericito (MARQUES, 2005; MELERO, 1997).

Entretanto caracterização imunoistoquímica da parede endotelial e junções mio-endoteliais poderiam ajudar no estudo da organização molecular e estabilizar o grau de similaridade entre eles. Isto poderia ser um indício de suas potenciais funções (BATTIFORA, 1973; CHUNG, 1979; LARSSON, 1996).

Os pericitos como células presentes ao redor de ambos os sistemas endotelial vascular arterial e venoso não são por si só células musculares lisas. Fazem parte do contexto de células altamente diferenciáveis adquirindo características de músculo, fibroblasto, osteoblasto, adipócitos ou condrócito *in vitro* (DOHERTY, CALFIELD, 1999).

A maioria dos tecidos conectivos da cabeça se desenvolvem a partir da crista neural (DICTOR; ELNER; ANDERSSON, 1992)

(NCCs) presentes em população de células somente nos vertebrados. Foi mostrado em estudo que os pericitos derivam da NCC e células musculares lisas são distribuídas penetrando na porção circunscrita do sistema vascular do embrião aviário (DICTOR; ELNER; ANDERSSON, 1992).

2.7 Células de Schwann

As células de Schwann (CS) originam-se da crista neural (DICTOR; ELNER; ANDERSSON, 1992).

À diferença dos oligodendrócitos, são capazes de invadir o SNC (sistema nervoso central) para remielinizar axônios desmielinizados, sempre que os astrócitos tenham sido destruídos (LARSSON, 1996).

A remielinização por CS no SNC ocorre principalmente nos espaços subpiais e próximo a vasos sanguíneos. Apresenta-se com uma alta eficiência devido seu potencial migratório e proliferativo que é maior que os oligodendrócitos, além da demanda metabólica desta última célula ser possivelmente maior que as CS que são responsáveis apenas pela formação de um único internodo de mielina.. A remielinização por CS foi restrita às áreas destituídas de astrócitos, indicando que a ruptura da membrana limitante glial é imprescindível para a entrada de CS no SNC. Mesmo porque se torna necessário uma matriz extracelular estável (em destaque presença de colágeno) a qual estimularia sua proliferação e constituiria uma superfície

migratória para as CS. Esta deposição de matriz não só é estimulada pela presença de macrófagos, como pela presença de vários fatores estimulantes secretados pela própria CS (ISOBE, 1984).

A habilidade das CS influenciando na regeneração de ambos sistemas nervosos deriva certamente da sua capacidade de produzir uma série de fatores tróficos bem como expressar um número de moléculas de adesão celular conhecidas para influenciar o crescimento axônico. Dentre as moléculas neuróticas podemos destacar: (BDNF) fator neurótico derivado cerebral; (CNTF) fator neurótico, o que pode ser confirmado pelo crescimento do axônio mesmo a distância. Produzem também componentes da membrana celular epitelial, como a laminina. Resultados de investigação demonstram que as CS são capazes de mielinizar axônio desmielinizados na ausência de fibras colágenas do tipo usualmente utilizados por elas. Estas células então passam a sintetizar seu próprio colágeno e sustentam, umas às outras para reparar o tecido nervoso (GRAÇA; FERNANDEZ; PEREIRA, 1997).

Recentemente mostrado em estudos que as CS isoladas de um nervo adulto humano são capazes de induzir ao crescimento axonal para células ganglionares de retina de um olho cego (GROSS, 1975).

Nos nervos periféricos, a mielinização começa com a invaginação de um único axônio dentro de uma célula de Schwann; é formado então um mesaxônio. À medida que a mielinização prossegue, o mesaxônio gira em torno do axônio, envolvendo-se assim em camadas concêntricas de citoplasmas e membrana plasmática da CS (KORS, 1992).

O citoplasma é então extraído, de modo que os fatores internos da membrana plasmática se fundem um ao outro e o axônio é circundado por

múltiplas camadas de membrana que em conjunto constituem a bainha de mielina. O seguimento único de mielina produzido por cada CS é chamado de internodo; este embainha o axônio entre um nó de Ranvier e o próximo. (KORS, 1992; MELERO, 1997)

No Na micrografia (b), uma fibra nervosa mielinizada do SNP é cortada transversalmente no nível do núcleo de uma CS (S) que forma uma bainha. O axônio (A) é envolvido por muitas camadas fundidas de membrana plasmática da célula de Schwann, formando a bainha de mielina (M).

A micrografia (c) mostra que o citoplasma da célula de Schwann está ausente no interior da bainha de mielina compacta, que é constituída por muitas camadas regulares de membrana. As linhas mais escuras chamadas de linhas densas principais, surgem da fusão dos folhetos citoplasmáticos. As linhas intraperiódicas intervenientes representam os folhetos externos das membranas em íntima aposição. O conteúdo lipídico substancial dessas camadas de membrana modificadas isola o axônio (A) subjacente, impedindo os fluxos iônicos através da membrana plasmática axonal, exceto nos nós de Ranvier. O volume principal do citoplasma (C) da CS circunda a bainha de mielina. Entretanto, uma fina camada do citoplasma da CS também persiste circundando imediatamente o axônio (seta) (CHUNG, 1979; DICTOR; ELNER; ANDERSSON, 1992)

A relação dos axônios não com a sua CS de sustentação está ilustrada no desenho (A). Um ou mais axônios são longitudinalmente invaginados dentro da CS, de modo que cada axônio fica incluído num canal, revestido pela membrana plasmática da CS se aproxima a cada lado ao longo da abertura do canal, isolando efetivamente assim o axônio dentro de um compartimento

extracelular limitado pela CS. A zona de aposição da membrana da CS é chamada de mesaxônio. Observe que mais de um axônio pode ocupar um único canal dentro da CS. Cada CS se estende apenas por uma curta distância ao longo do trato nervoso e no seu término o embainhamento é continuado por outra célula de Schwann, com a qual se interdigita intimamente, extremidade com extremidade (ISOBE, 1984; KORS, 1992).

Em pequeno aumento na micrografia (B), axônios amielínicos (A) de vários tamanhos são vistos embainhados por CS; uma das CS foi cortado transversalmente através de seu núcleo (S). Observa-se o número variável de axônios incluídos em cada CS. Podem ser vistas no endoneuro delicadas extensões citoplasmáticas de fibroblastos (F) e fibrilas colágenas (C) em corte transversal (MELERO, 1997).

Em grande aumento na micrografia (C), parte do citoplasma de uma CS (S) É mostrada, embainhando vários axônios (A); os axônios são prontamente por seu conteúdo de retículo endoplasmático liso e microtúbulos, vistos em corte transversal. Vários mesaxônios M podem ser vistos. A superfície externa da CS é limitada por uma lamina externa (L), equivalente à membrana basal nos epitélios (MELERO, 1997; LARSSON,1996).

Figura 2 Microscopia eletrônica da célula de schwann (CS) , sintetizando mielina.

2.8 Imunoistoquímica (generalidades)

Tal técnica permite identificar a histogênese das neoplasias morfológicamente indiferenciadas.

Compreende no uso de anticorpos selecionados para identificar antígenos específicos nos tecidos.

Este método é muito sensível, onde as reações podem revelar pequenas quantidades de substâncias em amostras no preparado imunoistoquímico. A

ligação do anticorpo com o antígeno traduz-se por um marcador colorido no local da reação, capaz de identificar moléculas específicas nos tecidos e fornecer a natureza precisa na maioria das neoplasias (ARIZA; MAZEROLLES; SELVES, 1993).

Esta técnica também é capaz de estabelecer o sub-tipo do tumor (imuno-fenotipagem), já classificado morfológicamente, como nos linfomas, auxiliando a esclarecer o prognóstico e a terapêutica (ARMIN; CONNELLY; ROWDWN, 1983).

Pode ser realizada a partir de dois métodos: o direto e o indireto. No método direto, é utilizado um marcador visual, fluorescente ou enzimático, que permanece quimicamente ligado ao anticorpo primário, que por sua vez, é o anticorpo dirigido contra o antígeno que se quer demonstrar. No método indireto, o marcador visualizado está ligado a um anticorpo secundário, que, quando dirigido contra o anticorpo primário, fica ligado ao mesmo, amplificando a reação (BRANDTZAEG, 1982; BROOKS; 1982).

As soluções de anticorpos são produzidas a partir de soro animal total, de imunoglobulinas purificadas do resgate através de métodos cromatográficos e de anticorpos monoclonais, produzidos contra um único sítio anigênico determinado, denominado epítopo (BUSSOLATI et al., 1980).

2.8.1 Principais indicações da imunoistoquímica

A atual abrangência da imunoistoquímica inclui, de modo muito simplificado, os seguintes aspectos (BURES; BARNES; MERCER, 1981; CHASE et al., 1984; BURGDOR; DURAY; ROSAL, 1981):

1. Histogênese de neoplasias morfológicamente indiferenciadas

É a grande indicação e a grande contribuição da imunoistoquímica. Sendo as amostras adequadas e definidas com clareza as opções do diagnóstico diferencial morfológico, tal questão pode ser respondida na grande maioria das vezes

2. Sub-tipagem (Imuno-Fenotipagem) de neoplasias já classificadas à morfologia.

A imuno-fenotipagem dos linfomas é seu grande exemplo, com inferências e gênese e ao prognóstico.

Outra área de interesse crescente é o estudo de citoqueratinas e outros marcadores para sub-classificação de carcinomas. Como. Mesmo anaplásicas, células escamosas exibem sensibilidade aos programas terapêuticos deferentes das glandulares, tais análises podem contribuir com a seleção dos métodos de tratamento. É, hoje, possível, em muitos casos, a identificação da sede original até mesmo de adenocarcinomas, inicialmente encontrados em metástases. Mesmo quando a origem não fica completamente estabelecida, a redução de possibilidades e a sugestão de órgãos mais prováveis, por onde deve ser iniciada a aplicação de métodos de imagem para a busca da sede do tumor primário tem possibilitado considerável economia de tempo e de custos para o diagnóstico definitivo.

3. Produtos de síntese de células neoplásicas

Especialmente nos tumores endócrinos ou nos que apresentam “síndrome paraneoplásicas”, a identificação imunoistoquímica de moléculas produzidas pela neoplasia é de grande interesse clínico, como bem exemplificam os adenomas de hipófise, que são hoje classificados com o (S) hormônio pelas células tumorais.

4. Marcadores prognósticos

A expressão de oncoproteínas, fatores de crescimento e proteínas só encontradas em algumas fases do ciclo celular, marcadores úteis de proliferação celular, mostra-se cada vez mais importante na avaliação prognóstica e orientação terapêutica.

5. Diferenciação entre neoplasias benignas e malignas

Antigo anseio do patologista, tal “varinha de condão” ainda não foi encontrada. Vários marcadores podem, entretanto, indiretamente contribuir para tal conclusão: em tumores linfóides a positividade para *bcl.2* é achado muito mais freqüente nos linfomas foliculares que nas hiperplasias linfóides reativas. O mesmo ocorre com a caracterização de monoclonalidade através da produção de um único tipo de cadeia leve de imunoglobulina pelas células proliferadas, reforçando a hipótese de linfoma / plasmocitoma, ou a identificação de seqüências genéticas repetidas, em estudos de genética molecular. De outra parte dentro da problemática discutida nesse Manual, merece destaque a diferenciação de verdade, o que se busca nestas situações é distinção histogenética das linhagens epitelial e carcinomas, na mama e na próstata. Neste caso, a presença de células positivas para actina, proteína S.100 e citoquerina 14 define dupla população celular basais, caracterizando,

conseqüentemente, as hiperplasias. Deve-se destacar, entretanto, que tais marcadores também estariam presentes nas neoplasias destas células, como ocorre em glândulas salivares.

6. Agentes infecciosos

A pesquisa de antígenos específicos de vírus, bactérias, fungos e de protozoários pela imunoistoquímica, ou de suas seqüências gênicas por Hibridização Molecular “*insito*”, tem grande utilidade na identificação etiológica de grande numero de processos patológicos, sendo nesta área considerável a contribuição de autores brasileiros.

2.8.2 A relação custo-benefício da imunoistoquímica no conjunto de ações de avaliação diagnóstica e prognóstica

Em nosso meio, mas também em pais mais afastados, busca-se cada vez mais o aumento da resolutividade dos métodos diagnóstico simultaneamente à redução do custo global do sistema assistencial (CORSON; PINKUS, 1981).

Destaque-se, inicialmente, a adequação do numero de CH, em termos de “custo relativo”, na revisão feita em 1994 no capítulo de anatomia patológica da tabela da AMB 1992. tal modificação simplifica os procedimentos de cobrança, restringindo ao patologista a preocupação com o numero de anticorpos

necessário para a solução de cada caso. Os valores selecionados tornam o exame imunoistoquímico bem mais acessível que outras técnicas diagnósticas de resolatividade comparável (CORSON et al., 1984).

O custo-benefício tem sido considerado favorável por grandes usuários, como as principais entidades contratantes de serviço médicos, pois, além da boa resolatividade, quando bem indicado, o exame imunoistoquímico associa a prisão à redução de tempo para chegar ao diagnóstico e à instituição de terapêutica mais adequada. Outro ponto muito bem-vindo pelos clientes é a escolha mais afinada demais recursos diagnóstico como os métodos de imagem mais dirigido aos alvos selecionados (DU BULAY, 1985).

Um ponto que a patologia precisa manter em mente é que, mesmo sendo a Anatomia Patológica uma das classes de exame mais resolutivas, os custos com nossa especialidade flutuam de 1 a 3 % do total de gastos por paciente em um hospital (ELSE, 1989).

Analisando a demanda de um hospital de porte médio e complexidade secundária segundo as classificações dos sistemas sanitários, consideramos indicado o estudo imunoistoquímico em 51 dentre os primeiros 1.000 exames anatomopatológicos consecutivos do presente ano. Em outro hospital, de complexidade terciária, tal freqüência foi de 81 casos por 1.000 exames anatomopatológicos. Em qualquer das condições listadas, as indicações mais freqüentes foram à busca de histogênese de neoplasias pouco diferenciadas, o estudo de marcadores prognósticos, imuno-fenotipagens e pesquisa de agentes infecciosos, especialmente em imunossuprimidos (DEDELLIS, STERNBRGER; MANN; BANKS; NAKANE, 1979).

2.8.3 Garantia de qualidade em imunoistoquímica

É necessário, entretanto, alguns comentários de ordem genérica, lembrando inicialmente, que os conceitos atuais de “qualidade total” exigem atenção a todos os aspectos, desde a organização do laboratório, seleção de equipamentos e reagentes, seleção e formação de pessoal, indicação precisa dos exames e do painel mais adequado para cada caso, cuidados com cada etapa da reação, interpretação dos resultados e comunicação com o requisitante. De modo simplificado, podemos classificar as medidas técnicas em (GARCIA; COLTRERA; GOW, 1989; HSU; RAINE; FANGER, 1981):

A. Fase pré-analítica

A **indicação** do exame, como dissemos, precisa incluir a definição de perguntas pertinentes ao contexto clínico-morfológico, sabendo-se de antemão as vantagens e os limites da imunoistoquímica em cada situação.

A **obtenção, manuseio e envio do espécime** são fatores críticos. Aspectos relacionados à fixação e à recuperação de antígenos serão detalhados nos capítulos que se seguem. Sendo a fixação em formol e a inclusão em parafina o processamento histológico mais usado internacionalmente, que propõem que seja este o procedimento-padrão para comparação de desempenho diagnóstico das reações imunoistoquímicas.

A **seleção de metodologia mais adequada** é uma das grandes responsabilidades do Laboratório de Imunoistoquímica. Visando a simplificação dos procedimentos, reduzindo custos e oportunidade de erros técnicos, sugerimos, sempre que necessária, a recuperação antigênica por irradiação com microondas, o uso de anticorpo secundário multivalente e do sistema de amplificação do sistema streptavidina-biotinaperoxidase. É, entretanto, aproveitar judiciosamente a possibilidade de adequar a seleção de reagentes, protocolos de reação, sistemas de amplificação e detecção a condições específicas, por exemplo, os sistemas com uso de biotina, consagrados para uso geral, só com muito critério podem ser usados em tecidos muito ricos em biotina endógena, como o fígado. O excesso de peroxidase endógena nos tecidos hemato-linfóides leva vários estudiosos a escolher, nestas situações, sistemas de amplificação que empregam a fosfatase alcalina.

B. Fase analítica

A execução dos procedimentos diretamente relacionados à reação requer conhecimento, experiência e atenção continuada de toda a equipe,. recomendam que “todas as amostras que requeiram exames especiais, como a imunoistoquímica, sejam avaliados a laboratórios bem estabelecidos e equipados e especialmente, contando com pessoal altamente qualificados”.

O conhecimento das características de cada reagente, especialmente dos anticorpos, requer, em cada novo lote, nova titulação, selecionando-se a

diluição que ofereça o maior contraste “positividade verdadeira / fundo”, sendo necessária a anotação de cada procedimento no Livro de Protocolo. Tal aspecto pode parecer repetitivo, mas, para cada erro ou problema detectado a tempo poderá ser buscada uma solução mais coerente, muitas vezes ainda no curso das etapas seguintes da própria reação. Estas anotações serão, ainda, importantes em futuros Programas de Garantia de Qualidade Interlaboratorial.

A qualificação da equipe, através de cursos e treinamentos iniciais e em reciclagem é fundamental, inclusive pela necessidade de continuo aprendizado das inovações técnicas, uma característica marcante desta nossa disciplina. Também neste ponto, a integração entre os Laboratórios de Imunoistoquímica brasileiros, quer através das reuniões do Clube de Imunoistoquímica da SBP, quer através dos contactos e visitas sucessivas que estes profissionais vêm mantendo entre si e com lideres internacionais, tem tido um papel fundamental para o progresso da especialidade em nosso meio. O número crescente de laboratórios e de profissionais nessa área é uma das conseqüências positivas desta filosofia de trabalho e tal diversificação já torna aconselhável o inicio de ações mais programadas em Proficiência Laboratorial, estando já em curso estudos para tal, quem sabe através do próprio Programa de Incentivo à Qualidade, que começa a ser implementado pela Sociedade Brasileira de Patologia.

C. Fase pós-analítica

A validação dos achados requer a verificação dos padrões de reatividades dos controles positivos e negativos, internos e externos, que também deve ser anotada no Livro de Protocolo. Os controles externos devem ser incluídos em cada painel, preparados a partir de amostras fixadas nas mesmas condições dos casos em teste, e não em condições superiores, que poderiam implicar em falsa segurança da validade da reação. É ainda necessária a atenção à reatividade de estruturas presentes na própria lamina do caso em estudo que possam servir como controles positivos, como por exemplo a reatividade dos vasos para vimentina, marcadores musculares e endoteliais ou ductos mamários adjacentes a neoplasias que podem ser úteis na validação das pesquisas de receptores de estrógenos e de progesterona. De modo análogo, estruturas sabidamente negativas para um marcador oferecem excelente controle negativo interno, já que foram submetidas ao mesmo tratamento que o tecido-teste. A responsabilidade indelegável do patologista quanto à interpretação reside especialmente em identificar quais células exibem reatividade para o antígeno, as alterações morfológicas nas células reativas, bem como a distribuição intracelular do antígeno, em comparação com os padrões já relatados na literatura para cada molécula.

Mesmo que a vasta maioria dos exames imunoistoquímicos não requeira urgência absoluta, é claro que o tempo à recepção da atmosfera e o retorno do laudo ao requisitante é um fator crucial para credibilidade do método. Nossa avaliação é que este tempo deva ser sempre inferior a uma semana, aceitando-se exceções, especialmente quando os painéis não permitirem a elucidação do caso. No caso de infecções em imunossuprimidos, entretanto, muitas vezes a

análise requer urgência, já que infecções por agentes como *P.carinii* e citomegalovírus podem ocasionar o óbito em algumas horas.

Segue-se agora algumas sugestões para o preparo de um ***Laudo Padronizado em Imunoistoquímica*** (KAGAWA et al., 1983):

Logo após a identificação completa do paciente, incluindo dados do laudo morfológico original, deve ser apresentado o problema diagnóstico que motivou a interconsulta.

A natureza do espécime recebido, bloco, laminas, adesivos e especialmente, tipo e tempo de fixação devem ser explicitados.

Breve descrição dos procedimentos deve incluir os métodos de recuperação antigênica usados, bem como sistemas de amplificação e os controles.

Devido à crescente variedade de reagentes disponíveis, é fundamental a apresentação dos clones empregados, principalmente em famílias moleculares maiores, como por exemplo as citoqueratinas.

A conclusão deverá ser a mais completa possível, procurando, como assinalado, máxima integração com os aspectos clínicos e morfológicos que motivaram a interconsulta.

Conclui-se que: “Inquestionavelmente, a Patologia Molecular, em pleno desenvolvimento, fornecera ao patologista ferramentas de poder ser precedentes para abordar problemas que ao longo tempo têm resistido à análise.... Entretanto, o entusiasmo para aplicação destes métodos, particularmente a aplicação clínica rotineira, precisa necessariamente e temperada por uma avaliação sistemática de fatores que devem incluir a comparabilidade e reprodutibilidade e, em última análise, a utilidade clínica”.

2.8.4 Tumores em partes moles - abordagem imunoistoquímica

O estudo dos tumores de parte moles constitui-se em um dos tópicos mais interessantes a anatomia patológica. A real incidência destes tumores não é de fácil determinação, uma vez que as lesões benignas (10 a 100x mais freqüentes do que as malignas), na maioria das vezes, não são biopsiadas. Segundo Enzinger as partes moles podem ser definidas como “o tecido extra-esquelético não epitelial do corpo, excluindo-se o sistema retículo-endotelial, glial e o tecido de sustentação de vários órgãos parenquimatosos”. Entretanto, tal definição coloca o anatomopatologista frente a algumas questões de ordem prática: 1) E os tumores mesenquimais originários em vísceras? O que entendemos por tumores de partes moles: os que apenas aí se localizam, ou esta definição nos trás à mente uma outra definição mais abrangente de “neoplasias mesenquimais”? 2) E os tumores não mesenquimais que se alojam em partes moles tais como carcinomas, linfomas e melanomas que freqüentemente entram na vista de diagnósticos diferenciais com sarcomas aí originários? Tudo isso força a ampliar o que antes tentávamos restringir, ou seja, a nossa área de interesse; e isso explica, em parte, a quantidade de artigo e separatas que abordam este tema que a principio parece restrito. Nestes capítulo trataremos apenas dos sarcomas e seus principais diagnósticos diferenciais, excluindo as lesões benignas e pseudosarcomatosas (KAWAI et al., 1983).

Muito ainda se debate a respeito da histogênese dos sarcomas, sendo que para alguns estes tumores originaram-se de uma célula mesenquimal primitiva multi-potencial (ISOBE et al., 1984).

Os sarcomas como os carcinomas tendem a ocorrerem em indivíduos mais velhos, 40% ocorrendo acima de 55 anos, sendo os homens mais afetados que as mulheres. Como os sarcomas são raros (1% de todas as neoplasias) poucos indivíduos adquirem experiência pessoal no diagnóstico desta neoplasia, e por isto vários autores recomendam que os casos sejam remetidos ao centro de referência que possua equipes multidisciplinares treinadas no manuseio destes pacientes. O cirurgião menos familiarizado com estes tumores pode se enganar com a aparente boa delimitação de alguns sarcomas (presença de pseudocápsulas) e incorrer no erro de apenas e nuclear tais lesões (KAWAI; et al., 1983).

Estes tumores podem ser estudados por uma série de métodos, inclusive pelo imunoistoquímico, se constitui em objeto de estudo deste trabalho. No nosso laboratório optamos por trabalhar com o sistema ABC ou StABC que permite, graças à alta afinidade da biotina com a avidina e a estrepto-avidina amplificar a reação, tornando-a mais sensível. Como sabemos, a preservação da antigenicidade tecidual é inversamente proporcional à duração da fixação por formaldeído. Alguns filamentos intermediários como a desmina e a vimentina são particularmente sensíveis à fixação prolongada. Alguns autores têm preconizado o uso da vimentina como controle interno da qualidade de fixação da amostra. O uso da digestão enzimática proteolítica tripsina ou outra protease tem sido utilizada para aumentar a imunorreatividade do material fixado em formol e embebido em parafina. Atualmente o uso de microondas

tem resgatado esta antigenicidade em uma série de anticorpos testados e temos utilizado esta técnica rotineiramente em nosso laboratório. A escolha da amostra a ser submetida a análise imunoistoquímica é fundamental e, sempre que possível, pode contar com controles internos dos antígenos estudados. Entretanto devemos ter em mente que o tecido normal pode ter uma maior densidade do antígeno que o tecido neoplásico, resultado daí falso negativo com controles internos positivos. Outra questão que devemos ter em mente é que os anticorpos policlonais (que reconhecem epítomos diferentes do antígeno) podem levar a mais resultados falso positivo (menor especificidade) do que os anticorpos monoclonais (MAB), que reconhecem apenas um epítomo no antígeno. Entretanto pelo fato dos MAB reconhecerem apenas um epítomo, qualquer modificação nesse sítio de ligação durante o processo neoplásico pode alterar a positividade do anticorpo (ISOBE et al., 1984).

Em relação aos sarcomas o método imunoistoquímico tem sido utilizado basicamente para duas finalidades: 1) caracterizar a histogênese da neoplasia, excluindo os diagnósticos diferenciais; 2) com o fator prognóstico, analisando a expressão de oncogenes (ex *p.53*) e antígenos de proliferação celular (ex *KI67* e *PCNA*) (KORSRUD; BRANDTZAEG, 1982).

Torna-se mais fácil dividir tais tumores em grupos patológicos baseados no seu aspecto em cortes, corados pela hematoxina e eosina, assim teríamos: 1) neoplasias malignas de pequenas células redondas; 2) neoplasias fusiformes; 3) neoplasias de padrões alveolar e epitelióide; 4) neoplasias pleomórficas.

Como esta é uma classificação de ordem didática e não histogenética, algumas entidades podem ser de difícil separação bem como aspectos devem ser superponíveis, citamos o exemplo dos tumores vasculares e pericíticos que

podem se apresentar com os aspectos de células pequenas, fusiformes e epitelióides (KINDBLOM; JACOBSON, 1982).

2.8.5 Neoplasias malignas de pequenas células

Os principais tumores deste grupo são: rabdomiossarcoma, lipossarcoma de pequenas células e hemangiopericitomas, como seguintes diagnósticos histológicos diferenciais: o carcinoma de pequenas células, sarcoma de Ewing e Tumor Neuroectodérmico (PNET) sarcoma granulocítico, linfoma não Hodgkin e neuroblastoma metastático. Todas as entidades são tumores de alto grau de malignidade, cujo diagnóstico preciso da histogênese da neoplasia é requisito para o tratamento correto e adoção de protocolos específicos para cada tipo de tumor (MELEO, 1997).

O rabdomiossarcoma é o sarcoma de partes moles mais comum na infância e seu diagnóstico depende da identificação morfológica e imunoistoquímica de diferenciação muscular. A presença de rabdomioblastos diferenciados e estrias transversais é um achado inconstante, presente em menos de 50% dos tumores. Em material de biópsia com amostragem reduzida ou quando a neoplasia é composta por pequenas células pouco diferenciadas quase sem citoplasma, o método imunoistoquímico é fundamental para o diagnóstico preciso da neoplasia. Esses tumores consistentemente expressam vimentina, filamento intermediário de 57 Kd, presente no cito-esqueleto na maioria das células mesenquimais. Este antígeno também pode estar presente em carcinomas (principalmente tumores da tireóide, mama, rim, endométrio,

pulmão e supra-renal, melanomas e mesoteliomas). Serve ainda como um excelente controle de fixação do tecido pelo fato do anticorpo reconhecer um epítopo sensível à fixação prolongada. Está presente em, virtualmente, em todos os sarcomas humanos, principalmente se fixados em álcool (MIDDLETON; DURAY; MERINO, 1998).

Os rabdomiossarcomas expressam mais especificamente desmina, actinas e mioglobina. A desmina, filamento intermediário de 53 Kd está presente em todas as células musculares estriadas e na maioria das células musculares lisas. Está associada à banda Z, e segundo observações de Battifora é mais sensível à fixação com formol podendo resultar daí falso negativo. Com o advento dos métodos de recuperação antígeno aplicando micro-ondas temos obtidos bons e encorajadores resultados, sendo, ao nosso ver, elevada a reatividade dos rabdomiossarcomas para desmina com esta nova técnica. Tal ganho de sensibilidade é bem vindo por ser a desmina um dos marcadores mais específicos das linhagens musculares (MIETTINEN, 1988; MIETTINEN; VIRTANEN; 1984).

As actinas são microfilamentos compostos por seqüências de aminoácidos que podem ser separados por eletroforese em 6 isoformas, as quais tem peso molecular de 42 Kd e podem ser agrupadas em 3 subunidades: alfa (muscular), beta (não muscular) e gama (células musculares e não musculares). Como a desmina as actinas são associadas à banda Z. Existe 3 isoformas da actina alfa (esquelética, cardíaca e de músculo liso). O HHF35 anticorpo desenvolvido por Allen Gown, reage com a actina alfa e gama, reconhecendo células musculares estriadas e lisas. O antígeno detectado é altamente resistente a fixação prolongada e apresenta um alta sensibilidade. Entretanto resultados

falso positivos podem ser obtidos, quando o anticorpo não é previamente diluído em EDTA (5). Além disso, miofibroblastos, células endoteliais e pericíticas podem exibir reatividade e este anticorpo . Sua sensibilidade em identificar rabdomiossarcomas tem se mostrado freqüentemente superior ou equivalente a desmina e, sem dúvida nenhuma, superior à mioglobina (MIETTINEN; 1988; MIETTINEN; VIRTANEN; 1984).

A mioglobina é um dos marcadores mais antigos de rabdomiossarcomas, sendo sua reatividade mais restrita a células musculares estriadas. Parece haver uma correspondência entre o grau de diferenciação e a imunexpressão, sendo os rabdomioblastos mais diferenciados positivos enquanto os indiferenciados tendem a ser negativos. Esta característica reduz a utilidade do uso deste marcador, já que as dificuldades de diagnóstico são nas neoplasias mais indiferenciadas (MIRRA; WANG; BHUTA, 1984).

Os lipossarcomas de pequenas células são neoplasias raras. A formação de lipidez intracelular que caracteriza os tumores lipoblásticos é escassa nestas neoplasias. A alta celularidade tumoral obscurece a trama vascular de fundo, também característica destes tumores. Não há, até este momento, qualquer marcador realmente específico para linhagens lipoblásticas. A presença de vimentina no citoplasma e de proteína S100 no núcleo e citoplasma pode ser na sugestão de origem lipoblástica, especialmente diante da negatividade para marcadores melanocíticos com o HMB45. Entretanto, muitas vezes tumores lipoblásticos pouco diferenciados, apresentam resultados variáveis para vimentina e proteína S100, estando seu diagnóstico por vezes baseado na exclusão dos diferenciais (MUCKAI; SCHOLLMEYER; ROSL, 1981).

O diagnóstico histológico de hemangiopericitoma, para muitos autores, tem sido um diagnóstico de exclusão, sendo que o padrão descrito como clássico de células tumorais pequenas, delimitando espaços vasculares ramificados (“Staghorn pattern”), não é específico, estando presente por exemplo em sarcomas sinoviais, condrossarcomas mesenquimais e fibrohistiocitomas malignos (10 e 27). Do ponto de vista imunoistoquímico, além da positividade para vimentina e negatividade para citoqueratinas, proteína S100 e marcadores endoteliais como Fator VIII, CD31 e CD34, pode haver positividade inconstante para HHF35, não existindo, entretanto, um marcador característico desta neoplasia, o seu diagnóstico está condicionado à exclusão dos demais e ao aspecto de reticulina (MUKAI; ROSAL; BURGDORF, 1980).

Com relação aos linfomas/leucemias utilizaremos, inicialmente, para triagens o antígeno leucocitário comum CD45 (LCA) que é uma glicoproteína associada à membrana de alto peso molecular, expressa na maioria das neoplasias leucocitárias (34). Quando o padrão histológico é de neoplasia com alta coesividade celular, com marcante anaplasia, é útil pesquisar também a proteína CD30, que exibe reatividade em membrana celular ou em glóbulos paranucleares em linfomas anaplásicos, dentre os quais 40% são negativos para o CD45 (MOORE; MADEWELL, 1989).

O antígeno leucocitário comum (LCA) está também presente em linfócitos normais, devendo a positividade para o anticorpo ser interpretada com cautela, a fim de que tumores ricos em linfócitos não sejam interpretados como linfomas. Resultados falso negativos também podem ocorrer, uma vez que a fixação prolongada altera o epítopo reconhecido por este MAB. A contra-prova

utilizando anticorpo anti-vimentina como controle de fixação do tecido é recomendado (NAKAZATO et al., 1982).

Do ponto de vista prático este anticorpo constitui-se em um marcador altamente específico para leucócitos (O' ROURKE, 1983).

Após uma triagem inicial com este MAB é possível, mesmo em material parafinado, uma subtipagem utilizando-se marcadores para linfócitos T e B. Assim os principais anticorpos para linfócitos T são o CD45 RO (UCHL1) e CD3 e para linfócitos B o CD20 (L26), sendo que, para alguns autores, o CD3 é melhor do que o UCHL1 por ser mais específico (ORDRONNEAU; LINDSTROM; PETRUSZ, 1981).

O sarcoma granulocítico (cloroma) também pode expressar o LCA, sendo importante a pesquisa de lisozima em tumores cujo aspecto, morfologia e os dados clínicos sejam compatíveis com esta hipótese (NARITOKU; TAYLOR, 1982)

Outros marcadores que também podem ser pesquisados em parafina nos tumores hematopoiéticos são CD15 (Leu MI) e o CD30 (BERH2). Tais antígenos são considerados úteis na classificação das leucemias, na doença de Hodgkin e linfomas não Hodgkin Os neuroblastos metastáticos são tumores que incidem no grupo pediátrico (a 3ª. Neoplasia sólida na infância), sendo composto por células primitivas (neuroblastos) em estágios diferentes de maturação, podendo ou não à microscopia óptica evidenciar-se a presença de pseudo-rosetas e matriz de aspecto fibrilar. Tais neoplasias apresentam em geral, forte reatividade citoplasmática para enolase neurônio específica (NSE) que é uma isoenzima dímera, formada por 3 subunidades: alfa, beta e gama, sendo as duas principais enzimas citoplasmáticas presentes em numerosas

linhagens celulares. Já a gamam está presente em células neuroendócrinas e neurônio e em neoplasias desta linhagem de diferenciação. Anticorpos policlonais, apesar de altamente sensíveis, não são muito específicos, podendo-se obter positividade em linfomas não Hodgkin e carcinomas não neuroendócrinos. Battifora e Cols recomendam o uso da enolase monoclonal muito mais específica, apesar de um pouco menos sensível em detectar tumores do tipo neuroblastoma e correlatos. Usa-se quase sempre o anticorpo A589 da Dako, sempre dentro de painéis com outros anticorpos, para evitar o diagnóstico excessivo de diferenciação neuroendócrina (NATHRATH; MEISTER, 1982).

Em relação aos carcinomas recomendamos o uso de, soluções (coquetéis) contendo anticorpos reativos para o maior número possível de citoqueratinas de alto e baixo peso molecular tendo a solução AE1/AE3 demonstrando, em grande número de lâminas avaliadas no Instituto Adolfo Lutz alta sensibilidade e especificidade (NARITOKU; TAYLOR, 1982).

Estes anticorpos são também extremamente úteis em distinguir carcinomas neuroendócrinos de pequenas células. Os Carcinomas neuroendócrinos expressam Cam 5.2 (cit 8/18) em Pontos paranucleares, além da positividade concomitante com NSE e muitas vezes sinaptofisina e cromogranina (NAKAGJI; et al., 1982).

Atualmente, para diagnóstico de Sarcoma de Ewing e PNET, utilizamos MAB da Signet 013, que reconhece a glicoproteína p30/32, com alta sensibilidade e boa especificidade. Há, entretanto, ocasionais resultados falso positivos, principalmente com linfomas linfoblásticos (PEREZ; BAUTISTA; ROLLÓN, 1996).

Acredita-se que o uso da imunoistoquímica complementando o diagnóstico morfológico deve lançar mão de painéis de anticorpos, visando ao favorecimento ou à exclusão de determinadas possibilidades apontadas à morfologia. Com este pensamento, diante de um quadro de neoplasias malignas de pequenas células redondas, sugerimos o emprego de pelo menos 7 anticorpos numa abordagem inicial. São eles: a vimentina LCA (CD45), actina (HHF35), Citoqueratina (AE1 AE3), NSE, p30/32 e proteína S100 (NARITOKU; TAYLOR, 1982).

Estes achados para hemangiopericitoma respectivamente para estes anticorpos mostra o seguinte resultado : (+; -; +/-; -; -; -; -;).

2.8.6 Tumores de células fusiformes

Os principais tumores com este padrão histológico são: fibrossarcomas, leiomiossarcomas, tumores fibro-histiocíticos, neurofibrossarcomas, sarcomas sinoviais e sarcoma de Kaposi (PORTER; BIGLER; MCNUTT, 1991).

Com relação aos fibrossarcomas não existem ainda anticorpos específicos para este tipo de neoplasia, disponível comercialmente. Assim, do ponto de vista imunoistoquímico, seu diagnóstico baseia-se mais na reatividade para vimentina que realça sua morfologia fibrilar, além da positividade para vários tipos de colágeno, especialmente o colágeno IV, bem como na negatividade para os demais marcadores excluindo os outros tumores diferenciais (NARITOKU; TAYLOR, 1982).

Quanto aos tumores com diferenciação muscular, recomendamos o uso de isoformas de actina e desmina (5). Destaque-se, inclusive, a disponibilidade de pelo menos um anticorpo específico para alfa-actina de músculo liso (1^a4, sigma ou Dako). Em relação aos tumores fibro-histiocíticos existe uma controvérsia na literatura acerca de sua real incidência. Do ponto de vista imunoistoquímico ainda não existe anticorpos altamente específicos, portanto não existe um “perfil” que seja “patognomônico” desta entidade. Estas neoplasias são ricas em vimentina, e CD68, lisozima, alfa 1 anti-tripsina e alfa-quimiotripsina, além do marcador macrofágico HAM (5, 10, 18 e 27). Nenhum destes antígenos, entretanto, é absolutamente específico para tal neoplásica (NARITOKU; TAYLOR, 1982).

Deve-se levar em consideração na interpretação dos resultados, pois a presença de histiócitos reacionais ao redor dos tumores poderá levar a interpretações falso positivas (PRIESTER; MANTEL, 1971; NARITOKU; TAYLOR, 1982).

Os sarcomas sinoviais, sejam bifásicos ou monofásicos, caracterizam-se pela co-expressão de citoqueratina e vimentina, como já discutido anteriormente. Os tumores de bainha nervosa periférica expressam, além da vimentina, a proteína S100 que recebe este nome por ser 100% solúvel em sulfato de amônia, uma proteína de baixo peso molecular pertencente ao grupo das calmodulinas (família das proteínas lizadoras da Ca⁺⁺), presente em numerosas células tais como, células de Schwann, melanócitos, células de Langerhans, histiócitos, condrócitos e lipócitos, além de células mio epiteliais (RUAUX; 1993).

A proteína básica mielínica (MBP) tem sido usada como marcador de neoplasias de bainha nervosa periférica, bem como o receptor de fator de +crescimento do nervo (NGFR), tendo este último resultados superiores ao primeiro (18). Um outro marcador que foi inicialmente descrito como reconhecendo células natural-Killer, o CD57 HNK1 (Leu 7) reconhece uma glicoproteína lábil associada à mielina sendo também útil neste tipo de neoplasia (NARITOKU; TAYLOR, 1982).

Recomenda-se o emprego da proteína S100 dentro de um contexto de anticorpos em um painel imunoistoquímico. Como, muitas vezes, melanoma metastático entra no diagnóstico diferencial deste tipo de neoplasia, podemos ainda utilizar o HMB45 (antígeno específico para melanoma). Este MAB produzido por A. Gown é positivo e bastante específico para melanócitos e melanomas, incluindo os amelanóticos que justamente suscitam diagnóstico diferencial com sarcomas de partes moles. O Sarcoma de Kaposi, caracterizado por apresentar celular fusiformes e fendas (ou espaços vasculares), onde freqüentemente encontramos hemácias e pigmentos de hemossiderina. Do ponto de vista imunoistoquímico as células que revestem os canais vasculares apresentam-se positivas para os antígenos de diferenciação endotelial, sendo a positividade nas células fusiformes variável. Os principais marcadores de endoteliais são o antígeno associado ao Fator VIII, a proteína CD34, além do antígeno relacionado à célula hematopoiética primitiva, marcado pelo anticorpo BNH9 e a reatividade à aglutinina I do *Ulex europaeus* (RUAUX, 1993).

Pelo exposto acima nos parece razoável, frente a um termo com predomínio histológico de padrão fusocelular propõe o seguinte painel inicial de

triagem: vimentina, proteína S100, HHF35 (ou desmina), AE1/AE3, Ham 56 e Fator VIII (ou CD34).

2.9 Marcadores de proliferação celular

PCNA (Antígeno de proliferação celular)

Define-se PCNA como o antígeno nuclear de proliferação celular, descrito primeiramente por quem o definiram como um auto-anticorpo contra o antígeno nuclear em células proliferantes de pacientes com Lupus Eritematoso Sistêmico (SIMON; ENNEKING, 1976).

Vall (1988) designaram-no como “Clínica-D”, através da observação do aparecimento cíclico desta proteína nuclear durante estágios proliferativos do ciclo celular de células normais e transformadas .

O PCNA é originalmente definido como um polipeptídeo intranuclear com peso molecular igual a 36 kD, presente em todas as fases do ciclo celular, todavia atingindo o máximo de sua síntese em cerca de três vezes na sua concentração, durante a fase S do ciclo (VILLIERS; BONN; RUBINSTEIN, 1984).

Além disso, estudos indicam que o PCNA é uma proteína acessória da polimerase delta, necessária para a síntese de DNA, para conseqüente progressão do ciclo celular, através de procedimentos de replicação in vitro do vírus SV40 isolado de macacos (WASEEM, 1991).Atualmente, a estrutura e a

seqüência e gene humano para o antígeno de proliferação celular nuclear, tem sido elucidadas

O anticorpo monoclonal de camundongo anti-PCNA reage com todas as células dos tecidos humanos em atividade proliferativa. Tal anticorpo monoclonal pode ser utilizado em secções histológicas embebidas em parafina, pós-fixação em formalina, isto reflete a avaliação de grande número de casos, uma Vaz que existe grande capacidade de reação do anticorpo monoclonal com epítomos antigênicos à fixação, permitindo assim, o seu emprego em material parafinizado da rotina laboratorial e também possibilitando estudos retrospectivos de blocos de parafina previamente arquivados (THOOLEN; VOS, 1992).

Alem disso as secções histológicas podem ser submetidas a uma ampla variedade de técnicas imunoistoquímicas como procedimento com imunoperoxidase, métodos com o sistema avidina-biotina e fosfatase alcalina-anti-fosfatase alcalina. O anticorpo monoclonal anti-PCNA pode ainda ser empregado em material previamente congelado, após fixação em formalina tamponada a 4% (por 3 minutos) e, posteriormente, etanol (por 10 minutos), e em estudos com Citometria de fluxo (através de técnica indireta) (2). A sua estocagem é recomendável em recipiente fechado, cor âmbar à temperatura de 4 a 8 °C (TOKES; GENDLER; DERMER, 1981).

O padrão de positividade é nuclear, podendo ocorrer diferenças na intensidade de marcação, em decorrência da expressão distintas nas diferentes fases do ciclo celular, portanto, maior positividade nuclear para as células que se encontram na fase S do ciclo celular (TOSOKOS; HOWARD; COSTA, 1983).

O tecido padrão para controle de imunopositividade é amídala humana, por ser ideal em virtude de grande atividade proliferativa das regiões centro-foliculares. As limitações da técnica quanto ao seu emprego, são referentes ao preparo de qualquer material histológico, isto é, a má fixação de artefatos de processamento (TYLER; 1999).

O uso de anticorpos monoclonados anti-PCNA é de extrema importância prognóstica, através da avaliação da atividade de diferentes neoplasias humanas, como por exemplo, Linfomas não Hodgkin, contudo seu emprego em carcinomas mamários, ainda é controverso (3, 4). Estudos comparativos entre tecidos normais, imediatamente adjacentes às lesões neoplásicas epiteliais e a avaliação prognóstica de alguns tumores de partes moles, como os Hemangiopericitomas, constituem outros exemplos de aplicação. Um aspecto interessante a ser focado é a avaliação da atividade proliferativa através dos anticorpos-monoclonais anti-PCNA, observando-se nítida correlação com os dados convencionais obtidos como por exemplo, a contagem mitótica, às vezes, superior àqueles através do Método de Citometria de Fluxo (URBACH; BURKE; TRAENKLE, 1957).

Ki – 67

Historicamente, o Ki-67 foi produzido por Gerdes et al. (1983), na Universidade de Kiel, Alemanha, sendo como anticorpo monoclonal de camundongo, obtido através da 67a. placa de cultura em tecido. Desta forma, em decorrência de sua localização e à cidade de origem, seu nome foi a estas atribuído (VAIL; WITHROW, 1996).

Até o momento, a estrutura química do antígeno conhecido e reagente com o Ki-67 é desconhecida. Em experimentos que se de digestão enzimática, verificou-se que o antígeno é altamente susceptível ao tratamento com protease, sendo extraído por solução de 0,1N de HCl, indicado que este é uma proteína não histônica. Por indução de lise celular, observou-se que indiretamente, seu peso molecular oscila em torno 345-395 kD (SLATER; REILLY, 1986).

O anticorpo monoclonal reage com o antígeno nuclear, que está presente em células que exibem atividade proliferativa, contudo encontra-se ausente em células quiescentes. Portanto, a expressão antigênica é negativa nas fases G₀ e G₁ precoce do ciclo celular e positiva durante todo o restante do ciclo, atingindo níveis máximos nas fases G₂ e M (SMITH et al., 1959).

A avaliação da proliferação celular em neoplasias humanas, através do emprego de anticorpo monoclonais Ki-67, tem sido comparada às aquelas obtidas por métodos histológicos convencionais de rotina, como o Índice Mitótico e grau nuclear (2). Há também nítida correlação prognóstica entre a identificação da atividade proliferativa pela imunodeteção do antígeno correspondente Ki-67 em diferentes neoplasias humanas, como por exemplo, Linfomas não

Hodgkin, Adenocarcinomas Colônico-Retais, Carcinomas de Próstata e Mama, Melanomas, entre outros (STOUT; MURRAY, 1942).

O emprego de rotina de anticorpos monoclonais Ki-67 é limitado pelo fato de exigir espécimes obtidas a fresco ou congeladas. Outros fatores limitantes para a imunoidentificação do Ki-67 são (THOMAS; FOX, 1998):

*Espécime submetidos à quimioterapia previa: há evidencia de diminuição de receptores antigênicos para Ki-67;

*Neoplasias com crescimento rápido, levando a carência nutricional celular, com conseqüente alteração do numero de receptores .

Recentemente, Tyler (1999) introduziu uma nova técnica para imunoidentificação porções recombinantes do antígeno Ki-67, através do emprego dos anticorpos monoclonais

Mib-1 e Mib-3 em cortes histológicos de espécimes embebidos em parafina, com o processamento destes em forno de micro-ondas (material fixado previamente em solução tamponada de formaldeído a 4%) através desta técnica, os autores garantem a possibilidade de estudos retrospectivos de material bloqueado em parafina e armazenando até cerca de 60 anos. Além disso identificam a possibilidade do emprego em espécimes submetidas à descalcificação e a despigmentação melânica (WOLD; HOMBURGUER, 1981).

Portanto a viabilização do seu emprego em cortes embebidos em parafina, aliado ao emprego do método de PCNA, permite a avaliação da atividade proliferativa das células neoplásicas com conseqüente avaliação prognóstica de diferentes cânceres humanos (WOODS et al., 1991).

2.10 Fatores prognósticos

Vários estudos vem sendo realizados com o propósito de identificar fatores prognósticos adicionais, semiquantitativos que mais precisamente correlacionem com estas condições; isto poderia inclusive diminuir bastante ou mesmo eliminar critérios histológicos subjetivos usados pelos patologistas para conferir o grau do tumor. Atualmente estas publicações abordam métodos de avaliação da atividade proliferativa celular e suas relações com potenciais de metastatização, recorrência e mortalidade em vários tipos de neoplasias (Y; DOI, 1988).

Para melhor entendimento de alguns métodos que avaliam a atividade proliferativa, torna-se necessário que se exponha resumidamente a seguir o ciclo celular segundo (ZINKL; Y; DOI, 1981) a mitose é a fase do ciclo celular que vai desde a condensação cromossômica (prófase) até a divisão completa da célula original em duas filhas resultantes (citocinese). Após a mitose, as centromeres entram em um período durante o qual são produzidas varias moléculas (RNAs, proteínas, lípidos, polissacarídeos) necessárias ao seu próprio metabolismo e às futuras divisões; este período ativo é chamado de G₁ (originário de Gap=intervalo). Segue-se uma fase de síntese e duplicação do DNA nuclear, chamada de S (síntese); novamente outro intervalo, relativamente inativo, chamado de fase G₂ cujo final culmina com uma nova mitose. O ciclo celular e o período compreendido entre duas mitoses e a sua duração depende da fase G₁, que varia de acordo com o tipo de tecido. No processo de diferenciação muitas células abandonam o ciclo a partir de G₁,

para um estagio chamado Go, o qual pode perdurar indefinidamente sem progredir para a fase S.

Geralmente nas células humanas em proliferação o período de mitose é curto, cerca de 30 a 90 minutos; a fase S tem aproximadamente 8 a 30 horas, tanto na célula normal quanto na neoplásica, e a fase GII também é curta, com 30 a 60 minutos; a maior variabilidade de duração encontra-se na fase GI. (RUAAUX, 1993)

O índice de Timidina Marcada (TLI- Thymidine Labelling Index) é uma porcentagem das células tumorais que se encontram em fase S do ciclo celular, de síntese do DNA; é medido **in vitro** incubando-se tecido tumoral fresco em um meio contendo timidina tritiada, a qual é incorporada ao DNA. Posteriormente são feitas autorradiografias e contam-se as células marcadas comparando-as com as não marcadas, as quais se encontram em fase de repouso do ciclo celular, obtendo-se o valor do índice (JOHNSON, 1961) foram os primeiros a adotarem esta técnica para o estudo de tecido mamário, demonstrando em TLI elevado em fibroadenomas. Desde então as atenções voltaram-se para o papel do TLI como possível indicador prognóstico do câncer de mama. Alguns tem relatado uma correlação significativa entre níveis elevados de TLI e recorrência precoce do câncer mamário após mastectomia. Valores elevados de TLI foram também observados em mucosa colônica normal de pacientes com história familiar de polipose e neoplasia do intestino grosso, sendo que alguns autores propõem o uso de TLI como marcador no caso de pacientes com predisposição familiar para o câncer cólico. Outros estudos de cinética celular usando o TLI tem sido realizados em vários tipos de tumores, mostrando que nos sarcomas ele é geralmente menor

do que em outras neoplasias como tumores hematopoiéticos e carcinomas, embora o prognóstico para os pacientes com sarcoma tenha sido pior. Isto sugere a necessidade de marcadores de atividade proliferativa mais sensíveis para os sarcomas, do que o TLI. De forma geral, o seu uso como indicador da atividade proliferativa tumoral tem suas limitações; ele documenta o número de células na fase S, mas não mede a duração desta fase, sendo possível o tumor ter um ritmo baixo de proliferação e alto de TLI. Outra questão reside na possibilidade de avaliações subjetivas por parte do observador, que podem conduzir interpretações errôneas dos resultados. Além disso, existe a necessidade de promover a incorporação da timidina em tecido fresco, o processo consome muito tempo, necessita de autorradiografias, não se constituindo em uma técnica de utilização rotineira (RUSSEL et al., 1977).

A fase S do ciclo celular também pode ser avaliada com o uso da bromodeoxiuridina (BUDR). É um análogo da pirimidina que rapidamente é incorporado pela célula durante a síntese de DNA. Ela é amplamente utilizada no tratamento radioterápico de tumores malignos, porque aumenta a sensibilidade celular dos Raios-X. Existem vários anticorpos monoclonais disponíveis que coram por métodos imunoistoquímicos as células tumorais expostas a Budr. As células coradas são contadas através do microscópio expressas em porcentagem, obtendo-se o índice de Budr. Estudo com carcinoma gástrico mostrou um alto índice de BudR nos locais de invasão pelo tumor; naqueles no estadio I, o índice foi estatisticamente menor do que nos estadio II, III, IV. Este método apresenta vantagem sobre o TLI pelo fato de ser um agente terapêutico e os estudos da cinética celular poderem ser realizados

in vivo sem a introdução de outros procedimentos, e a exposição a compostos radioativos é evitada (RUSSEL et al.,1985).

Outro método baseia-se na identificação das regiões organizadoras nucleolares (NORS-Nuclear Organizer Regions) que são alças de DNA localizadas nos cromossomos acrocêntricos que podem ser identificadas por meio da reação das porções argirofílicas dos seus componentes protéicos como um marcador que contém prata- A .Este processo ficou conhecido como técnica de AgNOR, e pode ser aplicada em tecidos bloqueados em parafina. Nos tecidos submetidos à reação, os AgNORS são reconhecidos como pontos pretos dentro do nucléolo. A contagem dos AgNors em tumores vem sendo usada de forma crescente com o objetivo de determinar grau de malignidade e em alguns casos na tentativa de relacioná-la com o prognóstico. Linfomas de alto grau tem contagem elevada de AgNORS em relação aos de baixo grau. Outros estudos tem mostrado diferenças significativas de contagens de AgNORS entre determinadas lesões melanocíticas benignas e malignas casos de sarcomas, encontraram diferença estatisticamente significante das contagens de AgNORS entre tumores de baixo grau (GI) e alto grau (GIII). Entretanto até o momento ainda existem dúvidas sobre o verdadeiro significado da contagem dos AgNORS. Pelo fato de estarem ligados aos cromossomos pode haver diferenças que variam com as fases do ciclo celular. Os estudos ainda são discrepantes quanto ao valor dos AgNors como marcadores da atividade celular proliferativa, e a confirmação dos resultados e suas aplicações práticas dependem de novas avaliações (FINNIE; BOSTOCK, 1979).

A citometria de fluxo é uma técnica automatizada que permite quantificar o conteúdo celular de diversas substancias, incluindo o DNA, bem como

determinar a sua distribuição durante o ciclo celular . Uma suspensão de células é preparada a partir de uma amostra tecidual, de líquidos cavitários ou sangue, e são coradas com substancias fluorescentes específicas para o DNA; a seguir esta suspensão atravessa um dispositivo luminoso que excita estes corantes e a luz dissipada pelas células é captada por detectores próprios para as substancias fluorescentes. Ela então é transformada em sinais eletrônicos que são processados por um computador. Desta análise resulta um histograma, que é a curva de distribuição da quantidade de DNA por célula, expressa em um gráfico onde a abscissa representa a quantidade de DNA e a coordenada o número de células. Do histograma de DNA são extraídas uma série de medidas. O conteúdo celular de DNA, que é chamado de ploidia, e expresso em termos de índices de DNA. Ele representa a razão entre as fases G0 e G1 das células a serem estudadas em relação a um controle de células diplóides. Um conjunto delas tem um índice de Dna igual a 1; células com índice igual a 2 são tetraplóides, e células com curva de base larga e irregular são aneuplóides ou poliplóides. A citometria de fluxo pode ser realizada tanto em tecidos frescos como em tecidos emblocados em parafina (GARCIA; COLTRETA; COWN, 1989).

Estudos em sarcomas da ploidia do DNA obtidos pela citometria de fluxo, tem mostrado correlação com o grau e com o prognósticos. Ao analisarem 54 pacientes com tumores de partes moles (8 tumores benignos e 46 malignos) observaram que o índice de DNA associou-se ao grau de malignidade; os tumores benignos, os de grau 1, grau 2 e 3, apresentaram um índice de DNA aneuplóide de 14%, 25%, 42% e 86%, respectivamente.

Em 148 casos estudados de sarcomas de alto grau, observaram que o índice aneuplóide de DNA constituiu-se em um fator prognóstico independente, juntamente com o grau histológico (HOLUND; CLAUSEN; CLEMMENSEN, 1982).

O anticorpo monoclonal Ki-67 que reage com o antígeno nuclear que se expressa em todas as fases do ciclo celular, exceto Go, tem revelado como marcador de atividade proliferativa celular, identificado imunoistoquimicamente pela técnica de imunoperoxidase, em vários tipos de tumores, como os de mama, pulmão e linfomas. (HSU; REE, 1983)

Avaliaram 29 pacientes com fibrohistiocitoma maligno, encontraram uma forte correlação entre o índice de Ki-67 e o grau histológico entretanto, não houve uma correlação estatisticamente significativa entre o índice de Ki-67 e a sobrevida (KAHN et al., 1983).

Outros autores concluem que o índice de Ki-67 tem importância como marcador tumoral e como fator prognóstico, devendo ser considerado como mais um integrante dos sistemas de graduação de sarcomas (KAWAI; NOGUCHI; BEPPU, 1994).

A ciclina é uma proteína nuclear de 36.000 daltons, cujos níveis oscilam durante o ciclo celular, onde foi demonstrado por MATHEWS et al. (1984) que o estudado em culturas de células e identificado com o anticorpo específico apresenta durante o ciclo celular flutuações no seu nível e distribuição com forte acumulação nucleolar na fase G1 e no início da fase S, comportamento este igual ao da ciclina; concluem que o PCNA e a ciclina são idênticos na localização subcelular, no comportamento eletroforético, na composição peptídica e nas propriedades biológicas. Baseados nestes resultados, os

autores sugerem que seja empregado o nome de PCNA ao invés de ciclina, quando se fizer referencia ou uso destes marcadores. O resultado prático desta descoberta é a possibilidade de estudo da proliferação celular por método imunoistoquímico utilizando-se um anticorpo anti PCNA.

Demonstraram a relação entre PCNA e ciclina e a síntese de DNA por meio de imunodifusão e imunofluorescência avaliadas em linfócitos com o uso de anticorpos específicos e imunofluorescência aplicados em células amnióticas humanas, apresentaram um estudo pormenorizado da distribuição do PCNA/ciclina durante o ciclo celular. Mostraram a relação direta entre a porcentagem de células em síntese de DNA, avaliadas pelo método da incorporação da timidina marcada com trítio e porcentagem de células coradas (PCNA positivas) (NARITOKU; TAYLOR, 1982).

O PCNA foi identificado por método imunoistoquímico (avidina-biotina-peroxidase) em tecidos emblocados em parafina provenientes de 64 pacientes portadores de tumores maligno, e de outros tecidos benignos que sabidamente continham células em proliferação; os núcleos corados (PCNA positivos) distribuíram-se randomicamente e variam de 1% a 20% nas células neoplásicas e, em geral, houve uma correlação entre esta positividade com a atividade mitótica e com o grau histológico (ROBBINS et al, 1987). Os autores concluem que o PCNA poderia Ter utilidade como marcador de atividade celular proliferativa e como fator prognóstico em neoplasias, havendo, porém, necessidade da confirmação destas suposição em estudos futuros.

Garcia et al. (1989), estudando retrospectivamente 41 tumores, demonstraram que é possível obter informações da cinética celular a partir de tecidos fixados em parafina, com método imunoistoquímico (biotina-

estreptovidina-peroxidase) utilizando anticorpo anti-PCNA; os resultados correlacionaram-se aos obtidos paralelamente pela citometria de fluxo. A aplicação deste método também foi utilizada por JAIN et al. (1991) que, ao estudarem 93 casos de carcinoma gástrico com o uso do anticorpo anti-PCNA (PC10), baseados no índice de PCNA, mostram que pacientes com valores acima da média de 41%, tiveram tendência a um prognóstico pior. Posteriormente DERVAN et al. (1991) estudaram 35 tumores e 11 amostras de tecido normal com o uso de PC10; os resultados foram comparados com os obtidos utilizando o Ki-67 em tecidos frescos não fixados em formol e parafina. Houve uma forte correlação entre as contagens celulares obtidas como uso do anti-PCNA e o Ki-67; além disso a positividade dos antígenos ligados à proliferação celular é avaliada mais facilmente nos tecidos fixados em formol e parafina do que nos obtidos a fresco. Provavelmente este fato decorre da melhor conservação tecidual conseguida pela fixação em formol. Woods et al. (1991), em 31 linfomas gastrintestinais encontraram uma correlação significativa entre os valores do PCNA e grau histológico ($0.01 > p > 0.001$) (YU et al.; WILLIS et al.; 1992; BROOKS; KOBOS, 1993).

Portanto isso assume uma importância muito grande nos sarcomas, onde os sistemas de graduação utilizam-se de alguns critérios ainda subjetivos. Embora o conteúdo de DNA e o índice do Ki-67 tem se mostrado como possíveis fatores prognósticos a sua utilização rotineira fica comprometida por custos ainda elevados e limitações técnicas, como para Ki-67 que é avaliado em tecidos frescos congelados. Este fato limita seu uso em trabalhos retrospectivos (PEREZ; BAUTISTA; ROLLON, 1996).

As informações do uso do PCNA como marcador da atividade proliferativa celular nos sarcomas são escassas (YU et al.; WILLIS et al.; 1992; BROOKS; KOBOS, 1993) havendo a necessidade da extensão do seu estudo. Desta maneira supõe-se que pelo fato de aspectos importantes da cinética celular poderem ser recuperados de blocos fixados em formol e parafinados, por ser o anticorpo anti-PCNA disponível comercialmente e a reação da imunoperoxidase um método utilizado rotineiramente em nosso meio, a sua utilização poderá contribuir para a investigação de vários aspectos destes tumores.

3 OBJETIVOS

Hemangiopericitoma (HP) é um tumor de partes moles primeiramente descrito em humano por Stout e Murray em 1942, sendo descritos em cães (CHP), quatro anos depois.

Trata-se de tumores cutâneos manifestando-se em humanos e cães de vida adulta sendo mais freqüentemente encontrado em pernas e membros posteriores respectivamente. HP em humanos tem sido encontrado em localizações não cutâneas, entretanto em cães exclusivamente considerado um tumor de pele e tecido subcutâneo.

A origem celular suposta é o pericito. Em humanos por enquanto a origem este tumor tem sido estabilizado com base na imunoistoquímica e ultraestrutura do tumor, bem como se mostra constante nas investigações do perfil destas células tumorais.

A histogênese deste tumor no cão não está clara, onde a origem a partir dos pericitos não está definitivamente confirmada. Estudos recentes (PEREZ; 1996) utilizando imunoistoquímica em 45 casos de CHP e outros tumores de partes moles analisando a expressão de marcadores teciduais neste tumor.

O diagnóstico da CHP é de conhecimento confuso dependendo da experiência de cada patologista, mesmo porque estas células tumorais carecem de aspectos morfológicos identificáveis.

Em humanos estes tumores consistem em finos pacotes celulares com núcleo oval e com moderada quantidade citoplasma com bordos definidos,

parede delgada ramificando ao redor de canais de linhagem endotelial vascular.

Raramente estas são áreas spindle cell (em fuso, casca de cebola, caracol), mas nunca se arranjam ao longo de bandas e fascículos como no fibrossarcoma ou sarcoma sinovial. Sendo portanto, confundidos freqüentemente com outros tumores como: sarcoma sinovial, histiocitoma fibroso maligno, angiossarcoma, todos os tipos que podem mostrar vasos ramificando.

Microscopicamente os CHP tem aparência com uma “impressão digital” principal que muitas vezes podem ser encontradas em outros tecidos tumorais dos quais: Schwannoma; fibrossarcoma; leiomiossarcoma; histiocitomas fibroso cutâneo, assim temos um diagnóstico diferencial muito difícil desta neoplasia.

Toda esta dificuldade em encontrar uma diferenciação morfológica e imunoistoquímica destes tumores de partes moles tem guiado o uso do termo “spindle cells” de tumores de partes moles caninos para incluir este grupo de lesões.

O CHP apresenta sobretudo uma alta taxa de recorrência sendo incomum a metástase. Contudo a influencia histológica e da expressão de imunomarcadores tumorais sobre o comportamento tumoral não tem sido investigada ainda de forma extensiva.

Desse modo temos como proposta:

Estudar morfolologicamente não só o hemangiopericitoma canino bem como suas subclassificações;

Estudar epidemiologicamente a manifestação dos CHP através de dados como (idade, sexo, topografia, raça, alimentação, macroscopia da lesão,

recidiva, associação com outras neoplasias e metástase). Dessa forma, contribuir de forma positiva com a literatura brasileira específica da área.

Caracterizar a expressão de imunomarcadores em cada um dos três tipos histológicos dos hemangiopericitomas caninos;

Estudar a expressão imunoistoquímica do PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) nos subtipos histológicos do CHP.

Avaliar em cada subtipo histológico dos CHP o comportamento entre as variações histológicas prognósticas, utilizando para isso as relações alcançadas com o PCNA e:

Mitose

Apoptose

Celularidade

Coletar dados referentes à recidiva local da neoplasia, através de entrevista com proprietário após a terapêutica instituída e correlacionar com a graduação comportamental do PCNA, efetivando assim um prognóstico entre os três subtipos dos hemangiopericitomas caninos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Serão apresentados a seguir, os materiais e métodos utilizados para a caracterização dos casos de hemangiopericitomas caninos em cães e determinação dos diagnósticos diferenciais e prognósticos desta neoplasia.

4.1 Estudo histopatológico hemangiopericitomas e schwannomas em cães

Foi realizada uma consulta aos arquivos do Serviço de Anatomia Patológica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, desde 1990 a 2003.

Desse modo foi realizada a recuperação dos blocos e lâminas correspondentes aos tumores diagnosticados hemangiopericitomas ou neurofibromas, sendo todo material submetido ao exame histológico previamente fixado em solução formol líquido a 10% saturado. As lâminas foram preparadas de acordo com processo de rotina, que consiste de em desidratação em álcool etílico, clareamento pelo xilol e impregnação e inclusão em parafina, seguido de cortes histológicos por microtomia manual, com espessura de 5 micrômetros. A coloração utilizada foi a hematoxilina-eosina. As lâminas foram examinadas em microscópio óptico

Os casos com diagnóstico histopatológico confirmado para hemangiopericitoma e neurofibromas ou schwannomas e neurofibrossarcomas

encontrados no levantamento foram re-examinados, sendo realizada a descrição histopatológica dos mesmos, de acordo Goldschmidt and Shofer.

Foi necessário para a realização desta reavaliação, analisar também os diagnósticos de neurofibromas e afins devido à morfologia destes serem semelhantes as do hemangiopericitomas o que leva muitas vezes a dificuldade de se elaborar um correto diagnóstico morfológico destas neoplasias.

Após a reavaliação microscópica obteve-se 76 casos de hemangiopericitomas e 17 casos de sarcomas inconclusivos. Dos quais (35) hemangiopericitomas perivascular, (20) hemangiopericitomas estoriformes, (21) hemangiopericitomas epitelióides. Os sarcomas inconclusivos serão submetidos à marcação imunoistoquímica na tentativa posterior de confirmação diagnóstica. Os critérios utilizados para resultarem nesta classificação histológica forma:

camadas de células fusiformes arranjadas de forma concêntrica ao redor de um lúmen central (“spindle-shaped”), caracterizando o “fingerprint” (HPV),

feixes de células fusiformes organizados de formas de fascículos multidirecionais, com aspecto de “roda de carro” (carthwell) (HES);

células apresentando núcleos grandes e vesiculares, citoplasma extensivamente eosinofílicos e grande quantidade de colágeno associado com aspectos estoriformes e perivasculares

em massas tumorais grandes onde foram encontrados uma mistura destes critérios morfológicos de classificação, prevaleceu-se o aspecto morfológico mais pronunciado para alcançar a diferenciação e classificação dos mesmo.

Neoplasias onde observou-se presença de “spindle-shaped” e “redemoinhos” com ausência de lúmen central associados a áreas

extremamente celulares (antoni A), ora fibrilares (antoni B) foram classificados como sarcomas inconclusivos.

4.2 Estudos retrospectivo-sistemático dos casos de hemangiopericitomas, neurofibromas e neurossarcomas em cães

Foi realizada uma consulta aos arquivos do Serviço de Anatomia Patológica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, desde 1990 a 2003, relacionando-se todos os casos de hemangiopericitomas, neurofibromas e neurossarcomas em cães. Foram especialmente enfocados os dados de sexo, raça e idade dos cães acometidos, bem como a localização, macroscopia, terapêutica aplicada e o comportamento do crescimento neoplásico. Tais dados foram tabulados e representados graficamente, através Programa Excel.

4.3 Imunoistoquímica

Como relatado acima os casos classificados como sarcomas inconclusivos foram submetidos à marcação por imunoistoquímica, utilizando como primários os seguintes anticorpos: vimentina, proteína S-100, enolase neurônio - específica (Gfap), Fator XVIII, CD- 34 e citoqueratina.

Para tanto, amostras de hemangiopericitomas e neurofibromas serão selecionados, e lâminas adicionais em branco serão obtidas de cada caso. As

lâminas serão desparafinadas, hidratadas, e submetidas à recuperação antigênica em forno de microondas, fervendo-se as lâminas em tampão citrato. Em seguida, as mesmas serão submetidas a bloqueio da peroxidase endógena, através do tratamento com peróxido de hidrogênio em álcool metílico durante 30 minutos. As lâminas serão, então, incubadas durante um noite em câmara úmida, a 4°C, com o anticorpo primário. Após esse período, as lâminas serão lavadas em PBS e incubadas com o anticorpo secundário biotinilado anti-imunoglobulinas de camundongos, por 1 hora, em temperatura ambiente. Segue-se a incubação com o complexo estreptavidina-biotina-peroxidase, por uma hora, em temperatura ambiente, e a revelação com solução contendo diaminobenzidina (DAB) e peróxido de hidrogênio. As lâminas serão contracoradas com hematoxilina.

As soluções tampões utilizadas nas reações foram:

Solução salina tamponada com fosfatos (PBS) 0,01M pH 7.4 20x concentrada:

cloreto de sódio.....	160,00g
fosfato de sódio, monobásico, anidro.....	27,31g
fosfato de sódio, dibásico, 2 H ₂ O.....	4,86g
água destilada, q.s.p.....	1 litro
para uso diluir 1/20 em água destilada e acertar o PH	

Tampão tris 1 M (solução estoque):

trizma base.....121,10g
 água destilada, q.s.p.....1 litro

Tampão tris 0,1 M pH 9.5

tris 1 M.....100 ml
 água destilada.....800 ml
 ajustar o pH e completar o volume para 1 litro

Tampão tris-HCl 0,05 M pH 7.4

tris 1 M.....50 ml
 água destilada.....850 ml
 ajustar o pH com HCl 1N e completar o volume para 1 litro

20x SSC (Standard saline citrate) – solução estoque:**cloreto de sódio 3 M e ácido cítrico 0,3M**

cloreto de sódio.....175,30g
 ácido cítrico, sal trissódico, $2\text{H}_2\text{O}$88,23g
 água destilada, q.s.p.....1 litro

Tampão 0,2x SSC

20x SSC.....10 ml
 água destilada.....990 ml
 ajustar o pH para 7.0

Tampão citrato 10 mM pH 6.0

Ácido cítrico, monohidrato..... 2,1 g

Água destilada..... 1 litro

Acertar o pH com OHNa 2N

Solução de Tripsina 0,03% pH 7.8

Tripsina..... 0,03 g

Cloreto de cálcio.....0,134 g

Tampão PBS.....100 ml

Acertar o pH com OHNa 1N

Solução de formalina 10% tamponada (Formol neutro)

Formalina 37-40%..... 100 ml

Fosfato de sódio monobásico, monohidratado..... 40 g

Fosfato de sódio dibásico, anidro..... 6,5 g

Marcadores imunoistoquímicos utilizados

1-citoqueratinas, coquetel AE1/AE3: é utilizado na demonstração da natureza epitelial de tumores morfológicamente indiferenciados. Quase todos os carcinomas são positivos para esta reação, exceto os tumores de córtex da adrenal e carcinoma hepatocelular. Meningiomas, mesoteliomas, sarcoma epitelióide e sinovial também são positivos quando utilizado este preparado de anticorpos.

Uma grande proporção do citoplasma dos vertebrados está representada por componentes do citoesqueleto, incluindo microfilamentos, microtúbulos, e os filamentos intermediários. Os elementos mais relacionados com a diferenciação celular, segundo sua composição específica são os filamentos intermediários. Embora todos os filamentos desta categoria sejam morfológicamente idênticos nos diferentes tipos de células, critérios imunológicos e bioquímicos distinguem cinco diferentes tipos de células, critérios imunológicos e bioquímicos distinguem cinco diferentes tipos de filamentos intermediários: citoqueratinas, vimentina, neurofilamentos, desmina e proteína ácida fibrilar glial (GFAP)

Em contraste com estes filamentos, os filamentos de citoqueratina são compostos por proteínas relacionadas porém não idênticas à alfa queratina epidérmica e constituem uma família complexa de muitos polipeptídios.

Estas citoqueratinas que mostram semelhanças bioquímicas e imunológicas em graus variados, são expressas em diferentes epitélios e com diferentes combinações de polipeptídios.

As citoqueratinas foram classificadas em dois grandes grupos de acordo com o seu peso molecular e ponto isoelétrica: grupo A (tipo I), compreendendo as citoqueratinas de número de Moll 9 a 19, com ponto isoelétrico relativamente ácido e grupo B (tipo II), compreendendo as citoqueratinas de número de Moll 1 a 8, com ponto relativamente básico.

Com exceção da citoqueratina 19, que é de menor peso molecular, cada citoqueratina do grupo A possui um membro correspondente no grupo . Os pares são feitos a partir das citoqueratinas 8 e 18 que são as de menor peso molecular e são encontradas em quantidades significativas em epitélio simples.

É descrita também a expressão anômala de citoqueratinas em células não epiteliais, como no casos dos leiomiossarcomas, angiossarcomas epitelióides, sarcomas sinoviais e sarcoma epitelióide.

Tal fato pode ser explicado por uma alteração gênica, com a desrepressão do gene envolvido na síntese de citoqueratinas, portanto é indicado sempre o uso de painéis de anticorpos para confirmar outra linhagem que não a epitelial.

Como princípios técnicos para o uso das citoqueratinas tem-se que: em tecidos fixados em formalina é recomendada a digestão enzimática; o uso de fixadores alcoólicos como o Carnoy ou Methacarn, possibilita melhores resultados com esses marcadores e dispensa a pré-digestão enzimática.

Portanto as citoqueratinas são fundamentais e específicas para firmar o diagnóstico dos carcinomas, ajudando na classificação dos mesmos, além de definir prováveis sítios primários em adenocarcinomas metastáticos.

2- Vimentina (V9): é um filamento intermediário típico das células mesenquimais, ou seja, dos sarcomas. Tem sido usado como controle e qualidade de diversas reações imunoistoquímicas, no casos das neoplasias mamárias, sendo os epítomos de proteínas receptoras hormonais e de oncoproteínas altamente sensíveis a fixação, tal procedimento tem se mostrado especialmente útil. Adicionalmente, uma pequena fração (mais de 50%) das células epiteliais tumorais, e este achado tem sido relacionado a pior prognóstico.

3- proteína S-100 (policlonal): se encontra em uma grande variedade de células normais, como melanócitos, histiócitos, célula de schwann, células de Langerhans, condrócitos, lipócitos, além de células epiteliais. Podendo se expressar portanto nos tumores correspondentes. Apresenta positividade para

todos os melanomas e evidencia a diferenciação para a bainha do nervo periférico. Sta proteína recebe este nome por ser 100% solúvel em sulfato de amônia, uma proteína de baixo peso molecular pertencente ao grupo de calmodulinas (família das proteínas lisadoras de cálcio)

Fator VIII: marcador imunológico reagente com as células neoplásicas vasculares.

É uma glicoproteína plasmática, presentes em megacarióticas, plaquetas e células endoteliais, tem sido reportada ultimamente também em mastócitos. **In vitro** estudos mostram que as células endoteliais podem produzir e secretar proteína fator VIII..

CD34: marcador de células hematopoiéticas primitivas (precursor hematopoiético mais indiferenciado) e de células endoteliais, apresenta positividade tanto para tumores vasculares benignos, como malignos.

GFAP (proteína ácida fibrilar glial): filamento intermediário relacionado com a diferenciação celular, segundo sua composição específica. E encontrado em células gliais ependima, caracterizando portanto os astrocitomas e ependimomas.

Anticorpos utilizados e respectiva diluição:

Anticorpo	Fornecedor	Diluição
anti-vimentina policlonal coelho	Dako, Glostrup, Denmark	1:200
proteína ácida fibrilar antiglial policlonal coelho	Dako	1:200
antígeno anti-CD34 monoclonal rato	Dako *	(1:40; 1:60; 1:100, 1:200)
anti-S100 policlonal coelho	Dako	1:200
antígeno antifator VIII policlonal coelho	Dako	1:200
anti-citoqueratina coquetel policlonal coelho	Dako #	1:40

*Diversas diluições foram testadas deste anticorpo específico

Anticorpo antigo

4.4 Estudo da proliferação celular.

A proliferação celular dos três subtipos dos CHP foram avaliadas pela marcação dos núcleos de células em proliferação com anticorpos anti-PCNA (antígeno nuclear de proliferação celular), nos cortes histológicos descritos anteriormente. A técnica empregada, descrita abaixo, seguiu a metodologia de Hsu, Raine e Fanger (1981).

Os cortes histológicos foram processados pelas técnicas usuais de desparafinação em xilol e hidratação em seqüência de álcoois (absoluto, 95% e 70%) e água destilada. Para a recuperação antigênica, as lâminas foram fervidas em solução tampão citrato por 12 minutos em forno de microondas.

Após o resfriamento, as lâminas foram lavadas 3 vezes com PBS. A peroxidase endógena foi bloqueada pela incubação, por 30 minutos, em solução contendo 80% de álcool metílico e 20% de peróxido de hidrogênio 30 volumes. Em seguida, as lâminas foram lavadas 3 vezes com PBS.

Os cortes foram incubados com o anticorpo anti-PCNA na diluição de 1:1600, durante uma noite em câmara úmida a 4o C. A solução de diluição do anticorpo era composta de 0,5 mL de azida sódica a 5%, 0,25mL de albumina bovina e 12 mL de PBS.

A etapa seguinte consistiu da incubação com anticorpo secundário, sendo utilizado o kit LSAB. Os cortes foram incubados com solução contendo antiimunoglobulina de camundongo biotinilada por 30 minutos, sendo então lavados 3 vezes com PBS. Em seguida foram incubados com solução contendo complexo estreptavidina-peroxidase, por 30 minutos, sendo então lavados 3 vezes com PBS.

A revelação foi feita aplicando-se sobre os cortes, por 1 minuto, 200 l de solução de diaminobenzidina a 0,05% em PBS. Imediatamente antes da utilização, acrescentou-se 0,75 l de peróxido de hidrogênio 30 volumes por ml da solução cromógena. Em seguida as lâminas foram lavadas 2 vezes com PBS e 1 vez com água destilada, contracoradas pela hematoxilina por 1 minuto, desidratadas, diafanizadas e montadas com resina sintética e lamínula.

4.5 Quantificação da proliferação celular

A proliferação celular (fase S do ciclo celular) foi quantificada por meio da contagem do número de núcleos positivos para o PCNA, em microscópio de luz, utilizando objetiva de 20x. Para cada subclassificação de CHP, foram contadas as células presentes nos 6 quadrantes centrais de 8 campos escolhidos ao acaso, conforme ilustra a figura 26.

A porcentagem de células PCNA positivas foi calculada ($\% \text{ células PCNA positivas} = \text{número de células PCNA positivas} \times 100 / \text{número de células totais}$), sendo contado no mínimo 1000 células totais de cada lâmina de cada subtipo analisado. As células positivas para o PCNA presentes nos 6 quadrantes centrais estão indicadas com numerais (figura 26).

4.6 Análise Estatística

As diferenças entre as médias das células positivas para o PCNA nos três subtipos de hemangiopericitomas foram avaliadas através do teste t de Student, considerando-se $p < 0.05$.

5 RESULTADOS

A seguir, serão apresentados os resultados obtidos no levantamento dos casos de hemangiopericitomas caninos, no estudo das casuísticas e dados epidemiológicos; graduação histopatológica, imunoistoquímica, proliferação celular (Pcna); contagem de critérios de malignidade; comparação clínica terapêutica e prognóstica.

5.1 Classificação histopatológica dos CHP

Foram recuperados 77 casos de CHP dos Arquivos do Serviço de Patologia Animal da FMVZ/USP durante o período proposto (1990-2003) dos quais (35) deles foram diagnosticados histologicamente como tipo perivascular, representando 45.5% de todos os casos; (20) do tipo estoriforme, representando 25.9%; (22) do tipo epitelióide, representando 28.57% de todos os casos.

17 casos foram classificados como sarcomas inconclusivos, considerando duvidoso o diagnóstico histológico, os quais não se enquadravam nas normas morfológicas específicas e descritas anteriormente segundo Goldschmidt and Shofer, sendo posteriormente avaliados através do painel imunoistoquímico.

5.2 Casuística e epidemiologia dos três subtipos de CHP (HPV, HES, HEP) respectivamente

Os itens a seguir mostram a distribuição percentual sexual, etária, topográfica, alimentação, raças e macroscopia (tamanho) da neoplasia dos 3 tipos de CHP.

Os HPV acometeram 60% das fêmeas e 40% dos machos.

Gráfico 1 - Distribuição sexual do HPV

A distribuição etária dos HPV acometeram 60% dos pacientes entre 05-10 anos; 37% os de 0-5 anos e 37% os acima de 10 anos.

Gráfico 2 - Distribuição etária dos HPV

A distribuição topográfica da neoplasia se manifestou em 37% dos membros torácicos (MT); 25% dos membros pélvicos (MP); 11% no tórax; 0.6% em dígito e cervical 0.3% períneo, lombar e ncc (não consta dados) .

Gráfico 3 - Distribuição topográfica do HPV

A distribuição alimentar mostrou 54% dos animais se alimentam de ração comercial exclusivamente; 31% de alimentação caseira e ração comercial; 15% não foi informado e previamente anotado na ficha clínica do animal.

Gráfico 4 - Distribuição da alimentação dos HPV

A distribuição racial revelou acometimento de :31% dos SRD (sem raça definida) 25% Pastor Alemão; 14% Poodle; 0.8% Boxer; .5% Husky, Pinscher; 0.3% Labrador, Afhan e Fila Brasileiro.

Distribuição por raças do HPV (Gráfico 5)

A distribuição revelou 40% neoplasias entre 5-10 cm; 30% de 0-5cm; 20% ncd; 10% acima de 10 cm.

Gráfico 6 - Distribuição Macroscópica (tamanho) do HPV

Os HES acometeram 75% das fêmeas e 25% dos machos.

Gráfico 7 - Distribuição sexual do HES

A distribuição etária dos HES acometeram 50% dos pacientes entre 05-10 anos; 10% os de 0-5 anos e 40% os acima de 10 anos.

Gráfico 8 - Distribuição etária dos HES

A distribuição topográfica da neoplasia se manifestou em 33% dos membros torácicos (MT); 42% dos membros pélvicos (MP); 0.5% no tórax; 0.5% em dígito, cervical períneo, costal .

Gráfico 9 - Distribuição topográfica do HES

A distribuição alimentar mostrou que 70% dos animais se alimentam de ração comercial exclusivamente; 25% de alimentação caseira e ração comercial; 0.5% apenas alimentação caseira.

Gráfico 10 - Distribuição da alimentação dos HES

A distribuição racial revelou acometimento de: 50% dos SRD (sem raça definida); 15% Boxer; 0.5% Rottweiler,, Husky, Poodle, Akita e Collie; 10% Dobermann.

Gráfico 11 - Distribuição por raças do HES

A distribuição revelou 55% neoplasias entre 0-5 cm; 35% de 5-10cm; 20% ncd; 0.5% acima de 10 cm e 0.5% ncc.

Gráfico 12 - Distribuição Macroscópica (tamanho) do HES

Os HEP acometeram 60% das fêmeas e 40% dos machos

Gráfico 13 - Distribuição sexual do HEP

A distribuição etária dos HEP acometeram 54% dos pacientes entre 05-10 anos; 10% os de 0-5 anos e 36% os acima de 10 anos.

Gráfico 14 - Distribuição etária dos HEP

A distribuição topográfica da neoplasia se manifestou em 38% dos membros pélvicos (MP); 33% em membros torácicos (MT); 0.5% esternal, flanco, hemitórax, dígito; 0.9% pavilhão auricular.

Gráfico 15 - Distribuição topográfica do HEP

A distribuição alimentar mostrou 35% dos animais se alimentam de ração comercial exclusivamente; 30% de alimentação caseira e ração comercial; 10% apenas alimentação caseira., 25% ncd.

Gráfico 16 - Distribuição da alimentação dos HEP

A distribuição racial revelou acometimento de : 18% Boxer; 30% SRD; 18% Husky; 0.9% Pastor Belga e Poodle, 0.4% Pitbull, Setter irlandês, Whippet.

Gráfico 17 - Distribuição por raças do HEP

A distribuição revelou 25% neoplasias entre 0-5 cm; 45% de 5-10cm; 30% acima de 10 cm .

Gráfico 18 - Distribuição Macroscópica (tamanho) do HEP

5.3 Casuística e epidemiologia dos sarcomas inconclusivos

Segue-se através dos Gráficos (20, 21, 22, 23, 24, 25) a distribuição sexual, etária, topográfica, racial, alimentar, macroscópica respectivamente dessas neoplasias.

Gráfico 19- Distribuição por sexo dos sarcomas inconclusivos

Gráfico 20 - Distribuição etária dos sarcomas inconclusivos

Gráfico 21- Distribuição topográfica nos sarcomas inconclusivos

Gráfico 22- Distribuição alimentar nos sarcomas inconclusivos

Gráfico 24 - Distribuição da macroscopia (tamanho) dos sarcomas inconclusivos

5.4 Análise do painel imunoistoquímico nos sarcomas inconclusivos, HPV, HES, HEP, neurofibromas e neurofibrossarcoma

Foi considerada marcação positiva (+) as neoplasias que expressaram a imunorreatividade citoplasmática na maioria das células tumorais; desse modo considerou-se (+/-) as quais apresentaram raras células tumorais reativas; e finalmente negativas as células tumorais que não expressaram a imunomarcação.

A seguir painel utilizado e seus resultados (Tabela 1):

Tabela 1- Resultados da imunomarcação comparativa nas neoplasias diagnosticadas morfológicamente como: sarcomas inconclusivos; hemangiopericitomas perivascular (HPV), estoriforme (HES) e epitelióide (HEP); neurofibrossarcomas e neurofibromas.

(Continua)

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	CADASTRO	FVIII	S100	Vimentina	Citoqueratina	GFA P	CD34
Sarcoma inconclusivo	37852	(+)	+	(+)	(-)	(+/-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	39910	(+/-)	+	(+)	(-/+)	(+/-)	(+/-)
Sarcoma inconclusivo	41986	(+)	+	(+)	(-)	(-)	(-/+)
Sarcoma inconclusivo	40580	(+)	(-/+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	40120	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	42916	(-/+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	41608	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	40187	(+/-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	40118	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	39478	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	34766	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
Sarcoma inconclusivo	41427	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(+/-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	39091	(-)	(+)	(+/-)	(-)	(+/-)	(-/+)
Sarcoma inconclusivo	34356	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(+/-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	36017	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(+/-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	35453	(+/-)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Sarcoma inconclusivo	336	(+/-)	(+)	(+)	(+/-)	(-)	(-)
HPV	39478	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	31952	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	37973	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	40695	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	39281	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)

(Conclusão)

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	CADASTRO	FVIII	S10 0	Vimentina	Citoqueratina	GFA P	CD34
HPV	37412	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	41277	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	38952	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-/+)
HPV	39059	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	38595	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	39910	(+)	(+)	(+)	(-/+)	(+/-)	(-/+)
HPV	39955	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	38309	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
HPV	40333	(+)	(+)	(+)	(-)	(+/-)	(-/+)
HPV	37656	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	38014	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	39309	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	41989	(+/-)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	41441	(+/-)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	40082	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
Estoriforme	35453	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	42854	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	34075	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	42378	(+)	(-/+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Estoriforme	42002	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Epitelióide	39349	(+/-)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Epitelióide	34097	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Epitelióide	40884	(-/+)	(-/+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Epitelióide	41219	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Epitelióide	39363	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Epitelióide	39522	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+/-)
Epitelióide	39090	(+/-)	(+)	(+)	(-)	(+/-)	(-/+)
Epitelióide	41282	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Epitelióide	27804	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
Epitelióide	40638	(+)	(+/-)	(+)	(-)	(-)	(-)
neurofibrossarcoma	40695	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
neurofibrossarcoma	37328	(-)	(+)	(+)	(-)	(+/-)	
neurofibrossarcoma	39059	(-)	(+)	(+)	(-)	(+/-)	
neurofibrossarcoma	33397	(-)	(+)	(+)	(-)	(-/+)	
neurofibrossarcoma	39952	(-)	(+)	(+)	(-)	(-/+)	
neurofibrossarcoma	40377	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	
neurofibroma	42855	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	
neurofibroma	41641	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	
neurofibroma	39022	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	
Neurofibroma	34776	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	
Neurofibroma	34444	(-)	(+)	(+)	(-)	(+/-)	

Dos 17 casos de sarcomas inconclusivos, 9/17 (53%) foram positivos par F8; 3/17 (18%) negativos e 5/17 fracamente positivos (29%); 12/17 (71%) positivos para S100 e 5/17 fracamente positivos para S100; 16/17 (94%) foram positivos para vimentina, 1/17 fracamente positivo (6%); 15/17 (88%) negativos para citoqueratina (88%), 2/17 fracamente positivos para citoqueratina (12%); 1/17 positivo para GFAP (6%); 6/17 fracamente positivo para GFAP (35%), 10/17 negativos para GFAP (59%); 14/17 negativos para CD34 (82%), 3/17 (18%) fracamente positivos para CD34 .

Dos 15 casos de HPV 15 foram positivos para F8 (100%); 9/15 positivos para S100 (60%); 4/15 (27%) fracamente positivos para S100 e 2/15 negativos para S100 (13%); 15/15 positivos para vimentina (100%); 14/15 negativos para citoqueratina (93%), 1/15 fracamente positivo para citoqueratina (7%); 1/15 (7%) positivo para GFAP, 2/15 fracamente positivos para GFAP (13%), 12/15 negativos para GFAP (80%); 3/15 fracamente positivos para CD34 (20%), 12/15 negativos para CD34 (80%). Dos 10 casos de HES 7 foram positivos para F8 (70%), 2/10 (20%) fracamente positivo para F8, 1/10 (10%) negativo para F8; 5/10 (50%) positivos para S100, 4/10 fracamente positivos (40%) para S100, 1/10 (10%) negativo para S100; 15/15 (100%) de positividade para vimentina; 10/10 (100%) negativos para citoqueratina e GFAP. Dos 10 casos de HEP 7 foram positivos para F8 (70%), 3/10 fracamente positivos (30%) para F8; 4/10 (40%) positivos para S100, 3/10 (30%) fracamente positivos para S100, 3/10 negativos (30%) para S100; 9/10 (90%) positivos para vimentina, 1/10 (10) negativos para vimentina; 10/10 (100%) negativos para citoqueratina, 9/10 (90%) negativos par GFAP, 1/10 (10%) fracamente positivo para GFAP e 2/10 (20%) fracamente positivos para CD34, 8/10 (80%) negativos para CD34.

A utilização de marcação do painel para os neurofibromas e neurofibrossarcomas teve papel exclusivamente comparativo para a investigação histogênica dos CHP. Dos quais 5/5 dos neurofibromas foram positivos em 100 % para o S100, 0/5 negativos para F8, citoqueratina e CD34 (100%); 5/5 (100%) positivos para vimentina; 4/5 (80% de positividade par GFAP, 1/5 (20%) fracamente positivos para GFAP. Para os neurofibrossarcomas temos 6/6 (100%) negativos para F8, citoqueratina e CD34; 6/6 (100%) positivos para vimentina; 4/6(67%) fracamente positivos para GFAP, 2/6 (33%) positivos para GFAP).

5.4.1 Análise do imunomarcção em cada subtipo histopatológico do CHP:

A tabela abaixo aponta de forma mais específica a imunomarcção para subtipo dos CHP, onde tanto HPV, HES, HEP, mostraram imunorreatividade forma generalizada, acentuada para vimentina e FVIII, moderada para S100, leve para CD34 e não reativa para GFAP e citoqueratina.

Tabela 2- Marcação imunoistoquímica nas diferentes subclassificações em 35 casos de hemangiopericitomas

Classificação Histológica	Vimentina	FVIII	S-100	CD34	GFAP	Citoqueratina
HPV	15/15	15/15	9/15	1/15	0/15	0/15
HES	10/10	7/10	5/10	1/10	0/10	0/10
HEP	9/10	7/10	3/10	0/10	0/10	0/10

5.4.2 Casuística prognóstica

Refere-se prognóstico clínico a dados pertinentes a recidiva da neoplasia após a instituição de uma terapêutica recomendada e específica para cada caso.

Após consultar via telefone a maioria dos casos e pessoalmente a minoria alcançou-se os seguintes resultados frente ao prognóstico clínico de cada tipo de CHP respectivamente (Tabela 3) (Tabela 4) (Tabela 5):

Tabela 3 - Resultados relacionados com o prognóstico dos casos de Hemangiopericitoma perivascular

R*	NR**	NCC***
6/35 (17%)	24/35 (69%)	5/35 (14%)

R*=recidiva

NR**=não recidivou

NCC***=contato impossibilitado

Podemos observar após avaliação desta tabela que a taxa de recidiva dos HPV representou 17% do total de 35 casos.

Tabela 4 - Resultados relacionados com o prognóstico dos casos de Hemangiopericitoma estoriforme

R*	NR**	NCC***
11/20 (55%)	4/20 (20%)	5/20 (25%)

Podemos observar após avaliação desta tabela que a taxa de recidiva dos HES representou 55% do total de 20 casos.

Tabela 5 - Resultados relacionados com o prognóstico dos casos de Hemangiopericitoma epitelióide

R*	NR**	NCC***
13/22 (59%)	5/22 (23%)	4/22 (18%)

Podemos observar após avaliação desta tabela que a taxa de recidiva dos HEP representou 59% do total de 22 casos.

5.4.3 Casuística terapêutica instituída em cada subtipo dos CHP devidamente descritos na (Tabela 6), (Tabela 7), (Tabela 8) respectivamente:

A terapêutica aplicada em cada caso foi bem diversificada e de acordo com a rotina do Departamento de Cirurgia do Hovet da Universidade de São Paulo/FMVZ. Os critérios de conduta aplicados variam principalmente devido à topografia da neoplasia, macroscopia (principalmente tamanho) devido à margem de segurança e de sutura finalizadora; avaliação clínica e faixa etária do paciente e presença de metástases e neoplasias já recidivantes de outros tratamentos.

Tabela 6 - Terapêutica descritiva aplicada nos casos de Hemangiopericitoma perivascular

EUTANASIA (1ª opção*)	IC + CRIO**	CRIO***	AMPUTAÇÃO	IC*****	NCC 6*
2/35 (6%)	4/35 (11%)	0/35 (0%)	3/35 (8%)	24/35 (69%)	2/35 (6%)

*=Esta opção não foi instituída como final de sobrevida e sim como primeira forma de se tratar devido ao quadro do paciente

**= associação de cirurgia e crioterapia

***= aplicação exclusiva de crioterapia

*****= aplicação exclusiva da cirurgia

6*= dado não constava em ficha

7*= Associação de cirurgia, crioterapia e quimioterapia

Predominou-se como terapêutica predominante perfazendo um total de 69 % a incisão cirúrgica nos casos de HPV.

Tabela 7 - Terapêutica descritiva aplicada nos caso de Hemangiopericitoma estoriforme

EUTANASIA (1ª opção*)	IC + CRIO**	CRIO***	AMPUTAÇÃO	IC*****	NCC 6*	IC+CRIO+QUIMIO 7**
0/20 (0%)	7/20 (35%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	12/20 (60%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)

Predominou-se como terapêutica predominante perfazendo um total de 60 % a incisão cirúrgica nos casos de HES.

Tabela 8 - Terapêutica descritiva aplicada nos caso de Hemangiopericitoma epitelióide

EUTANASIA (1ª opção*)	IC + CRIO**	CRIO***	AMPUTAÇÃO	IC*****	NCC 6*
0/22 (0%)	1/22 (5%)	0/22 (0%)	2/22 (9%)	15/22 (68%)	4/22 (18%)

Predominou-se como terapêutica predominante perfazendo um total de 68 % a incisão cirúrgica nos casos de HES.

5.4.4 Casuísticas das neoplasias associadas com cada subtipo dos CHP respectivamente (Tabela 8), (Tabela 9), (Tabela 10).

Pretende-se com estes resultados alertar o clínico quanto à necessidade de se realizar diagnóstico histopatológico de cada nódulo presente no paciente, evitando terapêuticas e prognósticos pouco eficazes. Conhecer a incidências de outras neoplasias associadas com as de estudo, podendo até mesmo correlacionar medidas preventivas quanto ao aparecimento das mesmas (funcionando como aviso prévio ao proprietário consciente).

Tabela 8 - Neoplasias associadas com hemangiopericitoma perivascular.

Seminoma	Mastocitoma (I)	Adenocarcinoma	Massa (US) (esclarecer)	lipoma	Pilomatricoma	adenoma	Seminoma + sertolinoma	Fratura
1/35	2/35	3/35	1/35	3/35	1/35	1/35	1/35	3/35

Observa-se que 51,4% dos HPV associam –se com outras neoplasias e 48,57% não estavam associados, das quais as mais incidentes foram o seminoma (8,57%), adenocarcinoma (8,57%), lipoma (8,57%), fratura (8,57%).

Tabela 9 - Neoplasias associadas com hemangiopericitoma estoriforme

seminoma	Mastocitoma (I/II/III)	lipoma	Hemangiossarcoma	adenoma	Seminoma + sertolinoma	Fratura
2/20	3/20	1/35	1/20	1/20	1/20	2/20

Observa-se que 65% dos HES associam –se com outras neoplasias e 35% não estavam associados, das quais as mais incidentes foram o mastocitoma I/II/III(15%) (figura 34) e seminoma + sertolinoma (15%)

Tabela 10 - Neoplasias associadas com hemangiopericitoma epitelióide.

seminoma	Lipoma	Carcinoma	Fibrossarcoma	adenoma	Seminoma + sertolinoma	Fratura
4/22	2/22	2/22	2/22	1/22	2/22	2/22

Observa-se que 68% dos HEP associam –se com outras neoplasias e 32% não estavam associados, das quais a mais incidente foram o seminoma (18.18%) (figura 33).

5.4.5 Resultados da avaliação dos critérios de malignidade considerados nos três subtipos de CHP (PCNA, celularidade, mitose e apoptose)

Figura 1 - Células multinucleadas das três subclassificações do hemangiopericitoma: perivascular (Hp), estoriforme (Hes) e epitelióide (Hep). Teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre Hp e Hep

Tabela 1- Diferença estatisticamente significativa entre Hp e Hep, por Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa entre Hes e Hep, por Tukey-Kramer.

Células multinucleadas (%)	Hp (n=21)	Hes (n=18)	Hep (n=22)
CI 0	6.153±4.038*Hep	5.067±3.019 *Hep	11.217±5.729

n=número de amostras

$p < 0.05$, A nova seguida de Tukey-Kramer

Figura 2 - : Índice mitótico das três subclassificações do hemangiopericitoma: perivascular (Hp), estoriforme (Hes) e epitelióide (Hep). Teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre Hp e Hep.

Tabela 2: Diferença estatisticamente significativa entre Hp e Hep, por Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa entre Hes e Hep, por Tukey-Kramer.

Índice mitótico (%)	Hp (n=21)	Hes (n=18)	Hep (n=22)
CI 1	6.155±2.380*Hep	7.545±1.941	12.540±8.629

n=número de amostras

$p < 0.05$, A nova seguida de Tukey-Kramer

Figura 3- Células tumorais PCNA não positivas das três subclassificações do hemangiopericitoma: perivascular (Hp), estoriforme (Hes) e epitelióide (Hep). Teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre Hp / Hep e Hes/Hep.

Tabela 3- Diferença estatisticamente significativa entre Hp e Hep, por Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa entre Hes e Hep, por Tukey-Kramer.

Células PCNA não positivas (%)	Hp (n=21)	Hes (n=18)	Hep (n=22)
CI 2	38.497±13.911*Hep	35.944±11.908 *Hep	24.223±8.493

n=número de amostras

$p < 0.05$, a nova seguida de Tukey-Kramer

Figura 4- Células tumorais PCNA positivas das três subclassificações do hemangiopericitoma: perivascular (Hp), estoriforme (Hes) e epitelióide (Hep). Teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre Hp / Hes e Hp / Hep.

Tabela 4- Diferença estatisticamente significativa entre Hp e Hes, por Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa entre Hp e Hep, por Tukey-Kramer.

Células PCNA positivas (%)	Hp (n=21)	Hes (n=18)	Hep (n=22)
CI 3	30.042±10.824*Hes	39.122±11.158	41.945±9.705*Hp

n=número de amostras

$p < 0.05$, a nova seguida de Tukey-Kramer

Figura 5 :- Índice apoptótico das três subclassificações do hemangiopericitoma: perivascular (Hp), estoriforme (Hes) e epitelióide (Hep). Teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre Hp e Hep.

Tabela 5: Diferença estatisticamente significativa entre Hp e Hep, por Tukey-Kramer. Diferença estatisticamente significativa entre Hp e Hep, por Tukey-Kramer.

Índice apoptótico (%)	Hp (n=21)	Hes (n=18)	Hep (n=22)
Cl 4	1.153±1.443*Hep	1.888±1.988	2.400±1.648

n=número de amostras

$p < 0.05$, a nova seguida de Tukey-Kramer

Tabela 6 –Relação geral da diferença estatisticamente significativa entre as três subclassificações do hemangiopericitoma.

Classe	HPV (n=21)	HES (n=18)	HEP (n=22)
0	6.135 ± 4.038	5.067 ± 3.019	11.217 ± 5.729
1	6.155 ± 2.380	7.545 ± 1.941	12.540 ± 8.629
2	38.497 ± 13.911	35.944 ± 11.908	24.223 ± 8.493
3	30.042 ± 10.824	39.122 ± 11.158	41.945 ± 9.705
4	1.153 ± 1.443	1.888 ± 1.988	2.400 ± 1.648

n=número de amostras

$p < 0.05$, a nova seguida de Tukey-Kramer

5.5 Análise estatística

Foi utilizado a ANOVA (para dados paramétricos, analisados pelo teste de Barlett) ou Kruskal-Wallis (para dados não paramétricos, analisados pelo teste de Barlett).

Foram consideradas significantes as análises que apresentarem um nível de significância $p < 0.05$.

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão.

n= Número de amostras processadas de cada subclassificação do hemangiopericitoma canino

1-Análise dos resultados da classe 0:

A porcentagem de células multinucleadas foram significantemente maior no HEP, seguido do HPE e HPV, conforme ilustrado na figura 1.

2-Análise dos resultados da classe 1.

Quanto à avaliação do index mitótico prevaleceu uma porcentagem maior de figuras de mitoses típicas e atípicas no HPE, seguido HES e HPV.

3-Análise dos resultados da classe 2:

A porcentagem de células não positivas para Pcna nas células tumorais foram maiores significantemente maiores nos HPV, seguido dos HES e HEP.

4-Análise dos resultados da classe 3:

A porcentagem de células positivas para Pcna nas células tumorais foram maiores significantemente nos HEP, seguido dos HES e HPV

5-Análise dos resultados da classe 4:

. Quanto à avaliação do index apoptótico prevaleceu uma porcentagem maior nos HEP, seguido dos HES e HPV

5.6 Resultados das entrevistas dos proprietários referentes aos prognósticos

Pesquisa de recidivas e complementos de dados epidemiológicos foram realizadas através do questionamento telefônico direto com os proprietários dos pacientes duas vezes ao ano a partir de junho de 2002 e novembro/2002; junho de 2003 e novembro de 2003 e quatro vezes em 2004, predominando os meses de fevereiro, junho e novembro. Doze casos foram visitados pessoalmente devido entrevista telefônica ser duvidosa, ou mesmo esse contato ser mais facilitado que o telefônico. Infelizmente não foram a totalidade dos casos questionados via telefônica devido se tratar de um estudo retrospectivo, muitos dos dados coletados já estavam desatualizados ou mesmo preenchimento incompleto de fichas clínicas, impossibilitando portanto o contato com o mesmo.

Através desse método de estudo investigativo foi alcançados os seguintes resultados, detalhados nas (Tabelas 3, 4 e 5):

Tal estudo investigativo enriqueceu esta dissertação também mostrando que:

A interação proprietário e paciente está cada vez mais forte e consciente mostrando total disposição em manter sempre o bem estar de seus animais acima de tudo;

Isto reflete positivamente na atitude do médico veterinário ao exercer sua função colaborando com um diagnóstico, terapêutica e prognóstico mais efetivo;

Com a colaboração dos proprietários também se tornar possível a realização de pesquisas de forma mais precisa;

Papel fundamental das crianças que tendem a ser mais sensíveis e sinceras ao relatar sobre seus animais;

Amplificaram e intensificaram o modo de tratamento médico veterinário e proprietário, instigando e apontando os pontos fracos e positivos existentes no mesmo, exigindo quando necessário mudanças de ambas as partes colaborando com o sucesso cada vez melhor desse contato médico veterinário x cliente;

O trabalho com doenças neoplásicas exige conhecimento prévio por parte do médico veterinário que o emocional do proprietário estará abalado e necessitará de atenção e cuidado

Torna-se portanto fundamental a participação do profissional da saúde animal no diagnóstico, tratamento e pós-terapêutica persistindo durante todos estes momentos;

Portanto, profissionais da área continuarem afirmando que não apresentam colaboração de seus clientes (proprietários de seus pacientes) para diagnosticarem e curarem o câncer é errôneo, desatualizado e cômodo, tendo em vista que se não fossem estes 77 proprietários que participaram de todas as etapas diagnósticas e terapêuticas não haveriam dados para expor e concluir este nosso trabalho aqui descrito e concluído;

Persiste ainda um aspecto negativo pois, muitos proprietários não apresentam ainda a condição econômica favorável impedindo atitudes sensatas;

Deve-se portanto ficar ressaltado nesse, que nós, profissionais da saúde e bem estar animal somos os responsáveis em investir, dedicar e trabalhar muito para alcançar não só a cura, como melhores condições diagnósticas, terapêuticas e de sobrevida dos pacientes, abandonando a idéia cômodo de que não temos o apoio dos proprietário, pois se não os tivesse minha dissertação não poderia ser concluída como foi.

6 DISCUSSÃO

Durante o período de 1990 a 2003 77 casos de CHP (incluindo os subtipos HPV, HES, HEP) de um total 115, sendo recuperados dos Arquivos de Patologia do Serviço de Necropsia da FMVZ/USP. Em relação ao sexo as fêmeas foram mais afetadas que os machos nos três subtipo (60%, 75%, 60%) respectivamente. Tais dados refletem uma maior predisposição das fêmeas para desenvolver os CHP de acordo com a literatura pesquisada. Esta predisposição sugestivamente poderia ser influenciável pelos hormônios secretados e produzidos pelas mesmas, considerando desse modo neoplasias hormônio dependentes, mas infelizmente não encontramos nenhum dado em material pesquisado que confirme tal suposição. Desse modo perspectivas nesse aspecto devem ser consideradas através do estudo de receptores hormonais em CHP em fêmeas.

Em relação à idade a padronização da faixa etária de 5-10 anos foi a mais acometido em todas as subclassificações histopatológicas do CHP, representando respectivamente (60%, 50 %, 54%), dados os quais, concernentes ao pesquisado .

De acordo com dados da literatura a topografia habitualmente atingida no caso de CHP são os membros o que confere igualdade com os dados neste trabalho conquistados (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996; RICHARDS, 2001).

Nos recursos pesquisados nada consta sobre programa alimentar da espécie canina em cada tipo de CHp, prevalecendo 54%, 70% e 35% de ração

comercial respectivamente nos casos de HPV, HES, e HEP. Refletindo que o uso rotineiro e exclusivo de produtos industriais com seus atributos de conservantes e corantes poderão com o uso prolongado e progressivo levar ‘ um possível quadro neoplásico assim como estudo mais profundos á respeito devem ser instituídos regularmente.

Quanto às raças mais atingidas os SRD (31%, 50%, 30%). No entanto outras raças também foram incidentes independentes do porte como .o qual demonstra as espécies de grande portes mais acometidas discordando dos caos de HPV onde Poodle corresponde 14% dos casos atrás de 25 % Pastor Alemão. Os HES após SRD apresentam maior distribuição com as raças Boxer (18%) e Husky Siberiano (18%). Tais dados demonstram uma pequena incidência dos CHP em raças de pequeno porte. Ao avaliar o dado racial deve-se levar em consideração a tendência e regiões prevalentes de raças específicas ligado à cultura e função desempenhada por cada raça em determinados países.

O estudo da macroscopia sobretudo o tamanho dos CHP revelou maior distribuição nos casos de tamanho moderado (de 5 a 10 cm) correspondendo a 50%, 35%, 45% respectivamente (HPV, HES, HEP). Relatos (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996; RICHARDS, 2001) contradizem uma maior incidência de neoplasias grandes (acima de 10 cm). Tais dados podem contribuir sugerindo que os proprietários estão encaminhando seus animais de estimação em um tempo mais seguro e hábil para determinação de um diagnóstico e terapêutica mais favorável. Portanto não estão deixando a neoplasia atingir um volume o qual se torne impossível de realizar margem ampla de segurança durante a cirurgia, contribuindo dessa forma com uma melhor sobrevida do paciente. O

tamanho da neoplasia contudo executa papel influenciável no estabelecimento de um prognóstico mais favorável.

A classificação histológica dos CHP pode ser realizada através de aspectos morfológicos úteis para diferenciação, onde obteve-se o tipo perivascular mais incidente correspondendo (45,45%) dos casos, seguido epitelióide (28,57%) e finalmente estoriforme representando (25,97%). Tal resultado contradiz o recente estudo realizado por Mazzei et al.(2002) que propôs maior incidência para os perivasculares (64.5%), estoriforme (25,8%) e epitelióide (9,7%). Sugere-se também maior incidência do tipo epitelióide visto que a forma recidivante se manifesta histologicamente de acordo com este subtipo, ou seja um CHP que inicialmente foi classificado como perivascular ou estoriforme apresenta como forma recidivante o subtipo epitelióide, caracterizando portanto também sua maior agressividade.

Esta agressividade também pode ser investigada com maior validade através dos resultados de contagem dos critérios de malignidade onde o índice mitótico, e apoptótico, o número de células multinucleadas de cada subtipo resultou com maior incidência no tipo epitelióide como mostra respectivamente (12.540 ± 8.629 , 2.400 ± 1648 , 11.217 ± 5.729)

A proliferação celular (Pcna) de cada tipo de CHP mostra maior número de células positivas para Pcna nos tipo epitelióide (41.945 ± 9.705), seguido do estoriforme (39.122 ± 11.158) e perivascular (30.042 ± 10.824). Portanto a avaliação da proliferação celular permite auxiliar na determinação da graduação de comportamento histológico dos CHP até então nunca estudado.

A imunoistoquímica como fator complementar para o estabelecimento do diagnóstico diferencial entre hemangiopericitomas e schwanoma ressalta a

imunorreatividade para F8 nos CHP (70%) e negatividade para o mesmo nos schwannomas; o S100 mostrou-se imunorreativo para schwanoma (100%) e schwanoma maligno (100%) e CHP (60%, 50%, 40%) respectivamente (HPV, HES, HEP).; a imunorreatividade para GFAP nos schwannomas benignos e malignos respectivamente (80%, 67%) e imunorreatividade de (7%, 0%, 10%) para CHP além de 100% de positividade para vimentina em ambas neoplasias, negatividade de 100 5 citoqueratina nos schwannomas e CD34; imunorreatividade variável para citoqueratina e Cd34 em CHP. Tais dados refletem a comprovação da histogênese neural dos schwannomas e vascular a `stem cell` dos CHP.

Estes dados refletem de forma contrária ao relatado por Mazzei et al. (2002) onde os CHP foram negativos para F8 e demonstraram uma positividade para CD34 comprovando origem vascular, além de possível origem das `Stem Cells` devido imunorreatividade heterogênea para os demais anticorpos pesquisados.

Os resultados conquistados através do painel imunoistoquímico não auxiliam como fator de classificação histológica dos três subtipos de CHP, como assegurado também pelos autores (MAZZEI, 2002; MARTIN et al.; 1999; SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996; PEREZ ET et al.; 1999) .

A avaliação do prognóstico clínico com base nas taxas de recidiva em cada subtipo dos CHP deve ser correlacionada com o tipo de terapêutica instituída, uma vez que a associação da crioterapia e incisão cirúrgicas implica de formas satisfatória no prognóstico com confere os dados a seguir nos Subtipos de CHP respectivamente (HPV 11% dos casos obtendo uma taxa de recidiva de 17%;HES:35% dos casos obtendo uma taxa de recidiva de 55%; HEP: 5% dos

casos obtendo taxa de recidiva de 59%). A eficácia do uso apenas da incisão cirúrgica foi de 47,47% (HPV); 12% (HES); 15% (HEP), interferindo com os resultados encontrados por Mazzei. (2002) onde a cirurgia controlou os casos de CHP em 70% dos casos.

Finalizando o presente estudo permitiu a obtenção da casuística morfológica, clínica e epidemiológica, prognóstica e terapêutica dos CHP de forma a contribuir com a caracterização brasileira dos hemangiopericitomas caninos favorecendo o clínico quanto a sua suspeita clínica baseados em dados como idade, raça, topografia, sexo, fatores predisponentes citados com prevalentes nos CHP. Auxiliam também o patologista através da contribuição morfológica diferencial destacada nos três subtipos, bem como o uso de imunomarcadores tentando revelar a histogênese dos CHP. Através da avaliação dos critérios de malignidade incluindo o Pcná tem-se a graduação histológica dos subtipos de CHP e portanto contribuindo com o cirurgião refinando a terapêutica instituída cuja consequência será um melhor prognóstico e bem estar paciente verso proprietário.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que :

*os hemangiopericitomas caninos (CHP) devem ser graduados histologicamente em 3 subtipos a saber hemangiopericitoma perivascular (HPV), hemangiopericitoma estoriforme (HES) e hemangiopericitoma epitelióide (HEP) dos quais o tipo perivascular se mostrou mais incidente, seguido do epitelióide e estoriforme.

*as fêmeas são mais acometidas que os machos em todos os subtipos;

*a faixa etária mais acometida compreende de 5-10 anos;

*raças mais acometidas compreendendo as sem definição racial de moderado a grande porte;

*cães com alimentação comercial foram os mais acometidos;

* topograficamente os CHP acometem mais os membros (sobretudo a região de articulação) de cães;

*tratam-se de neoplasias de moderado tamanho, compreendendo a faixa de 5-10 cm;

*a imunoistoquímica poderá ser útil para diagnóstico diferencial de CHP (expressam positividade não especificamente para F8) e schwannomas (através da positividade para S100 e negatividade para F8);

*a histogênese dos CHP ainda leva a classificar o pericito como `stem cell` com alta capacidade de se diferenciar, ale de expressarem imunorreatividade para o painel utilizado de forma heterogênea;

*a proliferação celular (Pcna) e a contagem dos critérios de malignidade caracterizaram o tipo epitelióide como o mais agressivo ao confrontar com o prognóstico clínico revelador de alta incidência de recidiva também para este subtipo de CHP;

*várias neoplasias poderão estar associadas com os CHP com destaque os seminomas, podendo ressaltar e sugerir desse modo a prévia orquiectomia durante ou após a terapia instituída para o sarcoma, garantindo desse modo uma efetiva prevenção ao desenvolvimento da neoplasia testicular;

*relato de caso de um hemangiopericitoma canino perivascular melanizado;

*relato de caso de uma recidiva de um CHP do tipo estoriforme, recidivar como hemangiossarcoma;

*69% dos casos de HPV foram tratados cirurgicamente obtendo ausência de recidiva em 69% dos casos (eficiência cirúrgica de 47,67%)

*60% dos casos de HES foram tratados cirurgicamente obtendo ausência de recidiva em 20% dos casos (eficiência cirúrgica de 12%);

*68% dos casos de HEP foram tratados cirurgicamente obtendo ausência de recidiva em 23% dos casos (eficiência cirúrgica de 15,64%)

*os casos de HPV apresentam maior chance (47.67%) de serem controlados cirurgicamente do que os demais subtipos.

REFERÊNCIAS

ABBAS, J. S.; HOLYOKE, E. D.; MOORE, R.; KARAKOUSIS, C. P. The surgical treatment of soft-tissue sarcoma. **ASrch. Surg.**, v. 116, p. 765-769, 1981.

ALLEN, S. W.; PRASSE, K. W. Cytologic diagnosis of neoplasia and perioperative implementation. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 8,n. 2,p. 72-80, 1986.

ALVERGARD T.A.; BERG N. O., BALDETORP, B. Cellular DNA content and prognosis of high-grade soft tissue sarcoma: the Scandinavian Sarcoma Group Experience. **J Clin Oncol**, 1990; v. 8, p. 538-547, 1990.

AMERICANJOINT COMMITTEEFOR CANCERSTAGING AND ENDRESULTS REPORTING. Staging of soft tissue sarcoma. In: Manual for staging of cancer. Chicago, **American Joint Committee**, 1978.

ANDREASEN. C. B., MAHAFFEY. E. A.; DUNCAN, J. R. Intermediate filament in the cytologic and histologic diagnosis of canine skin and soft tissue tumors. **Veterinary Pathology**, v. 25, p. 343-349, 1988.

ARMIN, A.; CONNELLY, E. M.; ROWDWN, G. An immunoperoxidase investigation of S-100 protein in granular cell myoblastomas: evidence for Schwann cell derivation. **Am. J. Clin. Pathol.** , v. 79, p. 37-44, 1983.

AZIZA, J.; MAZEROLLES, C., SELVES, J. Comparison of the reactivities of monoclonal antibodies QBEND10 (CD34) and BNH9 in vascular tumors. **Applied Immuno-histochemistry** , v. 1, p. 51-57, 1993.

AZZARELLI, A.; MONTALTO, F.; GIORI, A.; CODAZZI, D.; COLELLA, G. Schwannoma. A true soft tissue tumor, or autonomous disease? Report of 123 malignant lesions. **Chir. Organi Mov.**, v. 75, p. 166-167, 1990. Supplement 1.

BANDOPADHYAY, R.; ORTE C.; LAWRENSON J. G.; REID AR; DE SILVA, S; ALLT, G. Contractile proteins in pericytes at the blood-brain and blood-retinal barriers. **J.Neurocytol**, v.30, n. 1, p. 35-44, 2001 30(1): 35-44, 2001.

BARTH, R. J.; MERINO;M. J.; CHANG;;A. E. Diagnostic procedures and treatment evaluation of soft tissue sarcomas.Sem **Surg.Oncol**, v. 45, p.323-480, 1994.

BOSTOCK, D.E.; DYE, M.T. Prognosis after surgical excision of canine fibrous connective tissue sarcomas. **Vet Pathol** 17:581-588, 1980.

BARRIOS C, CASTRESANA JS, RUIZ J, Kreicbergs A. Amplification of the c-myc protooncogene in soft tissue sarcoma. **Oncology** 1994; 51:13-7.

BARSKY, S. H., RAO, H. C., RESTREPO, C., and LIOTHA, L. A. (1984): Immunohistochemical enhancement of basement membrane antigens by pepsin: application in diagnostic pathology. Am. **J. Clin. Pathol.**, 82:192-194.

BARTON, C.L. Cytologic diagnosis of neoplastic diseases: an algorithm. Texas **Veterinary Medical Journal**, v. 45, n. 5, p. 11-13, 1983.

BARTON, C.L. Cytologic of cutaneous neoplasia: an algorithmic approach. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 9, n. 1, p. 20-33, 1987.

BATTIFORA, H. Hemangiopericytoma: ultrastructural study of five cases. **Cancer** 1973; 31: 1418-32.

BEAHR, O. H.; HENSON, D. E.; HUTTER, R. V. P.; MYERS, H.H. **Manual for staging of cancer. American Joint Committee on Cancer**. 3. ed. Philadelphia; J.B. Lippincott, 1988.

BENTLEY, S. A.; Alabaster, O.; Foidart, J. S. Collagen heterogeneity in normal human bone marrow. Br. **J. Haematology**, v.48, p/287-291.48:287-291.

BONNIN, J.R.; RUBENSTEIN, L. J. Immunohistochemistry of central nervous system tumors. Its constitution to neurosurgical diagnosis. **J. Neurosurg.**, v. 60, p. 1121-1133, 1984..

BOSTOCK, D. E. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. **British Veterinary Journal**, v. 142, n. 1, p. 1-19, 1986.

BOSTOCK, D. E.; DYE, M.T. Prognosis after surgical excision of canine fibrous connective tissue sarcomas. **Veterinary Pathology**, v.17, p.581-588.

BOSTOCK, D.E.; OWEN, L.N. Sarcomas. In: _____ **A colour atlas of neoplasia in the cat, dog and horse**. London: **Wolfe Medical**, 1975. p. 15-53, 1999.

BOTTLES, K. *et al.* Fine needle aspiration biopsy. **The American Journal of Medicine**, v. 81, n. 3, p. 525-531, 1986.

BOTTLES, K.; MILLER, T.R.; COHEN, M. B.; LJUNG, B. Fine needle aspiration biopsy. **The American Journal of Medicine**, v. 81, 1986. p. 525-531, 1986.

BUNGE, R.P. Expanding roles for the Schwann cell: ensheathment, myelination, trophism and regeneration. **Current Opinion in Neurobiology**, v.3, p.805-809, 1993.

BRACARENSE, A.P.F.R.L.; FARIA DOS REIS, A.C. Citologia aspirativa em animais domésticos: estudo retrospectivo. **Semana Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1, 1997.p.145.

BRAMWELL, V. H. C.; CROWTHER, D.; GALLAGHER, J; and STODDART, R. W. (1982): Studies of lectin binding to normal and neoplastic lymphoid tissues. I. Normal nodes and Hodgkin disease. **Br. J. Cancer**, v. 46, p.568-581.

BRANDTZAEG, P. (1982): Tissue preparation methods for immunohistochemistry. In _____: **Techniques in Immunohistochemistry**, London,;A, 1996.1088P.

BREGMAN, C. L.; HIRTH, R. S.; SUNDBERG, J. P.; CHRISTENSEN, E.F. Cutaneous neoplasms in dogs associated with canine oral papillomavirus vavvine. **Veterinary Pathology**, v. 24, n. 6, p. 477-487, 1987.

BRENNAN, M.F. The management of soft tissue sarcomas. **Br. J. Surg.**, v. 71, p. 964-967, 1984.

BROOKS, J.; KOBOS, J. Sarcoma prognosis: impact of proliferative markers. In: _____ Annual Meeting of the United States and Canadian Academy of Pathology, New Orleans, 5., 1993. p. 68-78).

BROOKS, J.J. (1982): Immunohistochemistry of soft tissue tumors. Myoglobin as a tumor marker for rhabdomyosarcoma. **Cancer**, v. 50, p.1757-1763.

BROOKS, J.J. (1982): Immunohistochemistry of soft tissue tumors: progress and prospects. **Human Pathology**, 13:969-974.

BRORWITZ, H.J., STEVANOVIC, G., and GOTTFRIED, M. Differential diagnosis of undifferentiated malignant tumors with monoclonal antibody T 29/33. **Human Pathology**, v.15, p.928-934, 1984..

BURES, J.C., BARNES, L., and MERCER, D. A comparative study of smooth muscle tumors utilizing light and electron microscopy, immunocytochemical staining and enzymatic assay. **Cancer**, v. 48, p. 2420-2426, 1981.

BURGDORF, W.H.C., MUKAI, K., and ROSAI, J. (1981): Immunohistochemical identification of factor VIII-related antigen in endothelial cells of cutaneous lesions of alleged vascular nature. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 75, p.167-171, 1981..

BURGDORF, W.H.C., DURAY, P., and ROSAI, J. Immunohistochemical identification of lysozyme in cutaneous lesions of alleged histiocytic nature. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 75, p.162-167, 1981..

BURKHARD, M. J.; MEYER, D.J. Invasive cytology of internal organs. *Veterinary Clinics of North America: **Small Animal Practice***, v. 26, n. 5, 1996. 1222 p.

BUSSOLATI, G., ALFANI, V., WEBER, K., and OSBORN, M. Immunocytochemical detection of actin on fixed and embedded tissues; its potential use in routine pathology. **J.Histochem. Cytochem.**, v. 28, p.69-173, 1980.

CAMPBELL, T.W. Comparative avian and mammalian cytodiagnosis – part I. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 12, n. 5, 1996. 702-709, 1990.

CARLEI, F., POLAK, J.M., CECCAMEA, A., MARANGOS, P J., DAHAL, D., COCHIA, D., MICHETTI, F., LEZOCHÉ, E., and SPERANZA, V. Neuronal and glial markers in tumours of neuroblastic origin. **Virchow Arch (Pathol. Anat.)**, v. 404. 1984.324 p.

CHASE, D. R., ENZINGER, F.M., WEISS, S.W. and LANGLOSS, J.M. (1984): Keratin in epithelioid sarcoma. an immunohistochemical study. **Am. J. Surg. Pathol.**, v.8, p.435-441, 1984.

CHALITA,M.C.C. **Estudo clínico e correlação cito-histológica de tumores em pele e partes moles de cães**. 2001. 213 f.Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2001.

CHRISTOPHERSON, W.M. Cytologic detection and diagnosis of cancer: its contributions and limitations. **Cancer**, v. 51, n. 7, p. 1201-1208, 1983.

CHUNG, A. E., JAFFE, R., FREMAN, I. L., VERGUES, J. P., BRAGNINSKI, J., E and CARLIN, B. **Cell.**, v.16. 1979. 287 p.

COCCHIA, D., LAURIOLA, L., STOLFI, V. M., TALLINI, G., and MICHETTI, A. S-100 antigen labels neoplastic cells in liposarcoma and cartilagenous tumors. **V.A.a**, v.402, p.139-145, 1983.

COLLIN, C.F.; FRIEDRICH, C.; GODBOLD, J.; HAJDU, S.; BRENNAN, M.F. Prognostic factors for local recurrence and survival in patients with localized extremity soft-tissue sarcoma. **Semin. Surg. Oncol.**, v.4, p.30-7, 1988.

CONROY, J.D. Canine skin tumors. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 19, n. 1, p. 91-114, 1983.

CORSON, J.M., and PINKUS, G.S. Intracellular myoglobin – a specific marker for skeletal muscle differentiation in soft tissue sarcoma. An immunoperoxidase study. **Am. J. Pathol.**, v.103, p. 384-398, 1981.

CORSON, J.M., WEISS, L.M., BANKS-SCHLEGEL S.P., and PINKUS, G.S. Keratin protein and carcinoembryonic antigen in synovial sarcomas: An immunohistochemical study of 24 cases. **Human Pathology**, v.15, p.615-621, 1984.

CORSON, J.M., WEISS, L.M., BANKS-SCHLEGEL, S.P., and PINKUS, G.S. (1983): Keratin proteins in synovial sarcoma. *Am. J. Surg. Pathol.*, 7: 107-109, 1983.

COUTO, C.G Tumours of the skin and subcutaneous tissues. In: **XXIII CONGRESS OF THE WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION**, 14, Londres: 1998, p. 175-178.

COWELL, R. L.; TYLER, R.D. Cytology of cutaneous lesions. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 19, n. 4, p. 769-794, 1989.

CUI, Y.C., TAI, P.C., GATHER, K.C., MASON, D., Y SPRY, C. J. F. A vascular endothelial cell antigen with restricted distribution in human phoetal, adult and malignant tissues. *Immunology*, v.49, p.183-191, 1983.

CURRIE,A.R.; WyLLIE,A.H.; KERR,J.F..Cell death: the significance the apoptosis.*Int.Rev.Citol*, v.66,p.251-306, 1980.

DALCHAU, R., KIRKELY, J., and FABRE, J.W. (1980): Monoclonal antibody to a human leucocyte-specific membrane glycoprotein probably homologous to the leucocytecommon (L-C) antigen of the rat. *Eur. J. Immunol.*, 10:737-744.

DAMJANOV, J. Editorial. Antibodies to intermediate filaments and histogenesis. *Lab. Investigation*, v. 47, p.215-217, 1982.

DAVIES, M.E., A further note on the examination of canine sera for evidence of leptospirosis. *Vet Rec*, p. 93-94, 1957.

DE JONG, A.S. H., Kessel-van Vark, M., Albus-Lutter, Ch. E., and Voûte, P.A. The value of creative Kinase submits M and B markers in the diagnosis of poorly differentiated rhabdomyosarcomas in childhood. *Human Pathology*, p.104-114, 1985.

DE JONG, A.S.H., Vark, M. Van, Albus-Lutter, Ch. E., Raamsdonk, W. Van, and Voûte, P.A. Myosin and myoglobin as tumor markers in the diagnosis of rhabdomyosarcoma: a comparative study. *Am. J. Surg. Pathol.*, v.8, p. 521-528, 1984.

DELELLIS, R.A.; STERNBERGER, L.A.; MANN, R.B.; BANKS, P.M.; NAKANE, P.K. Immunoperoxidase techniques in diagnostic pathology. Report of a workshop sponsored by the National Cancer Institute. Am. **J. Clin. Pathol.**, v. 71, p. 483-8, 1979.

DENICOLA, D.; REAGAN, W. J. **Using cytology in the diagnosis of cancer.** In: MORRISON, W.B. Cancer in dogs and cats: medical and surgical management. Maryland: Williams & Wilkins, p. 79-94, 1998.

DERVAN, P. A.; MAGEE, H.M.; BUCKLEY, C.; CARNEY, D.N. Proliferating Cell Nuclear Antigen Counts in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Correlate with Ki-67 in Fresh Tissue. Am. **J. Clin. Pathol.**, v. 97, p. 21-28, 1992.

DEY, P.; DAS, A.; RADHIKA, S.; NIJHAWAN, R. Cytology of primary skin tumors. **Acta Cytologica**, v. 40, n. 4, p. 708-713, 1996.

DICTOR, M., ELNER, A., ANDERSSON, T. *et al.* Myofibromatosislike hemangiopericytoma metastasizing as differentiated vascular smooth muscle and myosarcoma: myopericyte as a subset of 'myofibroblasts'. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 16, p.1239-1247, 1992.

DOBSON, J.M.; GORMAN, N.T. A clinical approach to the management of skin tumors in dogs and cats. **In Practice**, v. 10, n. 2, p. 55-68, 1988.

DORN, E. R.; TAYLOR, D.; SCHNEIDER, R. Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California II. **Journal of National Cancer Institute**, v. 40, n. 2, p. 307-318, 1968.

DU BOULAY, C.E.H. Immunohistochemistry of soft tissue tumours: a review. **Journal of Pathology**, v. 146, p. 77-94, 1985.

DUDGEON, L. S.; PATRICK, C. V. A new method for the rapid microscopical diagnosis of tumors: with na account of 200 cases so examined. The British **Journal of Surgery**, v. 15, n. 58, p. 250-261, 1927.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K.W. Cytology of canine cutaneous round cell tumors. **Veterinary Pathology**, v. 16, n. 6, p. 673-679, 1979.

EICH, C. S.; WHITEHAIR, J. G.; MOROFF, S. D.; HEEB, L. A The accuracy of intraoperative cytopathological dianosis compared with conventional histopathological diagnosis. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 36, n. 1, p. 16-8, 2000.

EL-JABBOUR, J. N.; AKHTAR, S.S.; KERR, G.R.; MCLAREN, K. M.; SMYTH, A. RODGER & F. C. LEONARD. Prognostic Factors for Survival in Soft Tissue Sarcoma. Br. **J. Cancer**, v. 62, p. 857-61. 1990.

EL-JABBOUR JN, AKHTAR SS, Kerr GR *et al.* Prognostic factors for survivalin soft tissue sarcoma. Br **J Cancer**,v.62, p.857-861, 1990.

ELSE, R. Biopsy: special téchniques and tissues. **In Practice**, v. 11, n. 1, p. 27-34, 1989.

ENGZELL, U.; ESPORTI, P. L.; RUBIO, C.; SIGURDSON, A., ZAJICEKJ, J. Investigation on tumours spread in connection with aspiration biopsy. **Acta Radiologica Therapy Physics Biology**, v. 10, n. 4, p. 385-98, 1971.

ENNEKING WF, SPARRIER SS, MALAWER MM *et al.* The effect of the anatomic setting on the results of surgical procedures for soft parts sarcoma of the thigh. **Cancer** , v. 47, p. 1005-1047, 1981.

ENZINGER, F.M., Weiss, S. W. Hermangiopericytoma. In:____. **Soft Tissue Tumors**. St. Louis: Mosby Year Book, 1995. p. 713-33.

ENZINGER, F.M.; LATTES, R.; TORLONI, R. Histological typing of soft tissue tumors. Internacional Histological Classification of Tumors. No. 3 Geneva, **World Health Organization**, 1969.

ENZINGER, F.M.; WEISS, S.W. **Soft tissue tumors**. 3. ed. St Louis: Mosby, 1995. p. 1-37.

ER, J. C.; SUTTON, R.H. A survey of skin neoplasms in dogs from the **Brisbane region**. **Australian Veterinary Journal**, v. 66, n. 7, p. 225-227, 1989.

ETCHEVERS HC, VINCENT C, LE DOUARIN NM, COULY GF.The cephalic neural crest rovides pericytes and smooth muscle cells to all blood vessels of the face and forebrain. **Development** , v. 7, p. 1059-1068, 2001.

EVANS. S.M. Canine hemangiopericytoma: a retrospective analysis of response to surgery and orthovoltage radiation. **Veterinary Radiology**, v.28, p. 13-16, 1987.

FINNIE, J. W.; BOSTOCK, D. E. Skin neoplasia in dogs. Australian **Veterinary Journal**, v. 55, n. 4, p. 602-604, 1979.

GALEN, R. S.; GAMBINO, S. R. Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnosos. New York: **John Wiley & Sons**, 1975. 273 p.

GARCIA, R. L.; COLTRERA, M. D.; GOWN, A. M. **Analysis of Proliferative Grade Using Anti-PCNA/Cyclin Monoclonal Antibodies in Fixed, Embedded Tissues**. Comparision with Flow Cytometric Analysis. Am. J. Pathol., 739 p, 1989.

GAVES, G.M., BJRLING D.E., Mahaffey. E.Canine hemangiopericytoma: 23 casses **Journal of the American Veterinary Medical Association**, ; v. 192, p. 99-102, 1987.

GEER RJ, WOODRUFF J, Casper ES, Brennan MF. Management of small soft tissue sarcoma of the extremity in adults. **Arch Surg**, v. 127, p. 285-289.

GENTIL FC, LOPES A. Princípios da cirurgia oncológica. In: Schawartsmann G *et al*. Oncologia Clínica. 1º ed. Editora Artes Médicas Sul Ltda., 1991, p. 84-95.

GOLDSCHMIDT, M. H.; SHOFER, F.S. **Skin tumors os the dog and cat**. 2 ed. Butterworth-Heinemann, 1998. p. 1-10.

GOLDSCHMIDT, M. H., Shofer. O.F.S. Canine hemangiopericytoma. In: Goldschmidt. M.H., Shofer. O.F.S., **Skin Tumors of the Dog and Cat**. Oxford: **Pergamon Press**.p.168-74. 1992.

GOLDSCHMIDT, M. H.; DUNSTAN. R W.; STANNARD, A. A.; VON TSCHARNER, C.; WALDER, E. J.; YAGER, J. A. **Histological classification of epithelial and melanocytic tumors of the skin of domestic animls**, 1998. v. 3. 106 p.

GORMAN, N. T. Neoplasia of the skin and associated tissue. In: ANNUAL WALTHAM/OSU SYMPOSIUM – ONCOLOGY AND HEMATOLOGY, 20., 1996, London. **Symposium...**1996. p. 27-33.

GRAÇA, L.D.; FERNANDES, C.G.; PEREIRA, L.A.V.D. Desmielinização e remielinização após múltiplas injeções intramedulares de brometo de etídio em ratos Wistar. **Arquivos de Neuro Psiquiatria**, v.55, p.453-459, 1997.

GRIFFITHS, G. L.; LUMSDEN, J. H.; VALLI, V. E. O. Fine needle aspiration cytology and histologic correlation in canine tumors. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 13, n. 1, p. 13-17, 1984.

GROSS, T.L.; IHRKE P.J.; WALDER E.J. **Veterinary dermatology**. Mosby, Missouri, EUA, 1992, p. 436-437.

HADJU SI. **Pathology of soft tissue tumors**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1979, 1544 p.

HAJDU, S.I.; MELAMED, M.R. Limitations of aspiration cytology in the diagnosis of primary neoplasms. **Acta Cytologica**, v. 28, n. 3, p. 337-343, 1984.

HALL, R. L.; MAC WILLIAMS, P. S. The cytologic examination of cutaneous and subcutaneous masses. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v. 3, n. 2, p. 94-108, 1988.

HARDY, W.D. Introduction. Journal of the American Animal Hospital Association, v. 19, n. 1, p. 1, 1983.

HARTMAN, E.G., VAN DEN INGHI, T.S., ROTHUIZEN, J., Clinical, pathological and serological features of spontaneous canine leptospirosis. Na evaluation of the IgM and IgG specific ELISA. **Vet Immunol Immunopathol**, p. 261-271, 1986.

HENDRICK, M. J.; MAHAFFEY, E.A.; MOORE, F. M.; VOS, J. H.; WALDER, E. Classification of mesenchymal tumors of skin and soft tissue of domestic animals. **J Histological**, v.2, p. 64-72, 1998.

HIDAKA, Y. Clinical study of canine cutaneous tumors, especially the incidence and cytological examination of tumors. Japanese **Journal of Veterinary Research**, v. 33, n. 1 e 2, p. 71, 1985.

HÖLTHÖFER, H., VIRTANEN, J., KARINIEMI, A. L., HORMIA, H., LINDER, E., MIETTINEN, A. (1982): *Ulex europaeus* I lectin as a marker for vascular endothelium in human tissue. **Lab. Investigation**, v.47, p.60-66, 1982.

HÖLUND, B., CLAUSEN, P.P., and CLEMMENSEN, I. The influence of fixation and tissue preparation on the immunohistochemical demonstration of fibronectin in human tissues. **Histochemistry**, 72:291-299.

HORMIA, M., LEHTO, V.P., and VIRTANEN. Factor VIII related antigen. A pericellular matrix component of cultured human endothelial cells. **Exp. Cell. Res.**, v.149, p. 483-497, 1983..

HORTON, W A., DWYER, C., GOERING, R., and DEAN, D.C. Immunohistochemistry of type I and II collagen in undecalcified skeletal. **J. of Histochem. Cytochem.**, v.31, p. 417-425, 1983.

HOWARD, D. R., and BATSAKIS, J.G. Peanut agglutinin: A new marker for tissue histiocytes. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.77, p. 401-408., 1982.

HSU, S.M., RAINE, L., and FANGER, H. The use of anti-avidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase techniques. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.75, p.816-821, 1981.

HSU, S.M., RAINE, L., and FANGER, H. A comparative study of the peroxidase-anti peroxidase method and an avidin-biotin complex method for studying hormones with radio immunoassay antibodies. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.75, p. 734-738, 1981.

HSU, S.M., REE, H.J. Histochemical studies on lectin binding in reactive lymphoid tissues. **J. of Histochem. Cytochem.**, v.31, p.538-546, 1983..

HULTBERG, B. M., DAUGAARD, S., Johansen. H. F. Malignant haemangiopericytomas and haemangioendotheliosarcomas: an immunohistochemical study. **Histopathology** ,v. 12, .p. 405-14, 1988.

INNES, D. J., MILLS, S. E., WALKER, G.K. Megakariocytic leukemia. Identification utilizing anti-factor VIII immunoperoxidase. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.77, p.107-110, 1982.

INOVÉ, A.; AOZASA, K., TSUJIMOTO, M., TAMAI, M., CHATANI, F., and UENO, H. Immunohistochemical study on malignant fibrous histiocytoma. **Acta Pathol**, v. 34, p.759-765, 1984.

IRISH, P.S., and HASTY, D.C. Immunocytochemical, localization of fibronectin in human fibroblast cultures using a cell surface replica technique. **Journal of Histochem**. Cytochem., v.31, p.69-77, 1983.

ISOBE, T., ICHIMOSI, K., NAKAJIMA, T., and OKUYAMA, T. The alpha-subunit of S-100 protein is present in tumor cells of human malignant melanomas, but not in schwannomas. *Brain Research*,v. 294, p. 381-384, 1984.

JACOBS, R. M. Foreword. "Hemangiopericytoma canino" In: Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal), v. 3, n. 2, 1988, London. **Resumos...** p. 83-84.

JONES, T.R., KAO, K.J., PIZZO, S.V., and Bignec, D.D. Endothelial cell surface expression and binding of factor VIII/von Willebrand factor. **Am. J. Pathol.**, v.103, p.304-308, 1981.

JURCO, III, S., NADJI, M., HARVEY, D.G., PARKER, J. E., Font, R.L., and MORALES, A. R. Hemangioblastomas: Histogenesis of the stromal cell studied by immunocytochemistry. **Hum. Pathol.**, v.13, p.13-18, 1982.

KAGAWA, N., SANO, T., INABA, H., MORI, K., and HIZAWA, K. Immunohistochemistry of myoglobin in rhabdomyosarcomas. **Acta pathol. Jpn.** V.33, p.515-522, 1983.

KAHN, H.J., MAEKS, A., THOM, H., and BAUMAL, R. Role of antibody to S-100 protein in diagnostic pathology. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.79, p.341-347, 1983.

KAHN, H.J., YEGER, H., KASSIM, O., JORGENSEN, A. O., MACLENNAN, D.H., BAUMAL, R., SMITH, C. R., and PHILLIPS, M. J. Immunohistochemical and electron microscopic assessment of childhood rhabdomyosarcoma. Increased frequency of diagnosis over routine histological methods. **Cancer**, v.51, p.1987-1993, 1983.

KAWAI A. NOGUCHI M, BEPPU J *et al.* Nuclear immunoreaction of p 53 protein in soft tissue sarcomas. **Cancer** v. 73, p. 499-505, 1994.

KAWAI, T., SUZUKI, M. MUKAI, M., HIROCHIMA, K., and SHINMEI, M. Primary leiomyosarcoma of bone. An immunohistological and ultrastructural study. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v.107, p. 433-437, 1983.

KINDBLOM, L.G.: Factor-VIII related antigen and mast cells. **Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. A.**, v. 90 p. 437-439, 1982.

KINDBLOM, L.G., LODDING, P., ANGERVALL, L. Clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses. **Virchows Arch. A**, v. 401 p.109-128, 1983.

KINDBLOM., L.G., JACOBSON, G.K., and JACOBSON. M. Immunohistochemical investigation of tumors of supposed fibroblastic histologic origin. **Human Pathol**, v. 13 p. 834-840, 1983.

KLINE, T. S.; NEAL, H. S. Needle aspiration biopsy: a critical appraisal. Journal of the **American Medical Association**, v. 239, n. 1, p. 36-39, 1978.

KOSS, L. G. Introduction: scope and sampling techniques in diagnostic cytology. In:_____ **Diagnostic cytology and it's histopathologic bases**. 4. ed., 1992. V. 1., p. 1-11.

KUHLMAN, W.D., PESCHKE, P., and Wusrherk. Lectin-peroxidase conjugates in histopathology of gastrointestinal mucose. **Virchows Arch. (A)**, v. 398 p. 319-328, 1938.

LANDMAN,G.; PEREIRA,E.M. imunoistoquímica. In:_____ **Manual de imunoistoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1995, p. 2-99.

LARKIN, H.A. Veterinary cytology – fine needle aspiration of masses or swellings on animals. **Irish Veterinary Journal**, v. 47, n. 2, p. 65-73, 1994.

LARSON DM, HAUDENSCHILD CC, BEYER EC.Gap junction messenger RNA expression by vascular wall cells. **Circ Res Apr**; v. 66, n. 4, p. 1074-80, 1990

PEREZ J, BAUTISTA MJ, ROLLON E, DE LARA FC, CARRASCO L, MARTIN DE LAS MULAS J Immunohistochemical characterization of hemangiopericytomas and other spindle cell tumors in the dog. **Vet Pathol.** v. 33, n.4, p. 391-7, 1996.

LEIBEL, S.A.; TRANBAUGH, R.F.; WARA, W.M.; BESKSTEAD, J.H.; BOVILL, E.G.; PHILLIPS, T.L. Soft Tissues Sarcomas of the Extremities. Survival and Patterns of Failure with Conservative Surgery and Postoperative Irradiation Compared to Surgery Alone. **Cancer**, v. 50, p. 1076-83, 1982.

LEVER, J.V.; TROTT, P.A.; WEBB, A.J. Fine needle aspiration cytology. **Journal of Clinical Pathology**, v. 38, n. 1, p. 1-11, 1985.

MADEWELL, B.R., Griffey, S.M., Munn, R.J. Ultrastructure of canine vasoformative tumours. **Journal of Vascular Research**; v. 29, p. 50-55, 1992.

McCOLL WILLIAMSON, M., Middleton, D. J. Cutaneous soft tissue tumours in dogs. Classification, differentiation, and histogenesis. **Veterinary Dermatology**; v. 9, p. 43-8, 1992.

MELEO, K. A. Tumors of the skin and associated structures. Veterinary Clinics of North America: **Small Animal Practice**, v. 27, n. 1, p. 73-95, 1997.

MENARD, M.; PAPAGEORGES, M. Fine-needle biopsies: how to increase diagnostic yield. **The Compendium on Continuing Education**, v. 19, n. 6, p. 738-740, 1997.

MADEWELL BR, GRIFFEY SM, MUNN RJ Ultrastructure of canine vasoformative tumors. **J.Vasc.Res.** v. 29, n. 2, p. 50-5, 1992.

MAMBETISAEVA ET, GIRE V, EVANS WH Multiple connexin expression in peripheral nerve, Schwann cells and schwannoma cells. **J. Neurosci Res.** v. 57, n. 2, p. 166-75, 1999.

MARQUEZ, L.J. Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular (SBACV). Disponível em:
<http://www.sbacrvj.com.br/paginas/revistas/sbcvri/Indicegeneal.htm>.
 Acesso em: 01 jan.2005

MARTINEZ, C. Congresso Virtual Veterinário de Diagnóstico por Imagem. Disponível em:
 <<http://www.aamefe.org/hemangiopericitoma.htm>. Acesso em 10 abr.2004.

MARTIN, D.L.M.J.; MILLIAN, Y.; RUIZ,V.E.; BAUTISTA, M.J.; ROLLON, E. Apoptosis and mitosis in tumors of the skin and subcutaneous tissues of the dog. **Res Vet Sci**. v. 66, n. 2, p. 139-46, 1999.

MATERA,J.M. Aplicação do retalho cutâneo no tratamento cirúrgico do hemangiopericitoma canino.Ciências Agrárias.Disponível em : <http://www.ufsm.br/ccr/revista/resumos/sumario281.html>. Acesso em 12 dez.2004.

MAYR, B.; FURTIMUELA, G.; SCHLEGER,W.; REIFINGER,M. Trisomy 2 in three cases of canine hemangiopericytoma. **Br Vet J**. v. 148, n. 2, p. 97-8, 1992.

MAZZEI, M.; MILANTA, F.; CITI, S.; LORENZI, D.; POLI, A. Haemangiopricytoma: histological spectrum, imunohistochemical characterization and prognosis. **Vet Dermatol**. v. 13, n. 1, p. 15-21, 2002.

MEYER, D.J.: FRANKS, P. **Clinical cytology-management of tissue specimens**. Modern Veterinary Practice, 1986. 259 p.

MERINO,M.J.; BARTH; R.J.; CHANG; A.E. Diagnostic procedures and treatment evaluation of soft tissue sarcomas.**Sem Surg.Oncol**, v. 45, p. 323-480, 1994.

MIDDLETON, L.P., DURAY, P. H., MERINO, M.J. The histological spectrum of hemangiopericytoma: application of immunohistochemical analysis including proliferative markers to facilitate diagnosis and predict prognosis. **Human Pathology**; v. 29, p. 636-40, 1998.

MIETTINEN, M. Antibody specific to muscle actins in the diagnosis and classification of soft tissue tumors. **American Journal of Pathology** v. 130, n. 205-15, 1988.

MIETTINEN. M., VIRTANEN, J.: Synovial sarcoma – A misnomer. **Am. J. Path.**, v. 117, p. 18-25, 1984.

MILLS. J.H.L., Nielsen. S. W. Canine hemangiopericytomas – a survey of 200 tumours. **Journal of Small Animal Practice**; v. 8, p. 599-604, 1967.

MIRALLES, T. G. *et al.* Fine needle aspiration cytology of soft tissue lesions. **Acta Cytologica**, v. 30, n. 6, p. 671-678, 1986.

MIRRA, J.M., Wang, S., and BHUTA, S.: Synovial sarcoma with squamous differentiation of its mesenchymal glandular elements: A case report with light-microscopic ultramicroscopic, and immunologic correlation. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 8, p. 791-796, 1984.

MIYACHI, K.; FRITZLER, M.J.; TAM. E.M. Autoantibody to a Nuclear Antigen in Proliferating Cells. **J.Immunol.**; v. 121, p. 2228-34, 1978.

MOGOLLON, R., PENNEYS, N., ALBORES-SAAVEDRA, J., and NADJI, M.: Malignant schwannoma presenting as a skin mass. Confirmation by the demonstration of myelin basic protein within tumor cells. **Cancer**, v. 53, p. 1190-1193, 1984.

MOLIN, S. – O., ROSENGREN, L., HAGLID, K., BANDIER, J., and HAMBERGER, A.: Differential localization of "Brain-specific" S-100 and its subunits in rat salivary glands. **J.Histochem. Cytochem.**, v. 32, p. 805-815, 1984.

MOORE, A.S., MADEWELL, B.R., Lundt. J.K. Immunohistochemical evaluation of intermediate filament expression in canine and feline neoplasms. **American Journal of Veterinary Research**; v. 50, p. 88-92, 1989.

MORIELLO, K. A.; ROSENTHAL, R. C. Clinical approach to tumors of the skin and subcutaneous tissues. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 20, n. 4, p. 1136-1191, 1990.

MORRISON, W. B.; DE NICOLA, D. B. Advantages and disadvantages of cytology and histopathology for the diagnosis of cancer. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v. 8, n. 4, p. 222-227, 1993.

MUKAI, K., ROSAI, J., and HALLAWAY, B.E.: Localization of myoglobin in normal and neoplastic human skeletal muscle cells using an immunoperoxidase method. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 3, p. 373-376, 1979.

MUKAI, K., SCHOLLMAYER, J.V., and ROSAI, J. Immunohistochemical localization of actin. Applications in surgical pathology. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 5, p. 91-97, 1981.

MUKAI, K., ROSAI, J., Burgdorf, W.H.C Localisation of factor VIII-related antigen in vascular endothelial cells using an immunoperoxidase method. **American Journal of Surgical Pathology** v. 4, p. 273-6, 1980.

MUZZI, L. A. L.; ARAÚJO, R. B.; MUZZI, R. A. L.; GUEDES, R. M. C.; REZENDE, C. M. F. Ultra-sonografia e citologia das afecções prostáticas em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 1, p. 9-16, 1999.

NAKAJIMA, T., WATUNABE, S., SATO, Y., KAMAYA, T., HISOTO, T., SHIMOSATO, Y.: An immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissues. **Am. J. Surg. Pathol.** v. 6, p. 715-726, 1982.

NAKAZATO, Y., ISHIZEBI, J., TAKAHISHI, K., and YAMAGUCHI, H. : Immunohistochemical localization of S-100 protein in granular cell myoblastoma. **Cancer**, v. 49, p. 1624-1628, 1982.

NARITOKU, W, Y.; TAYLOR, C. R. A Comparative Study of the Use of Monoclonal Antibodies Using Three Different Immunohistochemical methods: an evaluation of monoclonal and polyclonal antibodies against human prostatic acid phosphatase. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 30, p. 253-60, 1982.

NATHRATH, W.B.J., and MEISTER, P.: Lysozyme and alpha – antitrypsin as immunohistochemical tumour markers. **A. Histochemia Suppl. Band XXV**: p. 69-72, 1982.

O'ROURKE, L.G. Cytologic techniques: sampling, slide preparation, staining. **Modern Veterinary Practice**, v. 64, n. 3, p. 185-189, 1983.

OBWOLO, M.J. Primary splenic haemangiopericytoma in a German shepherd dog. **Journal of Comparative Pathology**; v. 96, p. 285-8, 1982.

OLGIVIE, G.K.; MOORE, A.S. Clinical cytology and neoplasia. In: Managing the veterinary cancer patient: a practice manual. New Jersey: **Veterinary Learning Systems**, p. 37-51, 1996.

ORDÓÑEZ, N. G., BATSAKIS, J.G.: Comparison of Ulex europaeus I lectin and factor VIII related antigen in vascular lesion. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 108, p. 129-132, 1984.

ORDRONNEAU, P., LINDSTRÖM, P.B. M., and PETRUSZ, P.: Four unlabeled antibody bridge techniques: a comparison. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 29, p. 1397-1404, 1981.

OSBORN, M., ALLMANNSBERGER, M., SHAW, G., SCHAUER, A., and WEBER, K. Various sympathetic derived tumors differ in neurofilament expression. Use in diagnosis of neuroblastoma, ganglioneuroblastoma and pheochromocytoma. *Virchows Arch. (Cell Pathol.)*, v. 40, p. 141-156, 1984.

OSBORN, M., and WEBER, K.: Tumour diagnosis by intermediate filament typing: A novel tool for surgical pathology. **Lab. Invest.** v. 48, p. 372-394, 1983.

PANTEKOEK, J.F.C.A., Schiefer. B. Metastasising canine fibrosarcoma originally diagnosed as haemangiopericytoma. **Journal of Small Animal Practice**; v. 16, p. 259-65, 1975.

PATNAIK, A. K.; EHLER, W. J.; MACEWEN, E. G. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 21, n. 1, p. 469-474, 1984.

PARKIN;D.M.Cancer incidence in five Continents.. **Iarc Scientific Publications**, v.120, p.456, 1992.

PÉREZ, J., BAUTISTA, M.J., ROLLÓN, E. *et al.* Immunohistochemical characterization of hemangiopericytomas and journal spindle cell tumors in the dog. **Veterinary Pathology**; v. 33, n. 4, p. 391-7, 1996.

PERMAN, V.; ALSAKER, R.D.; RIIS, R.C. Cytology of the dog and cat. **American Animal Hospital Association**, 1979, 159 p.

PHIPLIPS, J.N.; GOODMAN, B.N. Clinching the diagnosis: fine needle aspiration cytology. **Pathology**, v. 19, n. 4, p. 371-376, 1987.

PORTER. P.L., BIGLER. S.A., McNutt, M. . The immunophenotype of hemangiopericytomas and glomus tumours, with special reference to muscle protein expresion: an immunohistochemical study and review of the literature. **Modern Pathology**; v. 4, p. 46-52, 1991.

POSTORINO, N.C., BERG, R.J., POWERS, B.E. *et al.* Prognostic variables for canine hemangiopericytoma: 50 cases (1979-84). **Journal of the American Animal Hospital Association**; v. 24, p. 501-9, 1988.

PRIESTER, W. A. Skin tumors in domestic animals. Data from 12 United States and Canadian Colleges of Veterinary Medicine. **Journal of National Cancer Institute**, v. 50, n. 2, p. 457-466, 1973.

PRIESTER, W. A. Skin tumors in domestic animals. Data from 12 United States and Canadian Colleges of Veterinary Medicine. **Journal of National Cancer Institute**, v. 50, n. 2, p. 457-466, 1973.

PRIESTER, W. A.; MANTEL, N. Occurrence of tumors in domestic animals: data from 12 United States and Canadian Colleges of Veterinary Medicine. **Journal of National Cancer Institute**, v. 47, n. 6, p. 1333-1344, 1971.

PULLEY, L.T., STANNARD, A.A. Tumors of the skin and soft tissue. In:____ **Tumors in Domestic Animals**. Berkeley: University of California Press, 1990. 51 p.

QUEIROZ, G.F.; MATERA, J.M.; DAGLI, M.L.Z.; TORRES, L.N. Utilização da crioterapia no tratamento de sarcoma de tecidos moles de extremidades em cães. SIMPÓSIO DE ONCOLOGIA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 10., 2004, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: USP, 2004. CD-ROM.

RAE, C. A.; JACOBS, R. M.; COUTO, C. G. A. comparison between the cytological and histological characteristics in thirteen canine and feline thymomas. **Canadian Veterinary Journal**, v. 30, n. 6, p. 497-500, 1989.

RAKICH, P. M.; LATIMER, K. S. Cytology of the respiratory tract. **Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice**, v. 19, n. 5, p. 823-850, 1989.

RAMON, R.A. Hemangiopericitoma felino. Disponível em :<http://www.otorrinoweg.com/index.html>. Acesso em: 14 dez.2004.

RASKIN, R. E. Liver cytology: interpreting needle biopsy samples. **Veterinary Medicine**, v. 95, n. 3, p. 244-249, 2000.

REPPAS, G.; CANFIELD, P. Citología diagnóstica de lesiones cutáneas en el perro y en el gato. Parte I: tratamiento de las muestras para el examen citológico. **Veterinary International**, v. 7, n. 1, p. 8-17, 1995.

REPPAS, G.; CANFIELD, P. Citología diagnóstica de lesiones cutáneas en el perro y en el gato Parte 1: tratamiento de las muestras para el examen citológico. **Veterinary International**, v. 7, n. 1, p. 8-17, 1995.

RICHARDSON, R.C., Render, J.A., Rudd, R. G. *et al.* Metastatic canine hemangiopericytoma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**: v. 182, p. 705-6, 1986.

RICHARDS, M. Hemangiopericytoma. Disponível em: www.vetinfo.com. Acesso em; 21/10/2001.

RICHARDSON, RC Solid tumors. **Vet. Clin. North Am.- Small Na.Pract.** v. 15, n. 3, p. 557-67, 1985.

ROGERS, K.S.; BARTON, C.L.; HABRON, J.M. Cytology during surgery. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 18, n. 2, p. 153-162, 1996.

ROHOLL, P. J. The Relevance of the DNA Index and Proliferation Rate in The Grading of Benign and Malignant Soft Tissues Tumors. **Cancer**, v. 65, p. 1782-88, 1990.

ROTHMAN; K. Epidemiology. **J.Modern Epidemiology.Brow and Company**, v.123, p.478, 1986.

RUAUX, C.A clinical approach to canine and feline neoplasia. **Australian Veterinary Practitioner**. v. 23, n.1, p. 44-52, 1993.

RUSSEL, W. O., COHEN, J.; ENZINGER, F.; HJDU, S. I.; HEISE, H.; MARTIN, R. G.; MEISSNER, W.; MILLER, W.T.; SCHMITZ, R. L.; SUIT, H. D. A Clinical and Pathological Staging System for Soft Tissue Sarcomas. **Cancer**, v.40, p. 1562-70, 1977.

SAMII, V. F.; NYLAND, T. G.; WERNER, L. L.; BAKER, T. W. Ultrasoundguided fine-needle aspiration biopsy of bone lesions: a preliminary report. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 40, n. 1, p. 82-86, 1999.

SANTOS, J.E.C.; LEIMAN, G. Non-aspiration fine needle cytology application of a new technique to nodular thyroid disease. **Acta Cytologica**, v. 32, n. 3, p. 353-356, 1988.

SANTOS, S.V.; LOT, R.E. Levantamento de neoplasias diagnosticadas no serviço de Patologia da Universidade de São Paulo no ano de 2000 e 2003-USP.SIMPÓSIO DE ONCOLOGIA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 10.,2004, São Paulo.**Resumos...**São Paulo: USP, 2004. CD-ROM.

SCHOTTENFELD;D.F.Cancer Epidemiology and Prevention.**W.b.Sauders Campany**, v.78, p.156-258,1982.

SCHULTENOVER, S. J.; RAMZY, I.; PAGE, C. P.; LEFEBRE, S. M.; CRUZ, A. B. Needle aspiration biopsy: role and limitations in surgical decision making. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 82, n. 4, p. 405-410, 1984.

SCHULTENOVER, S.J. *et al.* Needle aspiration biopsy: role and limitations in surgical decision making. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 82, n. 4, p. 405-410, 1984.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E. Hemangiopericitoma. In:_____ **Small Animal Dermatology**. Philadelphia: Saunders, 1995. p. 1-54.

SCOTT, D. W., MILLER, W. H., GRIFFIN, C. E.Hemangiopericitoma. In:_____ **Dermatologia de pequenos animais**. Interlivros edições, Rio de Janeiro, Brasil, 1996. p. 967 – 975.

SEYBOLD, I.; GOLDSTON, R.T.; WILKES, R.D. Exfoliative cytology. **Veterinary Medicine**, v. 77, n. 7, p. 1029-1033, 1982.

SIMON, M. A.; ENNEKING, W.F. The Management of Soft-Tissue Sarcomas of the Extremities. **J. Bone Joint Surg.**, v.58-A, n. 3, p. 317-27, 1976.

SLATER, D. N.; REILLY, G. Fine needle aspiration cytology in dermatology: a clinicopathological appraisal. **British Journal of Dermatology**, v. 115, n. 3, p. 317-327, 1986.

SMETANA, H. F. The needle biopsy in diagnosis. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 24, n. 4, p. 395-405, 1954.

SMITH, I. H.; FICHER, J. H.; LOTT, J. S.; THOMSON, D. H. The cytological diagnosis of solid tumors by small aspiration and its influence on cancer clinic practice. **The Canadian Medical Association Journal**, v. 80, n. 11, p. 855-860, 1959.

SOCIEDADE COLOMBIANA DE CADIOLOGIA .Pericito.Disponível em:<www.scielo-co.bus.br/scielo.php?lng=in.Bogotá,2002.Acesso em:24 jun.2004.

SÖDERSTRÖM, N. Identification of normal tissues and tumors by cytologic aspiration biopsy. **Acta Societatis Medicorum Upsaliensis**, v. 63, n. 1-2, p. 53-87, 1958.

STOUT. A.P., MURRAY, M.R. Hemangiopericytoma: a vascular tumor featuring Zimmermann's pericytes. **Annals of Surgery**; v. 116, p. 26-51, 1942.

STOICA,G.;TASCA,S.I.; KIM,H.T. Point mutation of neu oncogene in animal peripheral nerve sheath tumors. *Vet Pathol* v. 38, p. 679-688, 2001

STORM;H.H.Cancers of soft tissue.**Cancer Surt**, v.465, p.123-159, 1994

TAO, L. C.; PEARSON, F. G.; DELARUE, N. C.; LANGER, B.; SANDERS, D.E. Percutaneous fine-needle aspiration biopsy. **Cancer**, v. 45, n. 6, p. 1480-1485, 1980.

TAPIA, F. J., BARBOSA, A. J. A., MARANGES, P.J., POLAK, J.M., BLOOM, S.R., and DERMODY, C.: Neuron-specific enolase is produced by neuroendocrine tumours. **The Lancet**, p. 808-811, 1981.

TAYLOR, C.B., ROYDS, J.A., PARSON, M.A., and TUNPERLEY, W.R.: Diagnostic Aspects of Enolase Isozymes. In *Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research*, v. 11 p. 95-119, 1983.

TAYLOR, J. A.; BAKER, R. The lymphatic system. In:____J. H. **Color atlas of cytology of the dog and cat**. St Louis: Mosby, 2000. p. 71-94.

THOMAS, R. C.; FOX, L. E. Tumors of the skin and subcutis. In____: **Cancer in dogs and cats: medical and surgical management**. Maryland: Williams & Wilkins, 1998. p. 489-510.

THOOLEN, R.J.M.M., Vos, J.H., Van der Linde-Sipman, J.S. *et al.* Malignant fibrous histiocytomas in dogs and cats: an immunohistochemical study. **Research Veterinary Science**; v. 53, p. 198-204, 1992.

TOKES, Z. A., GENDLER, S.J., DERMER, G.B.: The synthesis of a proteinase inhibitor alpha – antichymotrypsin, by human breast epithelial cells. **J. of Supermolecular Structure and Cellular Biochem.**, v. 17, p. 69-77, 1981.

TOSOKOS, M., HOWARD, R., and COSTA, J.: Immunohistochemical study of alveolar and embryonal rhabdomyosarcoma. **Lab. Invest.** v. 48, p. 148-155, 1983.

TROJANOWSKI, J.Q., and LEE, V. M-Y.: Monoclonal and polyclonal antibodies against neural antigens. **Human Pathology**, v. 14, p. 281-285, 1983.

TSOKOS. M., LIMOILA, R. I., CHONDRA, R.S., and TRICKE, T.J.: Neuron-specific enolase in the diagnosis of neuroblastoma and other small round-cell tumours in children. **Human Pathol.**, v. 15, p. 575-584, 1984.

TYLER, R.D., COWELL, R.L.; MEINKOTH, J.H., In:____ **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. 2 ed. St Louis: Mosby, 1999. p. 1-19.

URBACH, F.; BURKE, E.M.; TRAENKLE, H.L. Cytodiagnosis of cutaneous malignancy. **American Medical Association Archives of Dermatology**, v. 76, p. 343-350, 1957.

VAIL, D. M.; WITHROW, S.J. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In:____ **Small animal clinical oncology**. Philadelphia: W B Saunders, 1996. p. 167-191.

VALLI, V. E. O. Techniques in veterinary cytopathology. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, v. 3, n.2, p. 85-93, 1988.

VILLIERS, E; DUNN. J. Collection and preparation of smears for cytological examination. *In Practice*, v. 20, n. 7, p. 370-377, 1998.

VINOES, S.A., BONNIN, J. H., RUBINSTEIN, L. J., and MARANGOS, P.J: Immunohistochemical demonstration of neuro-specific enolase in neoplasms of the CNS and other tissues. **Arch. Pathol. Lab. Med.** v. 108, p. 536-540, 1984.

WALDER, E.J., GROSS. T.L. Neoplastic diseases of the skin. In: _____
Veterinary Dermatopathology. St. Louis MO: Mosby-Year Book. 1992. p. 436-8.

WASEEM, N.H. Haemangiopericytomas: the prognostic value of immunohistochemical staining with a monoclonal antibody to proliferating cell nuclear antigen (PCNA). **Histopathology**, v. 19, p. 29-33, 1991.

WATANABE, M., SKODA, E. and HANIOKA, K. (1984): Changes of Ulex europaeus agglutinin I binding sites in human vascular endothelium of synovial membrane in joint diseases. In: **Int. Cell Biology**, 416. Eds. S. Seno.

WEISS, E. Tumours of the soft (mesenchymal) tissues, Bulletin of the World Health Organization; v. 50, p. 101-10, 1974.

WEISS, S.W., LANGLOSS, J. M., and ENZINGER, F. M.: **Lab. Investigation** v. 49, p. 299-308, 1983.

WELLMAN, M. L. Cytology and the Diagnosis of Neoplasia. In: THE 20TH ANNUAL WALTHAM/OSU **SYMPOSIUM – ONCOLOGY AND HEMATOLOGY**, 1996, p. 11-20.

WELLMAN, M. L. The cytologic diagnosis of neoplasia. Veterinary Clinics of North America: **Small Animal Practice**, v. 20, n. 4, p. 919-938, 1990.

WELLMAN, M.L. Cytology and the Diagnosis of Neoplasia. In: ANNUAL WALTHAM/OSU SYMPOSIUM – ONCOLOGY AND HEMATOLOGY, 20.; 1996, [S.1.]. **Symposium...** p. 11-20.

WELLMAN, M.L. The cytologic diagnosis of neoplasia. Veterinary Clinics of North America: **Small Animal Practice**, v. 20, n. 4, p. 919-938, 1990.

WICK, M. R., SCHEITHAUSER, B.W., and KOVACS, K.: Neuron-specific enolase in neuroendocrine tumors of the thymus, bronchus and skin. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 79, p. 703-707, 1983.

WYLLIE, A.H.; KERR, J.F.; CURRIE, A.R. Cell death: the significance of apoptosis. **Int. Rev. Citol**, v.66, p.251-306, 1980.

WITHROW, S.J. Why worry about cancer in pet animals? In _____: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 2. ed. Philadelphia: W B Saunders. p. 1-3; 1996.

WOLD, L. E., LI, C.Y., and HOMBURGER, H. A.: Localization of the B and M polypeptide subunits of creatine kinase in normal and neoplastic human tissues by an immunoperoxidase technic. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 75, p. 327-332, 1981.

WOODS, A. L.; HALL, P. A.; SHEPHERD, N.A.; HANBY, A. M.; WASSEM, N.T. The assessment of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining in primary gastrointestinal lymphomas and its relationship to histological grade, S + G₂ + M phase fraction (flow cytometric analysis) and prognosis. **Histopathology**, v.19, p. 21-7, 1991.

Y.; DOI, T. Multivariate analysis for histologic prognostic factors in soft tissue sarcomas. **Cancer**, v.62, p. 994-8, 1988.

XU FN Ultrastructure of canine hemangiopericytoma . **Vet.Pathol.** v. 23, n. 5: p. 643-5, 1986.

ZAHM, S.H. A case-control study of soft-tissue sarcoma. **Am J. Epidemiol**, v.45; p. 156-255, 1989.

ZINKL, J. G. Criteria of malignancy in cytologic preparations. **California Veterinarian**, v. 35, n. 6, p. 13-17, 1981.

APÊNDICE

Segue a relação de cadastro dos casos aqui expostos e o conteúdo descritivo alcançado com a entrevista realizada aos proprietários para obtenção de dados epidemiológicos e prognósticos. Além de ilustrações dos três subtipos de CHP e de imunomarcações.

Diagnóstico histológico	Identificação	ESPÉCIE	Raça	Idade	Sexo	Macroscopia	LOCALIZAÇÃO
Hemangiopericitoma perivascular (1)	39059/38901 data:	C	SRD	9	M	Não alopecia, não ulcerada	MT
Hemangiopericitoma perivascular (2)	32919 data:07/1996	C	Pastor Alemão	10	F	ncd	NDN
Hemangiopericitoma perivascular (3)	33397/ data10/1996	C	Poodle	10	F	ncd	MP
Hemangiopericitoma perivascular (4)	36189/91271 data:11/1998	C	Pastor Alemão	10	M	25X13X10cm;Aderida planos profundos	MT
Hemangiopericitoma perivascular (5)	33712/22068 data12/1996	C	SRD	9 ^A	F	ncd	CERVICAL
Hemangiopericitoma perivascular (6)	40333/119768 data:12/2001	C	BOXER	6	F	2.5x2.5x2cm	MT
Hemangiopericitoma perivascular (7)	38309/115158 data3/2000	C	SRD	7	M	ncd	MP
Hemangiopericitoma perivascular (8)	41540/72005 data:2002	C	Pastor Alemão	12	F	8.5X7cm	TORAX
Hemangiopericitoma perivascular (9)	39955/121532 data:08/2001	C	Poodle	11	M	15cm,séssil, aderido a planos profundos, eritematoso	MT
Hemangiopericitoma perivascular (10)	42330/138064 data 03/2003	C	Boxer	12	F	12X10X7cm alopecica, não ulcerada, aderida	LOMBAR
Hemangiopericitoma perivascular (11)	37656/ data10/1999	C	Pastor Alemão	9	M	ncd	MT
Hemangiopericitoma perivascular (12)	41277/132000 data:08/2002	C	Husky siberiano	10	F	4x4x2cm	MT
Hemangiopericitoma perivascular (13)	39281/ data02/2001	C	SRD	10	F	5cm séssil, firme	TÓRAX
Hemangiopericitoma perivascular (14)	33937/ data:10/1996	C	Poodle	11	F	7cm	MP
Hemangiopericitoma perivascular (15)	42595/143912 data07/2003	C	SRD	13	M	11X8X8cm,séssil, não aderida, não alopecica, não ulcerada	TÓRAX
Hemangiopericitoma perivascular (16)	37973/70941 data:12/1999	C	Pastor Alemão	9	F	10X7X7cm,firme,pedunculada	MP
Hemangiopericitoma perivascular (17)	42296/140210 data:05/2003	C	SRD	13	M	4cm,firme,ulcerado, alopecico, hemorrágico,	MT
Hemangiopericitoma perivascular (18)	40695/127706 data:08/2002	C	Beagle	16	M	2cm,hiperpigmentado, aderido planos profundos,ulcerado,alopécico	dígito MP
Hemangiopericitoma perivascular (19)	42582/143120 data:08/2003	C	Husky Siberiano	11	M	9X6cm,aderido, não alopecico,ulcerado,fétido	MT
Hemangiopericitoma perivascular (20)	31952/ data:12/1995	C	Poodle	8	F	6cm	MT
Hemangiopericitoma perivascular (21)	39910/120772 data:07/1990	C	Pinsher	11	F	6cm,alopécico,aderida a planos profundos	MP
Hemangiopericitoma perivascular (22)	42365/142079 data:06/2003	C	Labrador	10	M	8.5X6cm,firme, alopecico,parcilamente aderida, ulcerada,sensível	MP
Hemangiopericitoma perivascular (23)	42263/140313 data:04/2003	C	Boxer	9	F	4cm,firme, aderida planos profundos, alopecicas,ulcerada	dígito MT
Hemangiopericitoma perivascular (24)	38846/110995 data:09/2000	C	Afghan Hound	7	F	6cm, macia, não alopecica, não aderida	MP
Hemangiopericitoma perivascular (25)	42593/144318 data:10/1991	C	SRD	11	M	3cm, ulcerado, aderido planos profundos	Dígito MT
Hemangiopericitoma perivascular (26)	37412/22068 data:12/1996	C	SRD	9	F	11cm	MT
Hemangiopericitoma perivascular (27)	38952/112437 data 10/2000	C	Fila brasileiro	10	M	ncd	Ncd
Hemangiopericitoma perivascular (28)	39478/115776 data 04/2001	C	Pastor Alemão	10	M	8cm,não ulcerada, não aderida, hiperpigmentada,alopécica	ESTERNAL
Hemangiopericitoma perivascular (29)	39431/116165 data:03/2001	C	SRD	15	F	8cm,não ulcerada,não alopecica,	MP
Hemangiopericitoma perivascular (30)	39363/114534 data:2000	C	Pastor Alemão	10	F	11cm	MT
Hemangiopericitoma perivascular (31)	40858/128883 data:03/2002	C	Pinsher	16	F	5x6X5cmfirme, aderida planos profundos	CERVICAL
Hemangiopericitoma perivascular (32)	40895/128715 data:05/2002	C	Pastor Alemão	5	M	10cm,não aderida, não ulcerada,firme, alopecica	TÓRAX
Hemangiopericitoma perivascular (33)	40082/123135 data:2001	C	Poodle	9	F	3x3x3cm	MT
Hemangiopericitoma perivascular (34)	41989/oc data:02/2003	C	SRD	12	F	5cm,macia	MT
emangiopericitoma perivascular (35)	38595/108931 data:06/2000	C	SRD	9	F	14CM,lisa, ulcerada, parcialmente aderida	MP

Alimentação	Associação com outras neoplasias	Metastase	Recidiva	Terapêutica	Comportamento neoplásico (Pcna)
1	Seminoma	Baço (noudulo 2cm/US)	R	Eutanásia	3.8%,9.7%,33.4%,35.8%, 3.2%
ncd	Ncd	Ncd		Incisão cirúrgica	Ncd
ncd	Ncd	Ncd		IC	Ncd
ncd	Ncd	Ncd		IC	Ncd
Ncd	Ncd	ncd		IC	Ncd
Ração 6	Mastocitoma I	NDN	NR	IC	Cl0=1.48%;CL1=6.44%;CL2=15.52% CL3=42%;CL4=0%
Caseira e ração 6	NDN	ndn	NR Óbito (trauma)	IC	5.6%; 4.8%; 41.1%; 45.3%; 45.3%2.3%
Ração	adenocarcinoma	ncd	ncd	IC	Ncd
Ração 8	NDN	NDN	R	IC	12%,7.6%,47.2%,29.5%,0%
Ração 9	Massa abdominal (US)	ndn	R 06/2003 emangiossarcoma	IC/IC+CRIO eutanasia	5.7%,1.06%,26.64%,86.8%,30.2%, 5.34%
Ração+ Caseira	NDN	Ndn	NR	IC	11.47%,7.21%,55.3%,24.9%;0.18%
Ração	NDN	ndn	NR	IC	10 %,5%,39%,41%,0%
Ração 12	Ndn	ndn	NR	ic	13.4,9.9%,45%,29.7%,2%
Ração 13	Pilomatricoma	ndn	NR	IC	5.2%,4.86%,31.23%,39.90%,2%
Caseira+ração 14	Ndn	NDN	NR	IC	4.7%,6%,45%,12.5%,0.4%
Ração+caseira	Ndn	ndn	NR	Ic+crio	4%,5%,54%,9.6%,0.2%
Ração+caseira 6	NDN	ndn	NR	IC+crio	0.9%,5.2%,45%,23.5%,0.3%
Ração 17	Fratura MPE	NDN	NR	Amputação	3.3%,6.4%,31%,24.5%,1.01%
Ração 18	NDN	SEM MARGEM	NDN	Eutanasiado	Ncd
Ração 19	Ndn	ndn	NR	IC	3.3%,2%,67%,21%,0%
Ração 20	Adenocarcinoma	NDN	NR	IC	15%,4.8%,39%,41%,0%
Caseira +Ração 21	Paraplegia	NDN	NR	IC+CRIO	7.3%,11.1%,52.8%,28.8%,3.4%
Caseira + raça 22o	NDN	NDN	NR	Amputação	Ncd
Ração 23	NDN	NDN	R	IC	Ncd
Ração 24	Hemangiopericitoma MTE (5cm)/07/2004	NDN	NR	amputação	4.2%,8%,52%,36%,0%
Ração 25	Adenoma	comprometidas	R	IC	Ncd
Ração+caseira 6	NDN	NDN	NR	IC	Ncd
Caseira+ração 27	Seminoma+sertolinoma	NDN	NR	IC	8.1%,6.7%,26%,9%,1.6%
Ração 28	Lipoma, adenocarcinoma	NDN	NR Óbito	IC	Ncd
Ração 29	Lipoma	NDN	NR Óbito(efusão pleural)	IC+linfonodu-lectomia axilar	4.3%,5.6%,23.28%,33.7%,1.09%
Ração 30	NDN	Remoção de 6anéis traquéias	NDN	IC	Ncd
Ração 31	Sarcoma tórax E/cito/visita	NDN	NR	IC	2.1%,7.1%23%29%0.9%
Caseira+ração 32	NDN	NDN	R	IC	3%,4.8%,16%,44%.0.3%
Caseira+ração 32	ndn	Ndn	NR		Ncd
RAÇÃO 34	Mastocitoma GI	Ndn	N		Ncd

Diagnóstico histológico	Identificação	Espécie	Raça	Idade	Sexo	Macroscopia	Localização
Hemangiopericitoma estoriforme (1)	39309/115158 data:2000	C	SRD	10	M	Firme, aderido, ulcerado, irregular; 2.5cmx0.5	MP
Hemangiopericitoma estoriforme (2)	41441/ data:09/2002	C	SRD	13	M	Séssil, firme, não ulcerada,3x4x2cm	TÓRAX
Hemangiopericioma estoriforme (3)	39022/97598 data:11/2000	C	BOXER	14	F	macia, hiperpigmentada,pedunculada, 7.5x7.5x5cm	PERÍNEO
Hemangiopericitoma estoriforme (4)	42378/20292 data:06/03	C	BOXER	13	M	Alopécica,séssil, não ulcerado,aderida a planos profundos,8x5cm	MT
Hemangiopericitoma estoriforme (5)	42002/138892 data:02/2003	C	COLLIE	9	F	Firme, lisa, 10cm	MP
Hemangiopericitoma estoriforme (6)	40394/47011 data:12/01	C	SRD	10A	F	Firme, não aderida, séssil,não ulcerada,5cm	MP
Hemangiopericitoma estoriforme (7)	42126/47011 data:03/2003	C	SRD	12A	F	Macia, lisa, parcialmente aderida,5x6x5cm	MP
Hemangiopericitoma estoriforme (8)	38999/113095 data:10/2000	C	ROTTWILER	3	F	Fime, alopecicas,4cm	PERINEAL
Hemangiopericitoma estoriforme (9)	42465/142739 data:06/2003	C	SRD	9	F	Firme, não aderida, ulcerada,10cm	MT
Hemangiopericitoma estoriforme (10)	41989/ data:2002	C	SRD	8	F	5cm	MT
Hemangiopericitoma estoriforme (11)	25541/ data: 01/1991	C	SRD	8	F	8cm	MP
Hemangiopericitoma estoriforme (12)	40082/123135 data:2003	C	Poodle	9	F	5X4X3cm	MT
Hemangiopericitoma estoriforme (13)	38014 data:12/1999	C	SRD	6	F	5X6X6cm	MT
Hemangiopericitoma estoriforme (14)	41458 data:07/2002	C	HUSHY	15	F	15X11cm	MP
Hemangiopericitoma estoriforme (15)	38997/112905 data:10/2000	C	SRD	5	M	Firme, hemorrágico,ulcerado,não aderida	CERVICAL
Hemangiopericitoma estoriforme (16)	41235/57292 data:07/2002	C	BOXER	8	M	Firme, lisa, séssil 1.5x1.5cm	MT
Hemangiopericitoma estoriforme (17)	35453/84471 data:	C	SRD	12	F	Ulcerado , hemorrágico 8x5	MP
Hemangiopericitoma estoriforme (18)	42854/147026 data:10/2003	C	AKITA	9.5	F	MTE = não ulcerado,5cm MPE=ulcerado 3.5cm	MT MP
Hemangiopericitoma estoriforme (19)	40187/122864 data: 10/2001	C	DOBERMAN	9.5	F	Lisa, alopécica, não ulcerado 12x10cm	MP
Hemangiopericitoma estoriforme (20)	34075/72644 data:03/1997	C	Doberman	11	F	Macia, aderida 8cm	COSTAL

Alimentação	Associação c/ outras neplasias	Metastase	Recidiva	Tratamento	Comportamento neoplásica (Pcna)
Ração	MastocitomaII(testículo); fratura MPE	NDN	NR	IC	3.6%,5.5%,21.3%,47.4%,1.6%
ração	NDN	ndn	R	Ic+crio	3.9%7.6',40%,38%,0.8%
Ração	Mastocitoma III(costal)	Linfonodos (masto)	NR	IC (eutanásia)	5.3%,6.5%,30.1%,56%,0.8%
Ração	Mastocitoma I (bolsa escrotal)	NDN	NR	IC+CRIO	6.9%,7.16%,27.76%,54.5%,3.2%
Ração+cenoura	NDN	NDN	NR	IC	9.7%,9.1%,39.34%,38.8%,3.19%
Rac	NDN	NDN	R	IC	8.2%,6.3%,44%,36%,1.8%
Rac	NDN	NDN	NDN	IC+CRIO	9%,8.6%,36.2%,48.3%,2.3%
Ração	NDN	NDN	NDN	IC(eutanásia=Aquesia)	5%,6%,46%,36%,1.8%
Ração +alimento	NDN	NDN	NR	IC+CRIO	2.2%,9.5%,62%,17%, 9.1%
Ração	NDN	Ndn	N	IC	2.7%,5.8%,37%,32%,2.1%
R+ali	ndn	ndn	N	IC+CRIO	Ncd
Caseira+Ração	NDN	Nódulo em baço(US)	NR	IC+CRIO+QUIMI O AMPUTAÇÃO	3.2%,5.4%,18%,48%,0.5%
Ração	Dra katia	NDN	R	IC	1.7%,6.2%,30.3%,1.1%
Ração	NDN	NDN	N	IC+CRIO	12.2%,7.4%,60%,21%,0.4%
RA	NDN	NDN	R	IC	Ncd
RAÇÃO	NDN	NDN	NR	IC	2.5%,8.6%,30%,43%,1.8%
Ração +caseira	ndn	ndn	-NDN	IC	2.2%,4.8%,25%,29%,1.1%
Ração	Hemangiossarcoma(MPE)	ndn	NR	IC	5.91%, 10.05%,33%,55%, 0.5%
Ração	NDN	NDN	NDN	IC+CRIO	2.7%,9.3%,41%,39.9%,1.01%
Caseira	lipoma	NDN	NDN	IC	4.3%,12%,26%,34%,0.9%

Diagnóstico histológico	Identificação	Espécie	Raça	Idade	Sexo	Macroscopia	Localização
Hemangiopericitoma epitelióide (1)	39315/pg data:02/2001	C	BOXER	6	M	Firme, não ulcerada, 5x2.5cm	MP
Hemangiopericitoma epitelióide (2)	42632/143984 data:08/2003	C	DOG ALEMÃO	9	M	Firme, não aderida, 5x5cm	External
Hemangiopericitoma epitelióide (3)	40638/126718 data:01/2002	C	PASTOR BELGA	10	F	12cm, firme	MP
Hemangiopericitoma epitelióide (4)	41219/131827 data:2002	C	PITBULL	8	M	Firme, aderida, não ulcerado, 20cm	Flanco
Hemangiopericitoma epitelióide (5)	41297/132848 data:2002	C	SRD0	15	M	Hemorrágico 6x6cm	Perianal
Hemangiopericitoma epitelióide (6)	39369/99402 data:2000	C	HUSKY	11	M	Firme, lisa, séssil, 8x7x3cm	MP
Hemangiopericitoma epitelióide (7)	40348/124101/ data:2001	C	HUSKY	13	M	Aderido a planos profundos	MT
Hemangiopericitoma epitelióide (8)	40884/128092 data:2000	C	SRD	8A	M	12x8x10cm	MT
Melanizado	36017/89706 data:09/1998	C	SRD	12	M	Firme, não ulcerado, não aderido, 8cm	Hemitórax
Hemangiopericitoma epitelióide (9)	34097/4197 data:04/1997	C	SRD	13	F	10cm	MP
Hemangiopericitoma epitelióide (10)	39522/118898 data:04/2001	C	Setter Irlandês	19	M	7cm	MP
Hemangiopericitoma epitelióide (11)	39090/94060 data:11/2000	C	SRD	12	F	Firme, não alopecica, eritematosa, parcialmente aderida	DÍGITO
Hemangiopericitoma epitelióide (12)	39349/116858 data:03/2001	C	BOXER	9	M	20cm	MP
Hemangiopericitoma epitelióide (13)	39197/114534 data:03/2001/	C	Pasor Belga	10	F	20X10X11CM	MT
Hemangiopericitoma epitelióide (14)	39773/120227 data:10/2000	C	Poodle	5	M	8m, ulcerada	Pavilhão Auricular
Hemangiopericitoma epitelióide (15)	39773/120227 data:09/2001	C	Poodle	5	M	6cm	Pavilhão Auricular
Hemangiopericitoma epitelióide (16)	41482/54603 data:08/2002	C	HUSKY	10	F	5cm, ulcerado	MT

Hemangiopericitoma epitelióide (17)	40348/124101 data:12/2001	C	13	HUSKY	M	8	MT
Hemangiopericitoma epitelióide (18)	39146/113022 data:01/1999	C	9A	BOXER	M	10CM	MP
Hemangiopericitoma epitelióide (19)	14139/113022 data:07/2002	C	9A	BOXER	M	11x9x5CM,firme, aderido, ,liso, não ulcerado	MP
Hemangiopericitoma epitelióide (20)	ncd	C	10	SRD	F	NCD	NCD
Hemangiopericitoma epitelióide (21)	40863/97444 data:04/2002	C	8	wHIPPE T	F	13CM	MT
Hemangiopericitoma epitelióide (22)	42561/? Data:07/2003	C	10	SRD	F	15CM	MT

Alimentação	Associação c/ outras neplasias	Metastase	Recidiva	Tratamento	Comportamento neoplásica (Pcna)
Ndn	Ndn	NCD	NCD	IC	11.24%,10.9%,43.79%, 50%,1.51%
	Seminoma, outros sarcomas inconclusivos	Alteração ecogenicidade fígado e testículo	NR	IC	6.2%,8.6%,19.3%, 44.8%,0.6%
Ndn	NCD	NCD	NCD	NCD	6.22%,6.22%,28.7%,43.4%,6.18%
Ração +caseira	Ndn	Nódulo em fígado e testículo	NR (óbito/outras)	IC	8.2%,3.65%,33.5%,37.10%,0%
	NCD	NCD	NCD	IC+crio	7.46%,35.96%,12.09%,31.15%,2.55%
Ração +comida caseira	Lipoma carcinoma gl.adanal	ndn	R2002/ NR	IC/2000 IC/2002	7.41%,11.01%,10.14%,35.42%,1.33%
Comida caseira	seminoma	(prostatopatia)	R	IC Óbito (pielonefrite)	8%,4%,29%,30%,1.09%
Ração +caseira	Sarcomas inconclusivos (cervical, costal)	NDN	R (eutanasiado)	Amputação (comprometido plelso braquial)	20.3%,8%,16%,53%,2.11%
ndn	Sarcoma prepúcio	ndn	Ndn	IC	18%,17%,22%,48%,3.6%
CASEIRA	Ndn	ndn	NCD	IC	18%,9.2%,14.8%,55.2%,2.4%
ração	Adenocarcinoma ductal	NDN	NCD	IC	7.9%,4.3%,30.2%,42%,1.2%
Ração+ caseira	Ndn	ndn	R	IC	7.13%, 3.72%,24.7%,22.2%, 0.27%
NDN	NCD	NCD		NCD	5.40%,30.9%,10.09%,33.7%,2.05%
RAÇÃO	LIPOMA	ndn	NR Óbito(efusão)	IC+linfo- dectomia	2.2%.5.5%,28%,22%,0.8%
Ração+caseira	Ndn	ndn	R	IC	17%,14.2%,22.4%,48%,3.8%
Ração+caseira	Ndn	ndn	NR	Amputação	14.8%,12.7%,28.7%,43.04%,3.2%
RAÇÃO	Ndn	ndn	NR	IC	9.33%,4.02%,34.50%,36.80%,1.2%
RAÇÃO	seminoma	NDN	NCD	IC	8%,12%,21%,48%,2.01%
RAÇÃO	fibrossarcoma	Ndn	R	IC	18%,19%,24%,49%,5.4%
RAÇÃO	fibrossarcoma	Nódulo pulmonar	Ndn	IC Óbito	17%,18%,33%,55%,4.3%
NDN	NCD	NCD	NCD	NCD	22%,18%,25%,49%,3.9%
RAÇÃO	NCD	Linfonodo axilar	NCD	NCD	7%,19%,22%,46%,3.3%

Diagnóstico histológico	Identificação	Espécie	Raça	Idade	Sexo	Macroscopia	Localização
Sarcoma inconclusivo (1)	39091/108747 data:2001	C	SRD	8	M	Alopécia, ulcerada, parcialmente aderida, 8cm	MT
Sarcoma inconclusivo (2)	40580	C	Doberman	10	F	10cm	MT
Sarcoma inconclusivo (3)	27804\ data:1992	C	Cocker	10	M	3cm	3.pálpebra
Sarcoma inconclusivo (4)	37852/101820 data:1999	C	SRD	12	M	12cm,	MT
Sarcoma inconclusivo (5)	42916/146567 data:2002	C	SRD	6	M	Aderido a planos profundos 14 cm	MT
Sarcoma inconclusivo (6)	40187/122864 data:10/2001	C	Doberman	9.5	F	Alopecicas, firme, lisa1, ulcerada, 2cm,	MP
Sarcoma inconclusivo (7)	41896/137221 data:01/2003	C	Doberman	12	M	4cm,	?
Sarcoma inconclusivo (8)	336/ data:2002	C	BOXER	12	M	15cm, alopecico, ulcerado, aderido	MT
Sarcoma inconclusivo (9)	39310/93249 data:01/2001	C	SRD	7	F	15cm, lisa, profundamente aderido	MT
Sarcoma inconclusivo (10)	36017/89706 data:09/1998	C	SRD	12	M	10cm	Tórax
Sarcoma inconclusivo (11)	41608/ data:10/2002	C	Doberman	10	F	8x6x8 cm	NCD
Sarcoma inconclusivo (12)	39478/115776 data:04/2001	C	Pastor Alemão	10	M	8cm, alopecica, hiperpigmentada,	ESTERNO
Recidivante(externo)	34776/71485 data:09/1197	C	BOXER	12	M	5cm, eritematosa, alopecica, aderida	MT
Sarcoma inconclusivo (13)	41427/130724 data:2001	C	Setter Irlandês	13	F	7x7x7cm, não alopecico, não ulcerado	MT
Sarcoma inconclusivo (14)	34356/ data:06/1997	C	SRD	12	F	8cm	MP
Sarcoma inconclusivo (15)	40120/120227 dat:10/2001	C	POODLE	5	M	10cm	Pavilhão Auricular
Sarcoma inconclusivo (16)	35453/84871 data:04/1998	C	SRD	12	F	12cm	MP
Sarcoma inconclusivo (17)	40118/120754 data:10/2001	C	Labrador	8	M	NCD	NCD

Alimentação	Associação c/ outras neplasias	Metástase	Recidiva	Tratamento	Comportamento neoplásica (Pcna)
r	NDN	NDN	NÃO RECID	CRIO+IC	NCD
R	Adenocarcinoma	Ndn	não	Ic+crio	NCD
R	NDN	Ndn	ano	Ic	4.7%,6%,45%,12.5%,0.4%
R	SEMINOMA	Bolsa escrotal	ano	Ic	4%,5%,54%,9.6%,0.2%
R+c	NCD	Ndn	NCD	IC+CRIO	NCD
R+C	SEMINO	Massa abdominal (US)	R	IC (eutanásia)	17%,18%,33%,55%,4.3%
R+C	Seminoma/carcinoma	Ndn	R	IC(eutanásia)	18%,9.2%,14.8%,55.2%,2.4%
Ração	Ndn	Ndn	Ndn	IC	NCD
R	Ndn	Ndn	Não	IC	NCD
R+C	adenocarcinoma	NDN	N	IC(óbito)	NCD
Ração+caseira	Ndn	Ndn	NR	Amputação	0.9%,5.2%,45%,23.5%,0.3%
Ração+carne	Seminoma +setolinoma	NDN	NR	IC	3.3%,6.4%,31%,24.5%,1.01%
NDN	Ndn	Ndn	NDN	NDN	NDN
NDN	NDN	NDN	Ndn	NDN	NDN
NDN	Ndn	Ndn	NDN	NDN	NDN
NDN	NDN	NDN	Ndn	NDN	NDN
NDN	Ndn	ndn	NDN	NDN	NDN
NDN	NDN	NDN	ndn	NDN	NDN

Figura 3 Hemangiopericitoma epitelióide. Coloração H & E, 100x.

Figura 4 Pós cirúrgico (crioterapia) hemangiopericitoma epitelióide.

Figura 5 Sinal clínico dermatológico com alopecia endócrina resultante do seminoma associado ao hemangiopericitoma epitelióide.

Figura 6 Conchectomia total esquerda cão com hemangiopericitoma epitelióide

Figura 7 Recidiva hemangiopericitoma epitelióide. Consistência levemente firme, mensurando 10x5cm.

Figura 8 Canino adulto apresentando formação circunscrita (hemangiopericitoma epitelióide) em metacarpo esquerdo (recidiva de hemangiopericitoma perivascular)

Figura 9 Animal geriátrico, detalhe da cicatriz do hemangiopericitoma estoriforme (topografia:lombosacral).

Figura 10 Animal adulto com exérese total do quinto dedo esquerdo de hemangiopericitoma epitelióide.

Figura 11 Ausência de recidiva em cão adulto do hemangiopericitoma epitelióide após remoção quinto dedo.

Figura 12 Animal geriátrico com seminoma associado a hemangiopericitoma perivascular em membro pélvico esquerdo

Figura 13 Recidiva de hemangiopericitoma estoriforme em membro pélvico direito.

Figura 13 Amputação total de membro torácico esquerdo cadela geriátrica com diagnóstico de recidivante de heamngiopericitoma estoriforme.

Figura 14 Macho Boxer, com cicatriz de exérese associada a crioterapia em membro torácico direito. Nota-se animal castrado, alvo de seminoma.

Figura 15 Cão geriátrico apresentando cicatriz de exérese associada a crioterapia de um hemangiopericitoma epitelióide.

Figura 16 Pastor Alemão com cicatriz cirúrgica após remoção de hamangiopericitoma perivascular (acima) e nova formação em região escapular “epis lateral” a formação anterior.

Figura 17 Neurofibrossarcoma canino (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996)

Figura 18 Hemangiopericitoma canino (SCOTT; MILLER; GRIFFIN, 1996)

Figura 19 Imunomarcação F8 do hemangiopericitoma perivascular. Vasos e citoplasmas difusos da neoplasia positivamente marcados 200X.

Figura 20 Imunomarcação GFAP hemangiopericitoma perivascular 200X.

Figura 21 Imunomarcção CD34 do hemangiopericitoma perivascular.
Citoplasmas da neoplasia não marcados 200X

Figura 22 Imunomarcção do FVIII em um hemangiopericitoma epitelióide ,
citoplasmas das células tumorais e endotélias marcados
moderadamente positivos.

Figura 23 Através da microscopia de fluorescência é possível visualizar a refringência os corpos apoptóticos. Auxiliando na contagem dos critérios de malignidade de cada subtipo.

Figura 24 Marcação de PCNA em hemangiopericitoma perivascular 200X.

Figura 25 Marcação de PCNA em hemangiopericitoma epitelióide 100X.

Figura 26 Marcação PCNA hemangiopericitoma estoriforme, 200X

Figura 27 Immunomarcção citoplasmática das células tumorais para vimentina (positividade difusa) hemangiopericitoma perivascular 200x.

Figura 28 Imunomarcção fator 8 em neurofibrossarcoma, nota-se marcação em células de um vaso (corte transversal). No entanto as células neoplásicas ao redor entre colágeno não foram marcadas.

Figura 29 Imunomarcção negativa para citoqueratina no hemangiopericitoma epitelióide 100x

Figura 30 Imunomarcção positiva para vimentina nos neurofibrossarcomas.

Figura 31 Imunomarcção CD34 células endoteliais marcadas e raros citoplasmas da neoplasia marcados.

Figura 32 Imunomarcção positiva para S100 no hemangiopericitoma estoriforme.100X

Figura 33 – Seminoma, neoplasia mais incidente em associação com o hemangiopericitoma. Coloração H&E 100 X.

Figura 34 – Mastocitoma I, neoplasia incidente com hemangiopericitoma. Coloração H&E 200 X.

Figura 35 – Neurofibroma, nota-se Corpos de Verocay em evidência.

Figura 36 – Neurofibrossarcoma, observa-se os 'spindles', o que dificulta o diagnóstico entre os hemangiopericitomas.

Figura 37 - Hemangiopericitoma perivascular .Coloração H & E, 200X.

Figura 38 Hemangiopericitoma estoriforme. Coloração H & E, 100X.